

**Universidade Federal de Ouro Preto**

Escola de Nutrição

Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição  
PPGSN

---

Dissertação

---

**Suplementação com polpa de  
açáí na dieta hiperlipídica  
materna durante a gestação e  
lactação modifica a  
concentração de ácidos graxos  
de cadeia curta nas mães e  
suas respectivas proles**

*Carina Cristina Pena*

Ouro Preto  
2021



**UFOP**

**Universidade Federal de Ouro Preto**

**Escola de Nutrição**

**Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição**

**Laboratório de Bioquímica Nutricional e Biologia Molecular**

**SUPLEMENTAÇÃO COM POLPA DE AÇAÍ NA DIETA HIPERLIPÍDICA  
MATERNA DURANTE A GESTAÇÃO E LACTAÇÃO MODIFICA A  
CONCENTRAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS DE CADEIA CURTA NAS MÃES E SUAS  
RESPECTIVAS PROLES**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto, como parte integrante dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Saúde e Nutrição.

**Área de concentração:** Bioquímica e Fisiopatologia da Nutrição

**Orientadora:** Profa. Dra. Melina Oliveira de Souza – Escola de Nutrição - UFOP

**Coorientadora:** Profa. Dra. Renata Nascimento de Freitas – Escola de Nutrição - UFOP

**OURO PRETO**

**2021**

SISBIN - SISTEMA DE BIBLIOTECAS E INFORMAÇÃO

P397s Pena, Carina Cristina .  
Suplementação com polpa de açaí na dieta hiperlipídica materna durante a gestação e lactação modifica a concentração de ácidos graxos de cadeia curta nas mães e suas respectivas proles. [manuscrito] / Carina Cristina Pena. - 2021.  
76 f.: il.: color., gráf., tab..

Orientadora: Profa. Dra. Melina Oliveira de Souza.  
Coorientadora: Profa. Dra. Renata Nascimento de Freitas.  
Dissertação (Mestrado Acadêmico). Universidade Federal de Ouro Preto. Escola de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição.

Área de Concentração: Saúde e Nutrição.

1. Açaí. 2. Ácidos graxos. 3. Dieta. I. Freitas, Renata Nascimento de. II. Souza, Melina Oliveira de. III. Universidade Federal de Ouro Preto. IV. Título.

CDU 613.2

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



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO  
UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO  
REITORIA  
ESCOLA DE NUTRICAÇÃO  
COORDENAÇÃO DO PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO  
EM SAÚDE E NUTRICAÇÃO



## FOLHA DE APROVAÇÃO

**Carina Cristina Pena**

Suplementação com polpa de açaí na dieta materna hiperlipídica durante a gestação e lactação modifica a concentração de ácidos graxos de cadeia curta nas mães e suas respectivas proles

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para obtenção do título de Mestre.

Aprovada em 29 de junho de 2021.

### Membros da banca

Dra. Melina Oliveira de Souza - Orientadora (Universidade Federal de Ouro Preto)  
Dra. Joana Ferreira do Amaral (Universidade Federal de Ouro Preto)  
Dra. Maria Carolina Santos Mendes (Universidade Estadual de Campinas)

Melina Oliveira de Souza, orientadora do trabalho, aprovou a versão final e autorizou seu depósito no Repositório Institucional da UFOP em 10 de janeiro de 2022.



Documento assinado eletronicamente por **Melina Oliveira de Souza, PROFESSOR DE MAGISTERIO SUPERIOR**, em 11/01/2022, às 11:49, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.ufop.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](http://sei.ufop.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0265241** e o código CRC **2A75B2AD**.

Referência: Caso responda este documento, indicar expressamente o Processo nº 23109.000211/2022-53

SEI nº 0265241

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

## **APOIO FINANCEIRO**

O presente trabalho foi realizado no Laboratório de Bioquímica Nutricional e Biologia Molecular da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - Código de Financiamento 001.

## DEDICATÓRIA

Com gratidão e amor, dedico este trabalho a Deus que me deu graça e sabedoria para chegar até aqui. Aos meus pais Nilza e José, e minha irmã Camila que me ajudaram a trilhar este caminho com fé e gratidão. Ao meu amor Diego, por seu meu maior incentivador e me amparar nos momentos difíceis. **Amo vocês!**

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por permitir viver essa experiência desafiadora e extremamente enriquecedora e me amparar nos momentos de incertezas. Agradeço a Deus pela minha saúde e a saúde das pessoas que eu amo.

Aos meus pais Nilza Aparecida Lopes Pena e José Claudio Pena, minhas inspirações, motivações, meus exemplos de vida, determinação, amor, fé e coragem. Minha eterna admiração e gratidão pelo apoio incondicional, pelos sacrifícios muitas vezes silenciados, pelas orações, cuidado e carinho constante. À minha irmã Camila pelo companheirismo, amor e pelos momentos de descontração. Agradeço por se fazerem presentes mesmo à distância. Ao Diego, meu marido querido, por seu meu alicerce, meu incentivador e companheiro. Obrigada pela paciência e apoio incondicional. Obrigada por ter suportado todos os desafios que ocorreram em nossa vida juntamente a essa etapa desafiadora e tão sonhada que foi o mestrado.

À professora e orientadora Melina Oliveira de Souza pela cumplicidade, humanidade e tanto ensinamento. Você foi e sempre será uma grande fonte de inspiração pessoal e profissional. Obrigada pelas inúmeras oportunidades, aprendizados e observações pertinentes durante toda a construção deste trabalho.

À professora Renata Nascimento de Freitas pela coorientação e auxílio.

Às alunas de iniciação científica Gaby, Miriam, Clécia, Ivana e TÁCILA que tanto se empenharam nos desafios da pesquisa.

À Priscila Barbosa pelo apoio fundamental durante a pesquisa.

Aos técnicos de laboratório Miliane Martins de Andrade Fagundes, Gustavo Silveira Breguez e Raphael Antônio Borges Gomes pela disponibilidade e oportunidade de aprendizado.

Às professoras Daniela Caldeira Costa e Fernanda Guimarães Drummond e Silva por gentilmente contribuírem com a realização dos experimentos.

Aos colaboradores da ENUT, especialmente ao Clodoaldo pela solicitude e amizade.

Aos membros da banca, pela disponibilidade e contribuição científica ao avaliarem este trabalho.

À CAPES e UFOP pela concessão da bolsa de estudos.

Em resumo: Gratidão!

## EPÍGRAFE

*“Ora, a fé é a certeza daquilo que esperamos e a prova das coisas que não vemos”.*

Hebreus 11:1



## RESUMO

O consumo de uma dieta hiperlipídica pode desencadear o desenvolvimento e a progressão da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Além disso, a literatura mostra que uma nutrição materna rica em gordura é capaz de promover alterações metabólicas precoces determinantes desta doença em sua prole. Atualmente, a conexão entre intestino e DHGNA tem atraído bastante atenção como forma de explicar a etiopatogenia e a adoção de estratégias terapêuticas. Nossa hipótese é que o açaí (*Euterpe oleracea* Martius), devido principalmente à sua composição química, rica em compostos fenólicos e fibras alimentares, pode modular a produção de ácido graxo de cadeia curta (AGCC) no intestino. Neste sentido, o presente estudo teve como objetivo avaliar o efeito da polpa de açaí suplementada na dieta materna hiperlipídica sobre a concentração de AGCC no conteúdo cecal de ratas e suas proles após o período de lactação. Foram utilizadas 32 ratas fêmeas, espécie *Rattus norvegicus*, linhagem *Fischer*, com 90 dias de idade, divididas em quatro grupos experimentais de acordo com a dieta recebida: grupo controle (C) (dieta padrão AIN-93G), grupo hiperlipídico (HF) (dieta hiperlipídica com 40% de banha de porco e 1% de colesterol), grupo açaí (A) (dieta padrão suplementada com polpa de açaí 2%) e grupo hiperlipídico + açaí (HFA) (dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí 2%). Após um período de duas semanas recebendo as dietas experimentais, foi realizado o acasalamento aleatório poligâmico dessas ratas. Ao longo do período de gestação e lactação, sendo 21 dias para cada etapa, as fêmeas (geração G0) receberam suas respectivas dietas experimentais e água *ad libitum*. Após o nascimento, os filhotes (geração F1) permaneceram na gaiola junto com a mãe durante todo o período de lactação. No final do experimento as gerações G0 e F1 foram eutanasiadas e foi retirado o conteúdo fecal acumulado no ceco dos animais para análise da concentração dos AGCC (ácido acético, butírico e propiônico), utilizando a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência. Foi avaliado também, a concentração hepática de TNF. Na geração G0, a dieta hiperlipídica ( $p < 0,001$ ), polpa de açaí ( $p < 0,01$ ) e interação ( $p < 0,05$ ) modificaram a concentração de ácido acético. Também foi encontrada uma redução na concentração do ácido acético nas mães do grupo HFA quando comparado ao grupo HF. A polpa de açaí ( $p < 0,05$ ) apresentou efeito sobre a concentração de ácido butírico e ácido propiônico. As mães do grupo HFA apresentaram uma concentração cecal de ácido propiônico menor que as mães do grupo HF. Na geração F1 a interação ( $p < 0,05$ ) apresentou efeito sobre a concentração de ácido acético. A dieta hiperlipídica ( $p < 0,001$ ), polpa de açaí ( $p < 0,01$ ) e da interação ( $p < 0,05$ ) apresentou efeito sobre a concentração de ácido butírico. A prole do grupo HFA apresentou um aumento na concentração de ácido butírico quando comparado ao grupo HF. Na prole, a polpa de açaí ( $p < 0,0001$ ) e a interação ( $p < 0,05$ ) apresentaram efeito sobre a concentração de ácido propiônico. A prole do grupo HFA apresentou uma redução na concentração do ácido propiônico que a prole do grupo HF. Com relação ao resultado da concentração hepática de TNF, nas mães essa concentração foi influenciada pela polpa de açaí ( $p < 0,05$ ) e a interação ( $p < 0,01$ ) e nas proles sofreu influência da dieta hiperlipídica ( $p < 0,001$ ). Nossos achados podem ser úteis para ajudar na melhor compreensão do efeito de alimentos ricos em compostos bioativos sobre o trato intestinal de descendentes em um modelo de DHGNA induzida por dieta materna hiperlipídica. Entretanto, mais estudos de intervenção dietética são necessários para comprovar que o consumo de açaí é benéfico para a saúde intestinal e também indicado como estratégia terapêutica para a prevenção da DHGNA.

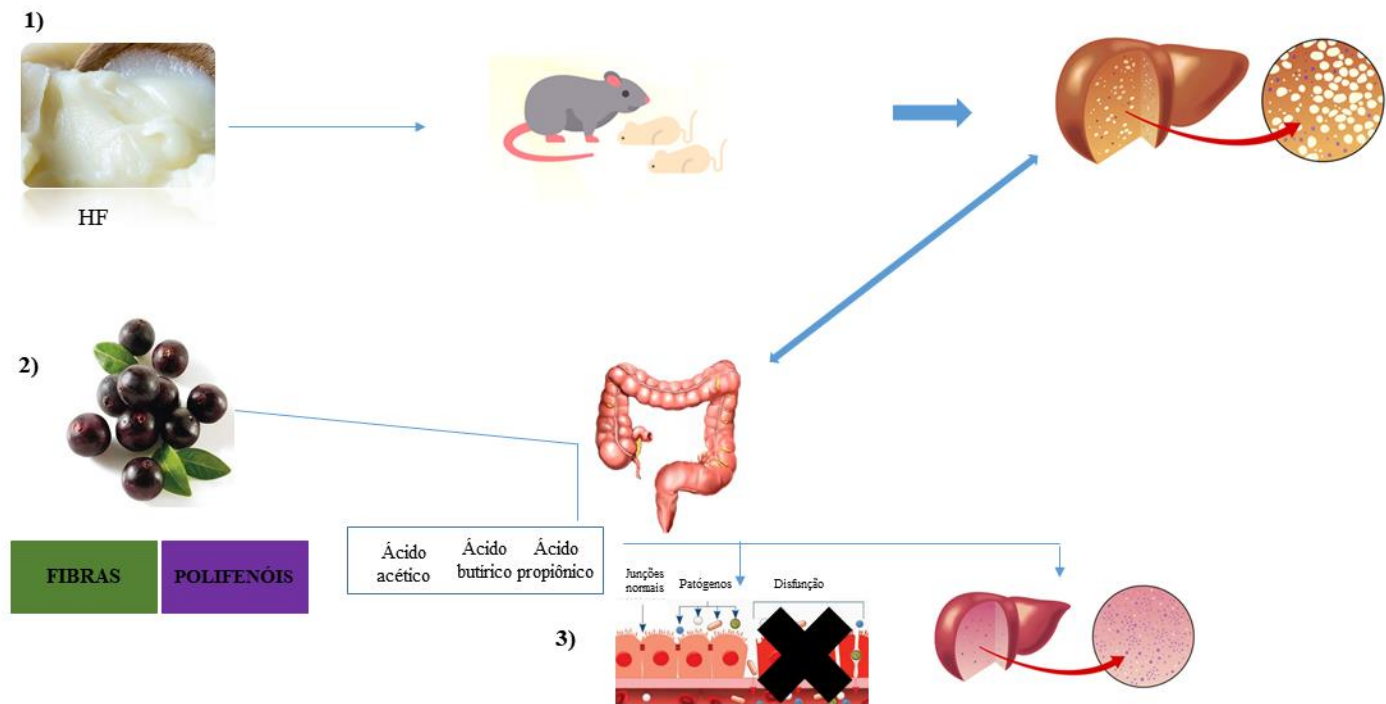
**Palavras-chave:** Açaí; ácido graxo de cadeia curta; dieta hiperlipídica; DHGNA; prole.

## ABSTRACT

Consumption of a high-fat diet can trigger the development and progression of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD). In addition, the literature shows that high-fat maternal nutrition is able to promote early metabolic changes that determine this disease in their offspring. Currently, the connection between the intestine and NAFLD has attracted considerable attention as a way to explain the etiopathogenesis and the adoption of therapeutic strategies. Our hypothesis is that açai (*Euterpe oleracea* Martius), mainly due to its chemical composition, rich in phenolic compounds and dietary fiber, can modulate the production of short-chain fatty acid (SCFA) in the intestine. In this sense, the present study aimed to evaluate the effect of açai pulp supplemented in the high-fat maternal diet on the concentration of SCFA in the cecal content of rats and their offspring after the lactation period. Thirty-two female rats, *Rattus norvegicus*, Fischer strain, 90 days old, were used, divided into four experimental groups according to the diet received: control group (C) (standard diet AIN-93G), hyperlipidic group (HF) (high fat diet with 40% lard and 1% cholesterol), açai group (A) (standard diet supplemented with 2% açai pulp) and hyperlipidic + açai group (HFA) (high fat diet supplemented with 2% açai pulp). After a period of two weeks receiving the experimental diets, polygamous random mating of these rats was performed. During the period of gestation and lactation, with 21 days for each stage, females (generation G0) received their respective experimental diets and water ad libitum. After birth, the offspring (F1 generation) remained in the cage together with their mother throughout the lactation period. At the end of the experiment, the G0 and F1 generations were euthanized and the fecal content accumulated in the cecum of the animals was removed to analyze the concentration of SCFA (acetic, butyric and propionic acid), using the technique of high performance liquid chromatography. The hepatic concentration of TNF was also evaluated. In the G0 generation, the high-fat diet ( $p < 0.001$ ), açai pulp ( $p < 0.01$ ) and interaction ( $p < 0.05$ ) modified the acetic acid concentration. And a reduction in acetic acid concentration was found in mothers in the HFA group when compared to the HF group. The açai pulp ( $p < 0.05$ ) had an effect on the concentration of butyric acid and propionic acid. The mothers in the HFA group had a lower cecal propionic acid concentration than the mothers in the HF group. In the F1 generation, the interaction ( $p < 0.05$ ) had an effect on the acetic acid concentration. The high-fat diet ( $p < 0.001$ ), açai pulp ( $p < 0.01$ ) and the interaction ( $p < 0.05$ ) had an effect on the concentration of butyric acid. The offspring of the HFA group showed an increase in the concentration of butyric acid when compared to the HF group. In the offspring, the açai pulp ( $p < 0.0001$ ) and the interaction ( $p < 0.05$ ) had an effect on the concentration of propionic acid. The offspring of the HFA group showed a reduction in the concentration of propionic acid than the offspring of the HF group. Regarding the result of the hepatic concentration of TNF, in the mothers this concentration was influenced by the açai pulp ( $p < 0.05$ ) and the interaction ( $p < 0.01$ ) and in the offspring it was influenced by the high-fat diet ( $p < 0.001$ ). Our findings may be useful to help better understand the effect of foods rich in bioactive compounds on the intestinal tract of offspring in a model of NAFLD-induced maternal hyperlipidic diet. However, more dietary intervention studies are needed to prove that the consumption of açai is beneficial to intestinal health and also indicated as a therapeutic strategy for the prevention of NAFLD.

**Keywords:** Açai; short chain fatty acid; hyperlipidic diet; NAFLD; offspring.

## RESUMO GRÁFICO



### HF – Dieta hiperlipídica

- 1) O consumo excessivo de lipídios durante a gestação e lactação pode desencadear o desenvolvimento e a progressão da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) nas mães e suas proles.
- 2) Sugere-se que o consumo de polpa de açaí pode retardar o acúmulo de gordura hepática causado pela dieta materna hiperlipídica e um dos mecanismos seria pela modulação da concentração de ácido graxos de cadeia curta.
- 3) Outro mecanismo seria que uma melhora na permeabilidade intestinal ocasionada por essa alteração na concentração de AGCC que poderia afetar a progressão da DHGNA nas mães e suas proles.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Espectro de patologias da doença da doença hepática gordurosa não alcoólica. ....	21
Figura 2. Os papéis da microbiota intestinal na esteatose hepática. ....	23
Figura 3. Comunidades microbianas e redes microbiológicas envolvidas na produção de metabólitos sacarolíticos. ....	25
Figura 4. Fórmula química e estrutural dos ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, propiônico e butírico). ....	26
Figura 5. Mecanismo de ação dos ácidos graxos de cadeia curta produzidos microbianamente. ....	27
Figura 6. Efeito da dieta no desenvolvimento da microbiota intestinal e peso corporal normal. ....	29
Figura 7. Rotas de absorção e metabolismo dos polifenóis e seus derivados em humanos. ....	30
Figura 8. Palmeira, <i>Euterpe oleracea</i> Martius e seu fruto, açaí. ....	35
Figura 9. <i>Euterpe oleracea</i> Martius, os frutos violetas arredondados e as sementes. ....	36
Figura 10. Estrutura química das antocianinas presentes no açaí ( <i>Euterpe oleracea</i> Martius). ....	37
Figura 11. Delineamento experimental do estudo ....	47
Figura 12. Níveis hepáticos de gordura total das ratas (Geração G0). ....	50
Figura 13. Níveis de colesterol hepático das proles (Geração F1). ....	52
Figura 14. Efeito da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta acético, butírico, propionato e total no conteúdo cecal das ratas (Geração G0). ....	56
Figura 15. Efeito da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta acético, butírico, propionato e total no conteúdo cecal das proles (Geração F1). ....	57
Figura 16. Efeito da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre a concentração hepática de TNF das ratas e proles (Geração G0 e F1). ....	58
Figura 17. Correlação linear de Pearson ente o peso relativo do fígado e TNF em relação à concentração de ácido butírico nos grupos HF e HFA na prole (Geração F1). ....	58

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Ingredientes utilizados na elaboração das dietas experimentais. ....	43
Tabela 2. Composição química das dietas utilizadas no período experimental*.....	44
Tabela 3. Composição centesimal da polpa congelada de açaí, Icefruit Polpa de Açaí Médio*. .....	45
Tabela 4. Teores de polifenóis totais e antocianinas na polpa congelada de açaí, Icefruit Polpa de Açaí médio. ....	45
Tabela 5. Ingestão alimentar, peso corporal e peso do fígado das ratas (Geração G0). ....	49
Tabela 6. Massa corporal e peso do fígado da prole (Geração F1).....	51

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

A	Dieta padrão + açai
ACETIL-COA	Acetilcoenzima A
AGCC	Ácidos graxos de cadeia curta
AGL	Ácidos graxos livres
ALT	Alanina aminotransferase
AMPK	Proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina
AMPS	Peptídeos antimicrobianos
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
C	Dieta padrão
CBG	Enterócito ou $\beta$ -glucosidase
CEUA	Comissão de ética no uso de animais
COMT	Catecol-o-metiltransferase
CONCEA	Conselho nacional de controle de experimentação animal
DAMPS	Padrões moleculares associados a danos
DCNT	Doenças crônicas não transmissíveis
DHGNA	Doença hepática gordurosa não alcoólica
DNA	Ácido desoxirribonucleico
EAG	Equivalentes de ácido gálico
EBG	Globulina ligadora de corticosteróide
EHNA	Esteato-hepatite não alcoólica
ERO	Espécies reativas de oxigênio
F1	Prole masculina de 21 dias de vida
FAS	Ácido graxo sintase
G0	Ratas após os períodos de gestação e lactação

GLP-1	Peptídeo semelhante a glucagon 1
GPR	Receptores acoplados à proteína G
GPR109A	Receptores Acoplados À Proteína G 109a
GPR41,	Receptores acoplados à proteína G 41
GPR43	Receptores acoplados à proteína G 43
H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Ácido sulfúrico
HDAC	Histonas desacetilases
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HF	Dieta hiperlipídica
HFA	Dieta hiperlipídica + açai
<i>HPLC</i>	<i>High performance liquid chromatography</i>
IL-6	Interleucina 6
INOS	Óxido nítrico sintase
LPH	Lactase florizina hidrolase
LPS	Lipopolissacarídeos
MCT1	Transportador 1 de monocarboxilato
NFK-β	Fator nuclear <i>kappa beta</i>
PAMPS	Padrões moleculares associados a patógenos
PPAR-γ	Receptor ativado por proliferador de peroxissoma gamma
PYY	Peptídeo yy
RNA	Ácido ribonucleico
SIBO	Supercrescimento bacteriano
SISGEN	Sistema nacional de patrimônio genético
SMCT1	Transportador 1 de monocarboxilato acoplado a sódio
SREBP1	Proteína 1 de ligação ao elemento regulador de esterol
SULT	Sulfotransferases
TLRS	Receptores <i>toll-like</i>

TNF	Fator de necrose
UDP	Glucuronidação por glucuronosiltransferases
UFOP	Universidade Federal de Ouro Preto
ZO-1	Zona ocludente 1

### **Unidades de medida**

g – Gramas

M – Molar

mg – Miligramas

mL – Mililitro

mm – Milímetro

mM – Milimolar

nm – Nanômetro

μl – Microlitro

μMol – Micromol



## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA .....	19
2.1	Nutrição materna e impacto na prole.....	19
2.2	Desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica.....	20
2.3	Papel dos ácidos graxos de cadeia curta no processo saúde/doença do hospedeiro .....	24
2.4	Relação entre polifenóis dietéticos e modulação da microbiota intestinal .....	29
2.5	Relação entre fibras dietéticas e modulação da microbiota intestinal .....	32
2.6	Açaí ( <i>Euterpe oleraceae</i> Martius) .....	34
3	OBJETIVOS .....	41
3.1	Objetivo geral .....	41
3.2	Objetivos específicos.....	41
4	METODOLOGIA.....	42
4.1	Dietas experimentais .....	42
4.2	Animais e condições experimentais .....	45
4.3	Estabelecimento e caracterização do modelo experimental .....	48
4.4	Análise da concentração de ácidos graxos de cadeia curta.....	48
4.5	Determinação da concentração hepática de TNF .....	52
4.5.1	<i>Processamento do fígado – preparo do homogenato</i> .....	52
4.5.2	<i>Dosagem de proteínas totais</i> .....	53
4.7	Análise estatística .....	54
5	RESULTADOS .....	55
5.1	Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico) .....	55
5.2	Concentração hepática da citocina TNF.....	58
5.3	Correlação entre peso relativo do fígado, concentração hepática de TNF e ácido butírico.....	58
6	DISCUSSÃO .....	59
7	CONCLUSÃO.....	63
8	BIBLIOGRAFIA.....	64
	ANEXO I.....	70
	ANEXO II .....	71

## 1 INTRODUÇÃO

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) compreende um amplo espectro patológico no fígado, que varia desde o armazenamento de gordura hepática, associado a um curso clínico benigno e assintomático, até a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) caracterizada pela presença de inflamação e em alguns casos, desenvolvimento de fibrose ou cirrose (PETTA et al., 2016). Dados epidemiológicos mostram que a DHGNA acomete aproximadamente 25% da população mundial (YOUNOSSI et al., 2016). Essa situação é ainda mais grave se a população pediátrica for considerada (ARAÚJO et al., 2018; YOUNOSSI et al., 2018). A prevalência de DHGNA em crianças é de 8% na população em geral e de 34% no contexto da obesidade infantil (DHALIWAL et al., 2018).

Os desequilíbrios alimentares são um importante determinante para o aparecimento dessa doença, sendo particularmente essencial uma boa nutrição durante a fase intrauterina (PERDOMO, FRÜHBECK e ESCALADA, 2019). Essa relação baseia-se no conceito de “programação metabólica”, onde diferentes estímulos durante os períodos críticos do desenvolvimento, que abrangem o período neonatal e o crescimento fetal, seriam capazes de propiciar respostas fisiológicas no feto que podem desencadear o aparecimento de doenças metabólicas na vida adulta (KWON e KIM, 2017; JIMÉNEZ-CHILLARÓN et al., 2012). Recentemente nosso grupo de pesquisa demonstrou que a ingestão de uma dieta hiperlipídica durante os períodos de gestação e lactação é eficaz em desenvolver a DHGNA em ratas e adicionalmente promover alterações metabólicas precoces determinantes desta doença em suas proles (BARBOSA et al., 2019b).

Evidências científicas mostram que o eixo intestino-fígado tem uma importante função no desenvolvimento da DHGNA (JI, SUN e ZHANG, 2020). Pacientes com essa doença apresentam um desequilíbrio na produção e/ou no metabolismo dos ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), que promove uma alteração na integridade da barreira intestinal, endotoxemia e desencadeamento da sinalização pró-inflamatória no fígado, com a ativação do fator nuclear *kappa beta* (NFκ-β) e o fator de necrose tumoral (TNF) (SILVA et al., 2015; XIE e DEMARZIO, 2019).

O efeito de alimentos ricos em polifenóis na produção de AGCC e como estratégia terapêutica para a DHGNA tem sido um assunto de interesse atual (FURLAN e RODRIGUES, 2016; GROSSO et al., 2018; CATALKAYA et al., 2020). Um fruto que apresenta abundância nestes compostos e que ganhou popularidade no Brasil, Estados Unidos e Japão é o açaí (SCHAUSS, 2006). O açaí é fruto da palmeira *Euterpe oleracea* Martius,

nativa da região Amazônica e nos últimos dez anos, nosso grupo de pesquisa tem estudado e demonstrado o potencial efeito antioxidante e também no metabolismo lipídico da sua polpa congelada (SOUZA et al., 2010; SOUZA et al., 2012; BARBOSA, 2015; PALA et al., 2017; SILVA et al., 2017, BARBOSA et al., 2019b, MAGALHÃES et al., 2020).

Os estudos envolvendo o açaí e a temática da microbiota intestinal ainda são muito escassos na literatura, mas os resultados obtidos são promissores (ALQURASHI et al., 2017). Assim, o objetivo deste estudo foi investigar o efeito da suplementação com polpa de açaí em um modelo de DHGNA induzida por dieta materna hiperlipídica sobre a concentração de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal das mães e suas respectivas proles de 21 dias de idade. Esse estudo se justifica pela importância em explorar novas estratégias para prevenir o aparecimento da DHGNA, através da investigação da influência de fatores nutricionais sobre o trato intestinal de descendentes.

## 2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

### 2.1 Nutrição materna e impacto na prole

A nutrição materna está intimamente relacionada com a saúde da prole, devido principalmente ao fato da exposição precoce a condições inadequadas afetarem as células germinativas e o ambiente intrauterino acarretando alterações na vida pós-natal (BRETON e al., 2021; BORDELEAU et al., 2021). Essa conexão entre o impacto das condições precoces de vida e a suscetibilidade a doenças posteriores é descrita como programação metabólica ou programação fetal (MARCINIAK et al, 2017).

A teoria da programação metabólica foi sugerida pelo epidemiologista Barker (2001), que investigou a associação entre o baixo peso ao nascer e aumento do risco de doença coronariana na vida adulta. Essa teoria teve início durante a Segunda Guerra Mundial quando foi observado que os filhos de gestantes que viveram em condições de restrição nutricional apesar de nascerem com peso normal, apresentaram alta incidência de doenças respiratórias, cardiovasculares e diabetes na vida adulta. Em suma, o estudo mostra como a nutrição fetal intrauterina e nos primeiros dias de vida pode determinar os processos que influenciarão o processo saúde-doença deste indivíduo na vida adulta. A partir de então, a literatura tem sugerido que as peculiaridades inerentes a este processo se relacionam a um estado epigenético altamente dinâmico no início da vida, levando a uma reação adaptativa a um ambiente intrauterino hostil (MARCINIAK et al.,2017; ALBERRY et al., 2021).

A epigenética pode ser definida como o estudo de mudanças hereditárias na expressão gênica que não envolvem alterações na sequência do ácido desoxirribonucleico (DNA). As marcas epigenéticas incluem metilação de DNA, modificações de histonas e uma variedade de ácido ribonucleico (RNAs) não codificantes que respondem a sinais ambientais, incluindo a dieta (JIMÉNEZ-CHILLARÓN et al., 2012). Os fatores epigenéticos atuam condicionando a acessibilidade de fatores de transcrição ao genoma, seja por variações no padrão de acetilação e metilação, modificações covalentes nas bases de DNA ou ainda modulando a tradução, por meio da expressão de microRNAs (PERDOMO, FRÜHBECK e ESCALADA, 2019). Os efeitos podem levar a alterações na expressão gênica fetal, na fisiologia dos tecidos, na secreção hormonal e no metabolismo energético (JIMÉNEZ-CHILLARÓN et al., 2012).

A maioria das condições resultantes da programação metabólica estão relacionadas com a função da placenta. O transporte materno-fetal fornecido pela atividade adequada de transportadores placentários, enzimas, vasculogênese e secreção hormonal são alterados

quando ocorrem condições adversas durante a gestação, o que leva a alterações do substrato entregue ao feto e, eventualmente a alterações no seu desenvolvimento e início de alterações epigenéticas (MARCINIAK et al., 2017).

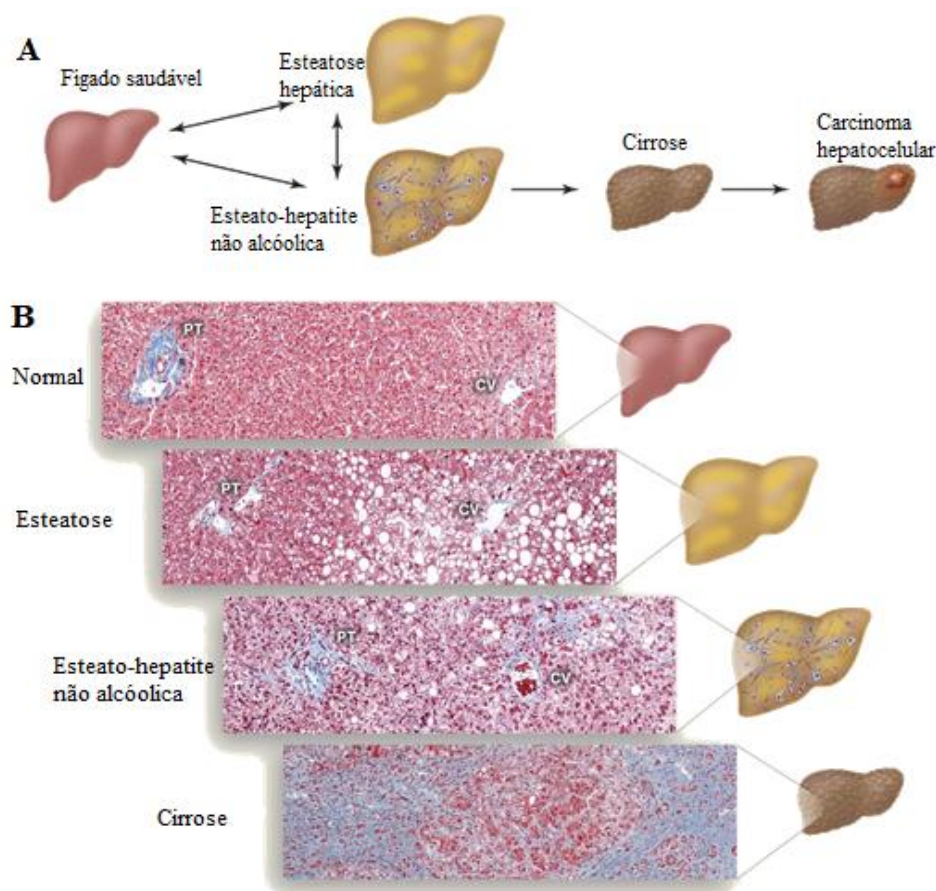
O papel da nutrição é relevante em muitos aspectos da saúde e os desequilíbrios alimentares são apontados como os principais determinantes das DCNT. Um padrão alimentar adequado é fundamental durante os períodos críticos do início da vida (pré e pós-natal) (PERDOMO, FRÜHBECK e ESCALADA, 2019). A literatura tem destacado que a interação nutriente-gene em humanos pode levar a influências transitórias na expressão de subconjuntos específicos de genes, sendo importante destacar que essas alterações epigenéticas ocorrem nos gametas, podem ser herdadas por várias gerações (WATERLAND e RANDY, 2004).

Com relação à amamentação, apesar das evidências do seu efeito sobre a programação metabólica serem crescentes, os mecanismos bioquímicos e genéticos envolvidos ainda não estão elucidados (COLLAZO et al., 2018). Há uma concordância de que as marcas epigenéticas são plásticas e respondem a sinais ambientais, incluindo a dieta e que não somente reflete na vida adulta, mas também precocemente. No entanto, ainda existem lacunas que precisam ser respondidas para melhor entendimento sobre o papel da saúde materna nos estágios iniciais do desenvolvimento fetal (JIMÉNEZ-CHILLARÓN et al., 2012)

## **2.2 Desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica**

A DHGNA compreende um amplo espectro patológico no fígado, que varia desde o armazenamento de gordura hepática, associado a um curso clínico benigno e assintomático, até a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) caracterizada pela presença de inflamação e em alguns casos, desenvolvimento de fibrose ou cirrose, devido a progressão da DHGNA (Figura 1) (PETTA et al., 2016).

Figura 1. Espectro de patologias da doença da doença hepática gordurosa não alcoólica.



(A) Esquema da progressão da DHGNA. O acúmulo de triacilgliceróis nos hepatócitos causa esteatose. A esteatose associada à inflamação, morte celular e fibrose é chamada de esteato-hepatite não alcoólica (EHNA) que pode progredir para cirrose. Indivíduos com cirrose têm um risco aumentado de carcinoma hepatocelular. (B) Secções histológicas ilustrando fígado normal, esteatose hepática, EHNA e cirrose. As fibras de colágeno são coradas de azul com o tricrômico de Masson.

Legenda: PT: tríade portal, que consiste na artéria hepática, veia porta e ducto biliar; CV: veia central.

Fonte: COHEN, HORTON e HOBBS, 2011.

A DHGNA tem uma prevalência mundial de aproximadamente 30% e tem sido associada ao aumento da mortalidade por doenças hepáticas e aumento do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (VALDES, BARRERA e SÁNCHEZ, 2015). O cenário epidemiológico da esteatose na população pediátrica é preocupante. Um estudo da Califórnia mostrou uma prevalência de esteatose em crianças de 26% (YU et al., 2019). A prevalência global de DHGNA é de 24-25% na população geral (ARAÚJO et al, 2018). A prevalência de esteatose hepática aumenta com a idade, variando de 0,7% para idades de 2 a 4 anos a 17,3% para idades de 15 a 19 anos. A prevalência de esteatose difere significativamente por raça e etnia (asiático: 10,2%; preto: 1,5%; hispânico: 11,8%; branco:

8,6%). A maior taxa de fígado gorduroso é observada em crianças obesas (38%) (SCHWIMMER et al., 2006).

Esses dados em partes podem ser explicados pelo aumento da prevalência da obesidade entre a população pediátrica, associado aos hábitos alimentares ocidentalizados e sedentarismo (DUARTE e SILVA, 2011). Um número crescente de estudos tem demonstrado que os filhos expostos à obesidade e supernutrição materna durante a gravidez e a lactação são mais suscetíveis ao aumento da adiposidade e desregulação metabólica em comparação com filhos de mães controle (DESAI et al., 2013; LI et al., 2017).

A patogênese da DHGNA envolve fatores ambientais, genéticos e metabólicos, como sedentarismo e a alimentação (FINELLI e TARANTINO, 2017). A literatura é bem concisa em mostrar que uma dieta hiperlipídica é um importante fator de risco para o desenvolvimento da DHGNA por afetar diversas funções metabólicas (BULAMARQUI et al., 2011).

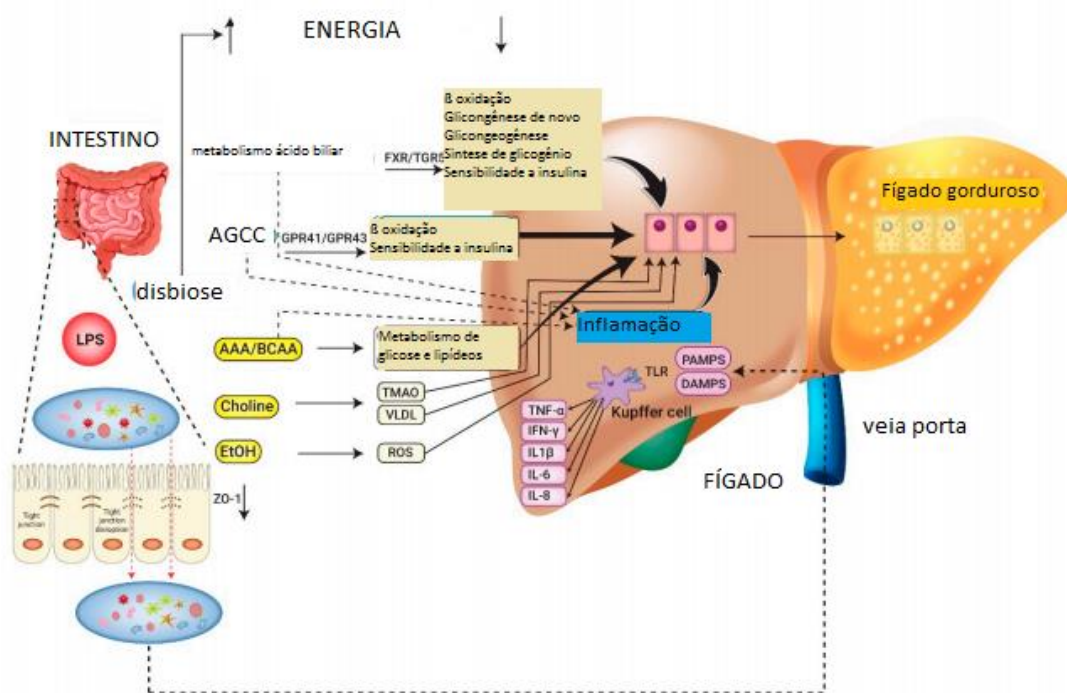
Os mecanismos etiopatogênicos relacionados ao desenvolvimento da DHGNA ainda não estão totalmente esclarecidos, uma hipótese de “dois hits” é sugerida, sendo o acúmulo de lipídeos nos hepatócitos primordial para o aparecimento dessa doença. Os mecanismos moleculares que levam ao acúmulo de lipídios incluem o aumento da captação de lipídios, aumento da lipogênese *de novo*, síntese desregulada de lipoproteínas e diminuição da oxidação de ácidos graxos. Essas alterações levam o fígado a ficar mais susceptível a outros fatores, como o estresse oxidativo e subsequente peroxidação lipídica, sinalização pró-inflamatória de citocinas e adipocinas e disfunção mitocondrial (DAY e JAMES, 1998; COLÁK e PAP, 2021).

Lionetti et al. (2014) observaram em um estudo experimental que o grupo de animais que consumiram banha de porco apresentou mitocôndrias mais curtas, sugerindo que adaptações na morfologia e na dinâmica mitocondrial são indicadas como sensores para o controle da demanda e suprimento de energia, ou seja, mitocôndrias mais fragmentadas são associadas à função diminuída. Nesse sentido, parece haver um ciclo vicioso entre a capacidade oxidante mitocondrial e aumento na geração de ERO.

Nos últimos tempos, para explicar melhor a patogênese da DHGNA tem sido proposto um modelo de “múltiplos hits” (NUNES et al., 2020). Um mecanismo que tem chamado atenção é a conexão direta existente entre o intestino e o fígado, via veia porta, onde sugere-se que através dessa conexão, a microbiota possa modular processos metabólicos que afetam direta ou indiretamente a síndrome metabólica e suas comorbidades associadas. O mecanismo primário contempla a mudança no modo de captação de energia, citocinas

inflamatórias e vias de sinalização relacionadas, metabolismo bioquímico alterado e metabólitos relacionados a microbiota intestinal (ácido biliar, ácidos graxos de cadeia curta, derivados de aminoácidos aromáticos, aminoácidos de cadeia ramificada e etanol (Figura 2) (NICHOLSON et al., 2012; MORAN-RAMOS, LÓPEZ-CONTRERAS e CANIZALES-QUINTEROS, 2017).

Figura 2. Os papéis da microbiota intestinal na esteatose hepática.



Legenda: LPS: lipopolissacarídeo; AGCC: ácidos graxos de cadeia curta; AAA: aminoácidos aromáticos; BCAA: aminoácidos de cadeia ramificada; EtOH: etanol; FXR: receptor farnesóide X; TGR5: receptor 5 acoplado à proteína G transmembrana; GPR: receptor acoplado à proteína G; TMAO: N-óxido de trimetilamina; VLDL-C: colesterol de lipoproteína de densidade muito baixa; ROS: espécies reativas de oxigênio; TNF- $\alpha$ : fator de necrose tumoral alfa; IFN- $\gamma$ : Interferon-gama; IL-1 $\beta$ : interleucina 1beta; IL-6: interleucina 6; IL-8: interleucina 8; TLR: receptor *toll-like*.

Fonte: Xie e De-Marzio, 2019.

Os AGCC são os produtos finais da fermentação sacarolítica, em que a maioria são polissacarídeos não digeríveis. Dentre os AGCC, particularmente acetato, propionato e butirato, são gerados pela fermentação de carboidratos acessíveis à microbiota, dentre eles as fibras alimentares (BERNAUD e RODRIGUES, 2013). Os efeitos metabólicos dos AGCC podem ser diretamente anti-inflamatórios por meio da ativação do receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PPAR- $\gamma$ ), pela supressão da via do NF- $\kappa$ B, inibição das histonas desacetilases e ativação de receptores acoplados à proteína G (GPR), por



exemplo, GPR41, GPR43 e GPR109a (EDWARDS et al., 2017; CATALKAYA et al., 2020). Além dos efeitos imunomoduladores, os AGCC apresentam uma importante função de regular o ambiente intestinal, reforçando a barreira das células epiteliais (MORAES et al., 2014).

A literatura mostra uma estreita relação entre uma integridade da barreira intestinal prejudicada, o supercrescimento bacteriano e a translocação bacteriana permitindo a endotoxemia bacteriana e levando a alterações hepáticas (XIE e DE-MARZIO, 2019). O mecanismo envolvido, seria a estimulação das células de *Kupffer* pelos lipopolissacarídeos (LPS) por meio da ativação de receptores *toll-like* (TLRs), que são receptores responsáveis pelo reconhecimento de padrões moleculares adversos, como por exemplo os padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e os padrões moleculares associados a danos (DAMPs). Dessa forma, quando ocorre o rompimento da barreira intestinal, a endotoxemia ocorre e através do eixo intestino-fígado, os níveis aumentados de PAMPs e DAMPs se ligam a TLRs (TLR2, TLR4, TLR5 e TLR9) no fígado. Assim, a cascata inflamatória de liberação de citocinas inflamatórias (TNF e IL-8) é iniciada, têm-se acúmulo de lipídios e morte celular de hepatócitos, essas alterações em conjunto levam ao desenvolvimento da DHGNA (MIURA e OHNISHI, 2014).

Importante disfunção juncional foi encontrada em pacientes acometidos pela DHGNA (RAU et al., 2016). Resultados semelhantes também foram encontrados na população pediátrica, onde a gravidade da permeabilidade intestinal se correlaciona com a gravidade da EHNA (GIORGIO et al., 2014).

Embora os estudos epidemiológicos venham demonstrando uma crescente prevalência da DHGNA em diversas faixas etárias, até o momento não existe nenhum tratamento farmacológico aprovado. As estratégias baseiam-se mudanças comportamentais, como a prática de atividade física e modificações nos hábitos alimentares (XIE e DEMARZIO, 2019). Com isso, novas estratégias terapêuticas são de grande relevância para a saúde pública.

### **2.3 Papel dos ácidos graxos de cadeia curta no processo saúde/doença do hospedeiro**

O intestino humano abrange uma heterogênea comunidade microbiana, formada por cerca de 100 trilhões de células bacterianas, composta por mais de 1.000 espécies (QIN et al., 2010). Os microrganismos residentes na microbiota intestinal humana formam um notável portfólio de genes microbianos, conhecidos como microbioma (MAYA-LUCAS et al., 2019). O microbioma humano representa o conjunto dos elementos genéticos dos microrganismos e

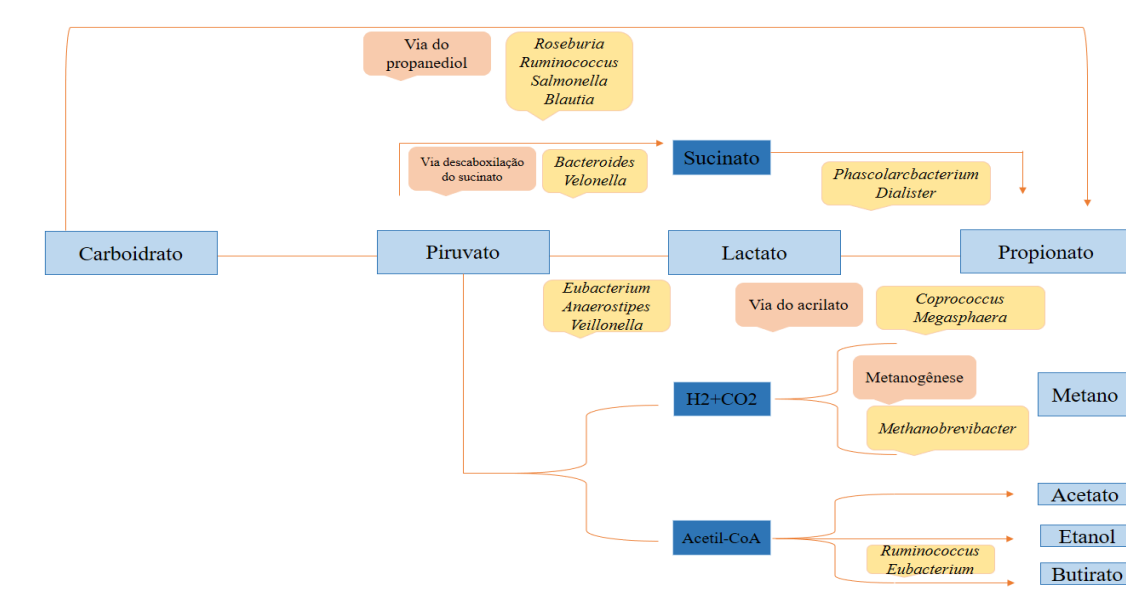
as interações que os mesmos estabelecem com o ambiente em que são encontrados (ARIZA-ANDRACA e GARCÍA-RONQUILLO, 2016).

Estudos têm demonstrado que os microrganismos que colonizam o intestino estão relacionados com o desenvolvimento de DCNT como a obesidade, as doenças cardiovasculares e a síndrome metabólica, isso porque esses microrganismos são metabolicamente ativos, mantendo uma interação constante com o hospedeiro e influenciando em diversos processos fisiológicos determinantes do processo saúde-doença (MILLION et al., 2012; CHASSAING et al., 2015; LERNER et al, 2017).

Até o momento não se sabe detalhadamente sobre as comunidades e redes microbiológicas que produzem metabólitos, no entanto, sabe-se que certos membros da microbiota contribuem para determinadas vias microbianas (CANFORA et al., 2019).

Na figura 3 é mostrado uma visão geral dos grupos funcionais de microrganismos intestinais, principais vias metabólicas e intermediários envolvidos na produção de metabólitos derivados da fermentação de carboidratos, incluindo os produtos sacarolíticos, AGCC, succinato e etanol. Atualmente tem se estudado a ação dos AGCC produzidos sobre a saúde do hospedeiro, visto que seus efeitos biológicos podem exercer ação imunomoduladora, apresentando não somente ação local, como também efeitos sistêmicos (CANFORA et al., 2019).

Figura 3. Comunidades microbianas e redes microbiológicas envolvidas na produção de metabólitos sacarolíticos.

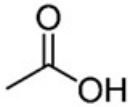
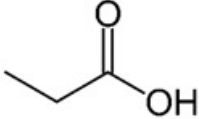
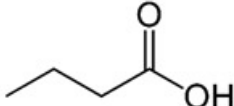


Legenda: H<sub>2</sub>+CO<sub>2</sub> – ácido carbônico; Acetil-CoA - acetilcoenzima A.

Fonte: Adaptado de CANFORA et al., 2019.

Os AGCC são definidos como o grupo de ácidos graxos com menos de seis carbonos, incluindo ácido fórmico (C1), ácido acético (C2), ácido propiônico (C3), ácido butírico (C4) e ácido valérico (C5) (Figura 4). Os principais AGCC no intestino são ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico que representam mais de 95% de todos os AGCC que são produzidos pela microbiota intestinal e aparecem numa proporção molar de aproximada de 3:1:1, respectivamente (SUN et al., 2018; CANFORA et al., 2019).

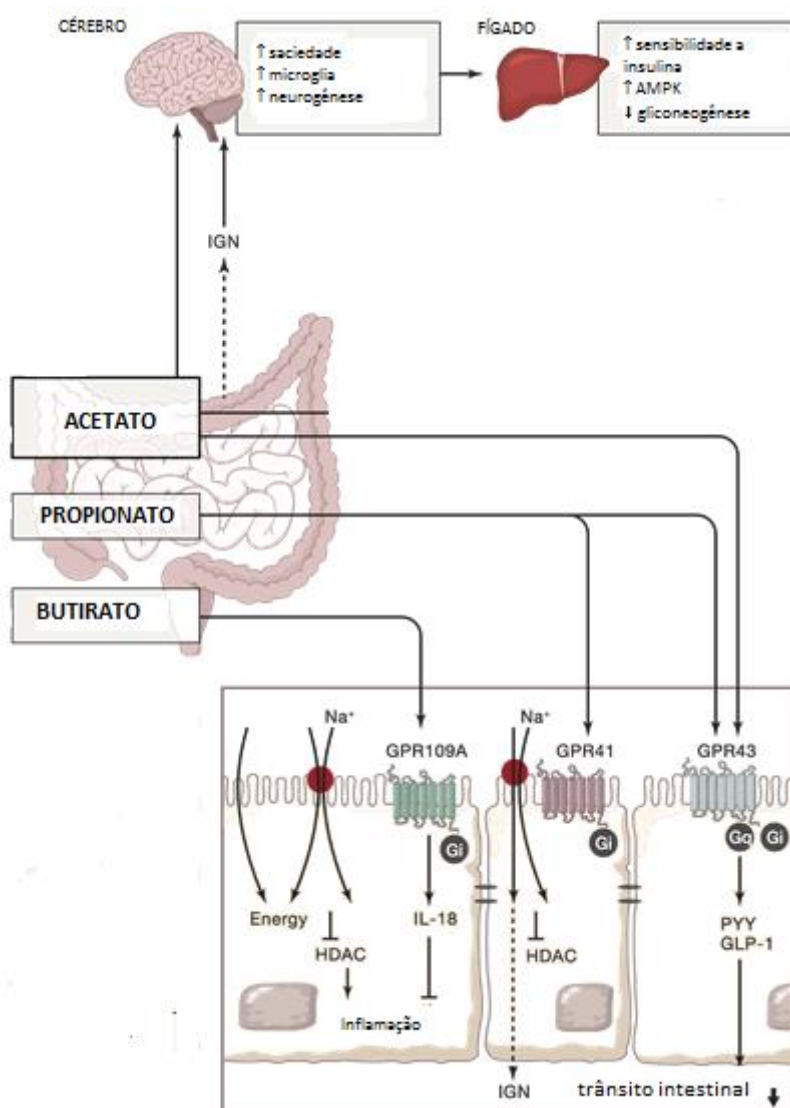
Figura 4. Fórmula química e estrutural dos ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, propiônico e butírico).

Ácido acético	$\text{CH}_3\text{COOH}$	
Ácido propiônico	$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{COOH}$	
Ácido butírico	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$	

Fonte: SUN et al., 2018.

Os AGCC após serem produzidos no cólon são rapidamente e quase totalmente absorvidos pelos colonócitos, apenas 5% -10% são excretados nas fezes, onde parte deles é oxidado. Nos colonócitos ocorre a maior parte da metabolização e o que não é metabolizado é absorvido na circulação portal, levando energia para órgãos como pâncreas, cérebro, pulmão e fígado (Figura 5) (LIU et al., 2020). As diversas funções dos AGCC estão condicionadas à via metabólica que irão seguir. O acetato, uma vez absorvido no epitélio intestinal após ser convertido em acetilcoenzima A (acetil-CoA), entra no ciclo do ácido cítrico e produz ATP, colesterol e ácidos graxos (BOETS et al., 2016). O propionato atua como substrato para a gliconeogênese no intestino. Já o butirato ainda nos colonócitos, sofre  $\beta$ -oxidação nas mitocôndrias para gerar acetil-CoA, que assim como o acetato, gera energia na forma de ATP (CANI e KNAUF et al., 2016).

Figura 5. Mecanismo de ação dos ácidos graxos de cadeia curta produzidos microbialmente.



Legenda: AMPK - Proteína Quinase Ativada por Monofosfato de Adenosina; GPR43, GPR41, GPR109A – Receptores acoplados à proteína G; SLC5A8 - transportador 1 de monocarboxilato acoplado a sódio; HDAC - histonas deacetilases; Na<sup>+</sup> - Sódio; PYY – peptídeo YY; GLP-1 - peptídeo semelhante a glucagon 1.

Fonte: KOH et al., 2016.

No intestino distal, os AGCC podem entrar nas células por difusão ou transporte mediado pelo transportador 1 de monocarboxilato acoplado a sódio (SLC5A8) e atuar como fonte de energia ou como inibidor de histonas desacetilases (HDAC). O acetato ou propionato luminal detectado pelos receptores GPR41 e GPR43 liberam o peptídeo YY (PYY) e peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1), afetando a saciedade e o trânsito intestinal. O butirato luminal exerce efeitos anti-inflamatórios via inibição de GPR109A e

HDAC. Além disso, o propionato pode ser convertido em glicose, levando à saciedade e diminuição da produção de glicose hepática (JUÁREZ-HERNÁNDEZ et al., 2016).

Os AGCC também podem atuar em outros locais do intestino, onde estimulam a motilidade e a atividade secretora ou as células imunes na lâmina própria, onde reduzem a inflamação e a tumorigênese (ZHOU e FAN, 2019). Os AGCC quando atingem a circulação podem afetar diretamente o tecido adiposo, o cérebro e o fígado (ZHOU e FAN, 2019), embora existam diferenças interindividuais, os valores de disponibilidade sistêmica de acetato, propionato e butirato podem chegar a 36%, 9% e 2%, respectivamente (BOETS et al., 2016).

A literatura tem demonstrado importantes funções imunomoduladoras dos AGCC, com destaque para o butirato. A absorção de AGCC é facilitada por transportadores de substrato como o transportador 1 de monocarboxilato (MCT1) e o transportador 1 de monocarboxilato acoplado a sódio (SMCT1) para promover o metabolismo celular. Além disso, os AGCC podem sinalizar através de receptores acoplados à proteína G da superfície celular, como GPR41, GPR43 e GPR109A, para ativar cascatas de sinalização que controlam as funções imunológicas (ZHOU e FAN, 2019). A nível celular os AGCC podem ter efeitos diretos ou indiretos em processos como proliferação e diferenciação celular e expressão gênica. Eles podem ser absorvidos por difusão passiva, mas a captação pelas células epiteliais intestinais é bastante aprimorada por transportadores específicos, por exemplo, MCT1 e SMCT1 (VENEGAS et al., 2019).

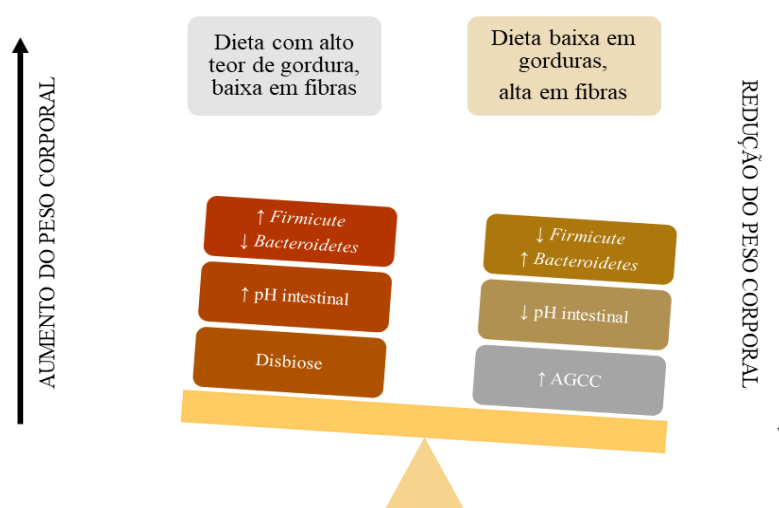
De forma geral, na mucosa saudável a fermentação bacteriana de fibra alimentar por bactérias produtoras de AGCC altera o conteúdo luminal de butirato, propionato e acetato, formando um gradiente ao longo da cripta. Em macrófagos sob estímulo inflamatório agudo, o butirato inibiu as HDACs e expressão de mediadores pró-inflamatórios induzidos por NF- $\kappa$ B, como por exemplo o TNF, IL-6, IL-12 e a óxido nítrico sintase (iNOS), ao passo que aumentou a expressão de mediadores anti-inflamatórios, como a IL-10 (VENEGAS et al., 2019).

Nos colonócitos, o butirato é  $\beta$ -oxidado em acetil-CoA e constitui a principal fonte de energia, preservando a integridade e a função da barreira intestinal. Em colonócitos inflamados, a absorção e oxidação de butirato são diminuídas. Isso contribui para a diminuição da integridade da barreira epitelial, produção de AMPs, proliferação celular e aumento da inflamação (HEE e WELLS, 2021). Os efeitos metabólicos do butirato foram avaliados em um estudo com ratos alimentados com uma dieta rica em gordura (60% de banha de porco). Foi demonstrado que a administração oral de butirato atua no circuito

intestino-cérebro através do nervo vago, diminuindo a ingestão de alimentos e prevenindo a obesidade induzida pela dieta, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia e DHGNA. O butirato também promoveu a oxidação da gordura, ativou o tecido adiposo marrom e auxiliou na melhora da inflamação da mucosa, por meio da modulação de NF-kB. (ZHUANG et al., 2017).

As alterações na modulação da microbiota intestinal, como a mudança na produção dos AGCC, podem trazer consequências importantes para os indivíduos determinantes para o desenvolvimento das DCNT. Estudos têm relatado que fatores dietéticos estão relacionados com o reparo e manutenção desse equilíbrio intestinal e o estado de saúde do hospedeiro (Figura 6) (SUN et al., 2017; LIU et al., 2020).

Figura 6. Efeito da dieta no desenvolvimento da microbiota intestinal e peso corporal normal.



Fonte: Adaptado de BARCZYNSKA et al., 2015.

## 2.4 Relação entre polifenóis dietéticos e modulação da microbiota intestinal

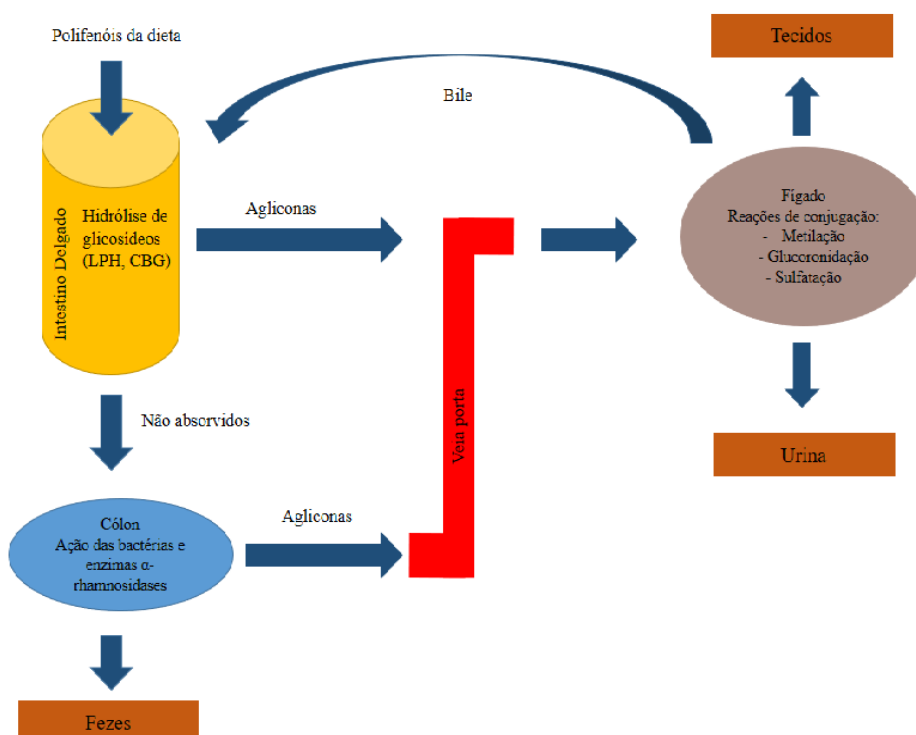
A relação do consumo de polifenóis e efeitos benéficos à saúde tem sido amplamente estudada, uma vez que esses compostos apresentam uma variedade de atividades bioativas incluindo propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, anti-apoptóticas e hipocolesterolêmicas (TELES et al., 2018).

Os polifenóis são uma grande classe de metabólitos secundários produzidos através das vias fenilpropanóide ou policetídeo e são caracterizados pela presença de dois ou mais

anéis benzênicos, portando agrupamento hidroxila e sem grupo funcional nitrogenado em sua estrutura central (SIREROL et al., 2016). Os polifenóis são divididos em várias subclasses, incluindo estilbenos, flavonoides, lignanas e ácidos fenólicos (PANDEY e RIZVI, 2009). Embora tenha biodisponibilidade e concentrações fisiológicas baixas, os polifenóis da dieta são metabolizados pela microbiota no cólon, produzindo metabólitos microbianos intestinais bioativos que demonstram importantes efeitos biológicos (MARÍN et al., 2015; GROBELNA, KALISZ e KIELISZEK, 2019; WANG et al., 2019).

Após a ingestão de polifenóis, as porções de açúcar como a quercetina-3-glicosídeo são clivadas do esqueleto fenólico no intestino delgado e absorvidas. Enzimas como lactase florizina hidrolase (LPH), localizada na membrana do enterócito ou  $\beta$ -glucosidase (EBG), hidrolisam flavonoides glicosilados e depois entram nas células epiteliais por difusão passiva (D'ARCHIVIO et al., 2010). No entanto, os flavonoides ligados a porção ramnose devem atingir o cólon e serem hidrolisados pela  $\alpha$ -rhamnosidases secretada pela microbiota do cólon, como *bifidobacterium dentium* para proceder à sua absorção (SUBEDI et al., 2017) (Figura 7).

Figura 7. Rotas de absorção e metabolismo dos polifenóis e seus derivados em humanos.



Legenda: LPH - florizina hidrolase; CBG -  $\beta$ -glucosidase.

Fonte: Adaptado de MARÍN et al., 2015.

Flavonóis, como epicatequina nunca são glicosilados, mas muitas vezes acilados por ácido gálico. São absorvidos ao nível do enterócito sem qualquer desconjugação ou hidrólise (LEWANDOWSKA et al., 2013). As proantocianidinas são polímeros de alto peso molecular e, portanto, é improvável que oligômeros maiores que os trímeros sejam absorvidos no intestino delgado em sua forma nativa (YUAN et al., 2016).

O ácido hidroxicinâmico é outro polifenol e são normalmente esterificados em açúcares, ácidos orgânicos e lípidos. Como não há esterases em tecidos humanos capazes de quebrar essas ligações, o principal local para o seu metabolismo é a microbiota colônica, embora parte da absorção possa ocorrer no intestino delgado (ERK, HAUSER e WILLIAMSON, 2014).

Alguns ácidos hidroxicinâmico como os elagitaninos são polímeros e são resistentes à ação da LPH ou globulina ligadora de corticosteroide (CBG) e conseqüentemente, não podem ser absorvidos no intestino delgado, atingindo então o cólon onde a microbiota cliva as metades conjugantes. As agliconas resultantes são extensivamente metabolizadas por essa microbiota, levando à produção de vários ácidos hidroxifenilacéticos (LANDETE, 2011).

Uma vez que um derivado final ou aglicona tenha sido absorvido no intestino delgado ou cólon, ele sofre algum grau de metabolismo ao nível do enterócito como metilação (em C3 ou C4 pela catecol-O-metiltransferase (COMT)), sulfatação (em C3', C4', C5 ou C7 por sulfotransferases (SULT)) ou glucuronidação por glucuronosiltransferases (UDP). Então, esses produtos entram na corrente sanguínea pela veia porta alcançando o fígado, onde podem ser conjugados e transportados para a corrente sanguínea novamente até serem secretados na urina (SELMA, ESPÍN e TOMÁS-BARBERÁN, 2009). Alguns dos conjugados do fígado são então excretados como componentes biliares de volta ao intestino (recirculação entero-hepática) e os compostos desconjugados são regenerados pelas enzimas microbianas do intestino antes de serem reabsorvidos novamente (CARDONA et al., 2013). Os metabólitos não absorvidos são eliminados pelas fezes. Todos esses mecanismos de conjugação são altamente eficientes e as agliconas livres geralmente estão ausentes ou presentes em baixas concentrações no plasma, após a ingestão (SELMA, ESPÍN e TOMÁS-BARBERÁN, 2009).

O nível de biotransformação que o polifenol sofre ao longo do trato gastrointestinal é determinado predominantemente por dois fatores: 1) qual a subfamília estrutural desse polifenol e 2) qual a composição da microbiota intestinal individual. A estrutura química desse polifenol limita as possibilidades dos produtos finais e a composição da microbiota levará a algumas biotransformações específicas, considerando o vasto conjunto de espécies e gêneros microbianos intestinais existentes (MARÍN et al., 2015).



Existe também uma classe de polifenóis chamados de taninos hidrolisáveis que incluem os galotaninos e elagitaninos. São compostos presentes principalmente em frutas como a framboesa, morango, uva, romã e nozes (MARÍN et al., 2015). A diferença é que na hidrólise intestinal, os galotaninos produzem glicose e ácido gálico, enquanto os elagitaninos produzem ácido elágico a partir da lactonização (MARÍN et al., 2015).

Estudos em modelos animais e em humanos inferem que determinados polifenóis podem modificar a composição microbiana do intestino e a produção de AGCC. Estes estudos mostraram que a variação individual da ingestão de polifenóis associado a diferenças interindividuais existentes na composição da microbiota intestinal humana, interferem na biodisponibilidade e bioeficácia desses compostos, estimulando ou inibindo certos nichos do ecossistema (DORSTEN et al., 2010; BEVINS e SALZMAN, 2011; CARDONA et al., 2013).

Tem sido demonstrado que os polifenóis dietéticos podem ter a capacidade de modificar o equilíbrio microbiano intestinal, mas por um efeito indireto, ou seja, mediado por produtos da biotransformação, ao invés dos compostos originais da planta e assim modular a microbiota (PARKAR, TROWER e STEVENSON, 2013). Ratos que receberam bebida adicionada de manga por um período de nove semanas, expostos a três ciclos para indução da colite, com um período de recuperação de 2 semanas, apresentaram um aumento significativo nas bactérias produtoras de tanase *Lactobacillus plantarum* e *Lactococcus lactis* e bactérias produtoras de butirato *Clostridium butyrium*. As concentrações de butirato e valerato aumentaram 150% e 119%. Como conclusão os autores sugerem que a ingestão de manga atenua a inflamação em um modelo de colite induzida, em parte alterando a composição microbiana e a produção de AGCC e modulando o eixo HDAC e proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) (KIM et al., 2020).

## **2.5 Relação entre fibras dietéticas e modulação da microbiota intestinal**

O consumo dietético de fibras alimentares pode modular a microbiota intestinal (HOLSCHER, 2017). A fibra alimentar é constituída por polímeros de carboidratos com dez ou mais unidades monoméricas que não são hidrolisados pelas enzimas endógenas do trato gastrointestinal (CCNFSDU, 2009). São submetidas à fermentação bacteriana no intestino grosso formando produtos finais fermentativos e, portanto, afetam a composição da microbiota intestinal e sua atividade metabólica (SLAVIN, 2013).

As fibras alimentares são heterogêneas e sua origem e composição química são utilizadas para melhor descrevê-las. No que diz respeito à origem, as fibras vegetais são derivadas de cereais e grãos, frutas, legumes e nozes, sendo importante destacar que as fibras presentes em diferentes tipos de alimentos possuem composição química variada, assim como suas propriedades físico-químicas (MCRORIE e FAHEY, 2013).

São consideradas características físico-químicas das fibras, a fermentabilidade, solubilidade e viscosidade, por essas características as fibras são divididas em solúveis e insolúveis (HOLSCHER, 2017). As fibras insolúveis como a celulose geralmente são pouco fermentadas pela microbiota intestinal, no entanto, seu consumo aumenta a taxa de trânsito intestinal, reduzindo a quantidade de tempo disponível para a fermentação bacteriana do cólon de alimentos não digeridos (HOLSCHER et al., 2015). Já as fibras solúveis são altamente fermentáveis, possuem alta solubilidade e viscosidade, incluem  $\beta$ -glucano e pectinas e são encontradas em grãos integrais como aveia ( $\beta$ -glucana) e frutas, como maçãs (pectina). As fibras solúveis não viscosas fermentadas pela microbiota gastrointestinal são representadas pela inulina, maltodextrina resistente, amido resistente, polidextrose e fibra de milho solúvel (RENDÓN-HUERTA et al., 2012).

A recomendação dietética de consumo diário é de 14 g de fibra alimentar por cada 1.000 kcal, ou 25 g para mulheres adultas e 38 g para homens adultos. Crianças entre 1 e 18 anos devem comer de 14 a 31 gramas de fibra por dia, dependendo da idade e do sexo (IOM, 2005; ADA, 2008).

O consumo adequado de fibras parece reduzir o risco de desenvolvimento de algumas DCNT como: doença cardiovascular, doença arterial coronariana, acidente vascular cerebral e diabetes melitus tipo 2 e também algumas desordens gastrointestinais, além de controle do apetite e peso corporal (ADA, 2009; BONNEMA, 2010; HOPPING et al., 2010; MUSSO, GAMBINO e CASSADER, 2010; GUÉRIN-DEREMAUX et al., 2011). Neste sentido, a influência de hábitos alimentares a longo prazo, especialmente a ingestão habitual de fibras na modulação da microbiota intestinal tem se tornado alvo de estudos, sendo um benefício amplamente reconhecido do consumo de fibra é a produção de AGCC via fermentação no cólon (DAHL et al., 2017).

Em um estudo recente, camundongos foram alimentados com dieta padrão com carne vermelha (20% de carne) ou uma dieta padrão com fibra (15% de arabinosilana), observou-se no grupo suplementado com fibra, uma mudança no microbioma intestinal dos animais, acompanhado pela regulação positiva da expressão gênica da AMPK pela microbiota, além da diminuição das concentrações séricas de trimetilamina *n*óxido, triglicérides e glicose. Esses resultados sugerem um

novo mecanismo regulador, através do qual a produção do butirato e ativação do AMPK contribui para a integridade intestinal e a homeostase, afetando o metabolismo e a função da barreira intestinal (LI et al., 2019).

Outros estudos também demonstraram efeitos benéficos do consumo de fibra alimentar e suplementação dietética de butirato nos tecidos periféricos. Foi demonstrado que o aumento do consumo de fibra ou suplementação oral de butirato diminui a adiposidade e melhora a sensibilidade à insulina (SALDANHA, KALA e TOLLEFSBOL, 2014; HENAGAN et al., 2015).

Estudo recente revelou que o farelo de trigo afeta a estrutura e a função metabólica da microbiota colônica. O farelo de trigo foi mostrado em um sistema fermentador *in vitro* para promover bactérias produtoras de butirato pertencentes à família *lachospiraceae*, o que subsequentemente resultou em um aumento na concentração de butirato (DUNCAN et al., 2016). Resultados semelhantes também foram observados em dois estudos independentes *in vivo*, nos quais o consumo de uma dieta enriquecida com farelo de trigo aumentou as concentrações de butirato nas fezes de pacientes com sobrepeso e obesidade (WALKER et al., 2011; SALONEN et al., 2014).

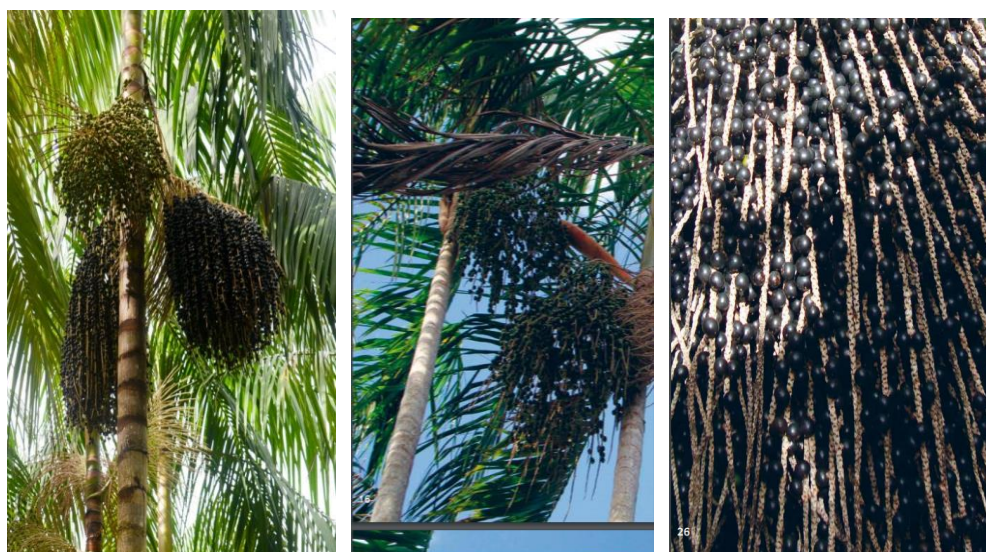
## **2.6 Açaí (*Euterpe Oleraceae* Martius)**

O açaí é um fruto nativo da palmeira sul-americana do gênero *Euterpe Oleraceae* Martius (CARVALHO et al., 1998). Existem mais de 25 espécies do gênero *Euterpe Oleraceae* Martius localizadas nas Américas Central e do Sul e estão distribuídas por toda a bacia amazônica. As principais espécies de palmeira que produzem o fruto açaí são *E. Oleracea*, *E. Precatoria* e *E. Edulis*, porém apenas os frutos das espécies *E. oleracea* e *E. Precatoria* são comercialmente utilizados. A maneira como as palmeiras crescem é a principal diferença entre as espécies. *E. Precatoria* é uma palmeira nativa do estado do Amazonas, popularmente conhecida como "açaí-do-amazonas" e localiza-se principalmente em terras altas e planas na bacia do rio Amazonas (MARTINOT, PEREIRA e SILVA, 2017). Em contrapartida, a *E. Oleracea* Martius, popularmente conhecida como "açaí-do-pará" é encontrada principalmente em várzeas e em terras do rio Amazonas, Pará, Maranhão, Tocantins, Amapá e também na Guiana e na Venezuela. Essas regiões apresentam condições ambientais preferidas para o desenvolvimento da palmeira, temperatura e umidade alta, distribuição regular de chuvas e solo úmido, localizado próximo às várzeas e igarapés (CARVALHO et al., 1998). Apesar da maior quantidade de espécies de *Euterpe* se

encontrarem concentradas no lado leste da floresta amazônica, também é observado na área setentrional da América do Sul (YAMAGUCHI et al, 2015).

*Euterpe Oleracea* Martius é uma palmeira caracterizada por apresentar uma raiz cheia de caules com até 25 hastes por touceira. Os troncos têm alturas que variam entre 3 a 20 metros e um diâmetro de 7 a 18 cm. Cada palmeira produz cerca de quatro cachos de frutos pesando entre 3 e 6 kg (Figura 8) (ROGEZ, 2000).

Figura 8. Palmeira, *Euterpe Oleracea* Martius e seu fruto, açaí.



Fonte: Embrapa - <https://www.embrapa.br/busca-de-imagens/-/midia/3631001/cachos-de-acai>; Iepé, 2015.

O nome açaí apresenta raízes na língua indígena brasileira, o tupi, originalmente yá-cai – e significa fruta que chora, provavelmente relacionada ao fato de que durante o processamento de extração da fruta ocorre a produção de um líquido viscoso (CARVALHO et al., 1998).

O açaí é arredondado, de cor roxa, com cerca de 13 mm de diâmetro, pesa aproximadamente 2 gramas e compreende uma polpa violeta e uma semente bege (Figura 9).

Figura 9. *Euterpe Oleracea* Martius, os frutos violetas arredondados e as sementes.



Fonte: de Moura, Roberto S.; Resende, Ângela Castro Journal of Cardiovascular Pharmacology 68(1):19-26, July 2016.

Quando maduro o epicarpo é de coloração roxa, quase preto. O mesocarpo apresenta cerca de 1 mm, é polpudo, envolvendo um endocarpo duro e volumoso que segue a forma do fruto. Apenas 17% deste fruto é comestível (polpa com casca), sendo necessário cerca de 2 kg de frutos para produzir um litro de suco de açaí, o restante representa o núcleo, contendo a semente oleaginosa (ROGEZ, 2000).

Devido ao potencial de plena utilização da matéria-prima, o cultivo da palmeira tem apresentado relevante importância socioeconômica (BICHARA; ROGEZ, 2011). Os frutos são extraídos para consumo alimentar e cosmético, a palmeira é utilizada para a fabricação do palmito, suas folhas e ripas de madeira são utilizadas na construção e cobertura de casas rústicas e as sementes são usadas no artesanato e na produção de fertilizantes orgânicos (ROGEZ, 2000).

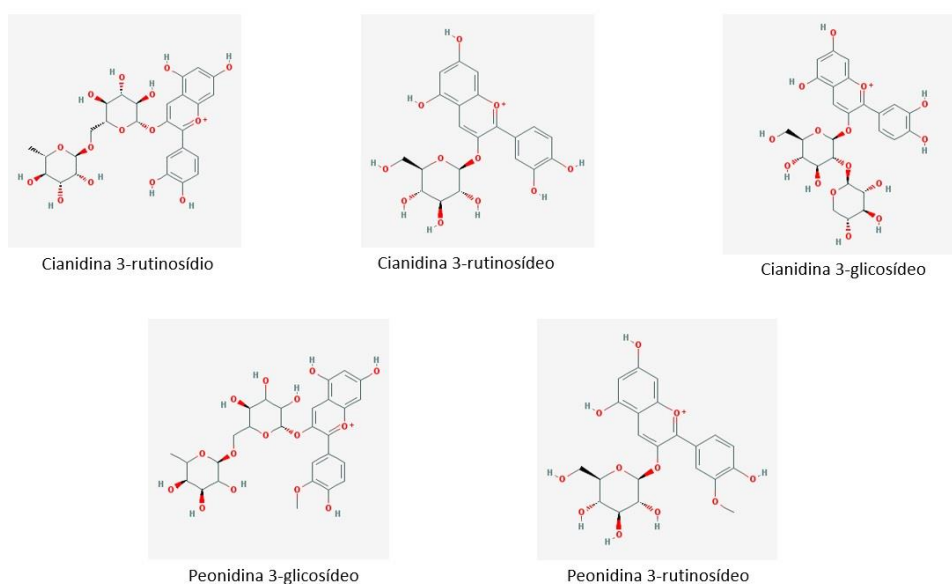
O uso do açaí é popularmente conhecido há muitos anos pelos índios brasileiros e também por comunidades economicamente mais afetadas da Amazônia, não apenas como alimento, mas também no tratamento de vários sintomas, principalmente febre, cansaço e dor. Nos últimos anos o seu consumo aumentou significativamente no Brasil e também em países da Europa, Japão e nos Estados Unidos, sendo comercializado pelas indústrias alimentícia, cosmética e farmacêutica (MOURA e RESENDE, 2016).

A quantidade de açaí extraído no ano de 2018 foi de 221.646 toneladas. Em 2017, foram comercializados pelo estado do Pará mais de 593,8 milhões de reais em produtos originados do beneficiamento do açaí, destinados aos mercados, nacional e internacional, proporcionando um acréscimo de 15 % no volume em relação ao ano de 2016 (BRASIL, 2017; IBGE, 2019). Esse aumento no consumo pode ser explicado pelos benefícios à saúde que o consumo deste fruto apresenta e a literatura relaciona esses efeitos à presença de

compostos bioativos, como os polifenóis (SANWONG et al., 2013), fibras alimentares e de lípidos insaturados (CARVALHO et al., 2019; MOURA e RESENDE, 2016; PEREIRA et al., 2016).

O composto que chama mais atenção em relação à propriedade antioxidante do açaí é a fração polifenólica, que é rica em antocianina, principalmente cianidina-3-glucosídeo e cianidina 3-rutinosídeo (Figura 10) (POZO-INSFRAN, BRENES e TALCOTT, 2004).

Figura 10. Estrutura química das antocianinas presentes no açaí (*Euterpe Oleracea* Martius).



Fonte: PubChem.

Quando comparado a outras frutas ricas em antocianinas, a polpa do açaí apresenta uma alta capacidade antioxidante (48,6  $\mu$  mol TE /mL), mirtilos (4,6-31,1  $\mu$  mol TE / g), morangos (18,3-22,9  $\mu$  mol TE / g), framboesas (19,2-22,6  $\mu$  mol TE / g), amoras (13,7-25,1  $\mu$  mol TE / g), cranberries (8,20-145  $\mu$  mol TE / g) e suco de uva (18,2-26,7  $\mu$  mol TE / g) (POZO-INSFRAN, BRENES e TALCOTT, 2004 apud SCHAUSS et al., 2006). Estudo recente, demonstrou que em 100g da polpa de açaí, contém um total de polifenóis de 549,5 mg de equivalente de ácido gálico (EAG) e 6,5 mg de antocianina (BARBOSA et al., 2019a).

Outros polifenóis presentes na polpa de açaí são o ácido ferúlico, epicatequina, ácido p- hidroxibenzóico, gálico ácido, ácido protocatequico, catequina, ácido elágico, ácido vanílico, ácido p- ocamarico (SCHAUSS et al., 2006).

Com relação à composição nutricional do açaí, destacam-se as altas quantidades de fibras alimentares e ácidos graxos insaturados (YAMAGUCHI et al., 2015; SCHAUSS et al., 2006; DEL POZO-INSFRAN, BRENES e TALCOTT, 2004). Os principais lípides presentes são, ácido oleico (56,2%), ácido palmítico (24,1%) e ácido linoleico (12,5%) (DEL POZO-INSFRAN, BRENES e TALCOTT, 2004).

Nos últimos dez anos a avaliação da bioatividade da polpa de açaí tem sido alvo de estudo pelo nosso grupo de pesquisa. Os estudos publicados mostram que essa polpa apresenta importante potencial antioxidante e no metabolismo de lipídeos.

Souza et al. (2010) observaram que o consumo dietético de 2% da polpa de açaí por ratos hipercolesterolêmicos promove um aumento nos níveis de HDL-c e uma redução nos níveis de colesterol não-HDL. Adicionalmente, mostraram uma redução na concentração sérica de marcadores da oxidação proteica em ratos que recebem uma dieta rica em gordura suplementada com a polpa de açaí. A adição de 2% de polpa de açaí à dieta hipercolesterolêmica de ratos, também promoveu uma redução de 31% no índice aterogênico sérico e o aumento de 44% na excreção de colesterol fecal (SOUZA et al., 2012). O estudo sugere que a polpa de açaí promove um efeito hipocolesterolêmico por meio do aumento na expressão gênica de transportadores hepáticos relacionados com a excreção do colesterol.

Guerra et al. (2015) avaliaram os efeitos do consumo do extrato aquoso da polpa de açaí sobre alterações metabólicas desencadeadas pelo consumo de uma dieta hiperlipídica em camundongos. O consumo do extrato apresentou efeito protetor sobre a esteatose hepática, através da melhora nos níveis de adipocinas, sensibilidade a insulina e aumento na expressão dos genes relacionados à  $\beta$ -oxidação de ácidos graxos mediada pelo receptor ativado por proliferadores de peroxissoma (PPAR- $\alpha$ ). E ainda, promoveu uma melhora no balanço oxidante/antioxidante hepático. Em 2016, o estudo de Pereira et al., também sugere o uso da polpa de açaí como uma terapia potencial para lesões hepáticas, uma vez que o tratamento com polpa de açaí foi capaz de promover uma redução da infiltração de gordura e do conteúdo de triglicérides hepático em ratos alimentados com uma dieta rica em gordura.

Os efeitos benéficos da polpa do açaí, também foram observados em humanos. Barbosa et al. (2016) realizou um estudo de intervenção nutricional, composto por 35 voluntários que consumiram 200 g / dia de polpa de açaí por um mês. Ao final da intervenção, a ingestão de açaí aumentou a atividade da catalase, a capacidade antioxidante total e reduziu a produção de espécies reativas de oxigênio. Além disso, reduziu a concentração sérica da proteína carbonila e aumentou os grupos sulfidrilas totais. Esses resultados mostram o benefício antioxidante do açaí quando consumido por mulheres saudáveis.

Estudo semelhante foi realizado por Pala et al. (2018) e foi observado que o consumo da polpa do açaí por mulheres saudáveis aumenta a concentração da apolipoproteína AI e a transferência do éster de colesterol para o HDL. Esses resultados em conjunto sugerem que houve uma melhora no metabolismo dessa lipoproteína, indicando proteção contra o desenvolvimento da aterosclerose (PALA et al., 2018).

Recentemente, foi avaliado o efeito da suplementação de polpa de açaí na dieta materna hiperlipídica sobre o metabolismo lipídico de mães e proles, após o nascimento e após a lactação. Para tal, ratas *Fisher* foram alimentadas com dieta rica em gordura suplementada ou não com polpa de açaí, duas semanas antes do acasalamento e durante os períodos de gestação e lactação. Os achados do estudo revelaram que nas mães alimentadas com dieta hiperlipídica, houve aumento do peso do fígado, da atividade sérica das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) e do grau de esteatose hepática. A adição de açaí na dieta materna reduziu algumas características da DHGNA, incluindo o peso do fígado e o grau de esteatose hepática. Em relação a prole, os efeitos da dieta materna mostram que a dieta hiperlipídica suplementada ou não com polpa de açaí, foi capaz de aumentar o peso corporal, além do peso absoluto e relativo do fígado dos filhotes. A introdução da polpa de açaí na dieta materna foi capaz de reduzir o peso relativo e o conteúdo de gordura do fígado, sugerindo que o consumo materno de açaí durante a gestação e lactação é capaz de modificar o metabolismo hepático da prole (BARBOSA et al., 2019b).

Os estudos realizados até o momento reforçam o importante papel que a polpa de açaí, devido as suas propriedades antioxidante e no metabolismo de lipídeos, exerce sobre a saúde. No entanto, estudos investigando os efeitos da polpa de açaí sobre a modulação da microbiota intestinal ainda estão se iniciando. O que se tem na literatura até o momento é um estudo que avaliou a hipótese de que tanto as fibras alimentares, quanto os polifenóis presentes no açaí proporcionam benefícios prebióticos e antígenotóxicos no cólon. Para tal, investigou-se essa hipótese usando uma digestão gastrointestinal simulada *in vitro* da polpa de açaí e um subsequente modelo de fermentação de cultura em lote, anaeróbico e com pH controlado refletivo da região distal do intestino grosso humano. Após a digestão *in vitro*, 49,8% do total de polifenóis iniciais estavam disponíveis. Em modelo *in vitro* a polpa de açaí digerida proporcionou uma redução no número dos gêneros *Bacteroides-Prevotella* spp. e *Clostridium-histolyticum*, e aumentaram as concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta em relação ao grupo controle (ALQURASHI et al., 2017).

Diante do exposto, nossa hipótese concerne em explorar se a dieta hiperlipídica e a polpa de açaí, associadas ou não, na dieta materna durante os períodos de gestação e lactação,



são capazes de promover alterações na produção de ácidos graxos de cadeia curta no conteúdo cecal de mães e suas proles após a lactação.

### **3 OBJETIVOS**

#### **3.1 Objetivo geral**

Investigar o efeito da polpa de açaí suplementada na dieta hiperlipídica materna sobre aspectos intestinais e hepáticos das mães e da prole

#### **3.2 Objetivos específicos**

- ✓ Identificar efeito da suplementação com polpa de açaí (2%) sobre a concentração de ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, ácido propiônico e ácido butírico) produzidos no conteúdo cecal de ratas alimentadas com uma dieta hiperlipídica durante os períodos de gestação e lactação e de suas proles de 21 dias de idade.
- ✓ Analisar o efeito da suplementação com polpa de açaí (2%) sobre a concentração hepática de TNF de ratas alimentadas com uma dieta hiperlipídica durante os períodos de gestação e lactação e de suas proles de 21 dias de idade.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Dietas experimentais

Os procedimentos experimentais utilizados neste trabalho foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Ouro Preto (UFOP), segundo o protocolo de número CEUA 2015/15 (Anexo I).

Um total de 32 ratas *Fischer*, albinas, com aproximadamente 90 dias de idade foram obtidas do Laboratório de Nutrição Experimental, da Escola de Nutrição - UFOP, e lá permaneceram durante todo o procedimento experimental. Os animais foram alimentados com dieta padrão AIN-93G (REEVES, NIELSEN e FAHEY, 1993) ou dieta hiperlipídica com 40% de banha de porco e 1% de colesterol, suplementadas ou não com polpa de açaí (2%).

Os valores de banha de porco e colesterol foram definidos a partir de trabalhos previamente publicados (BURGUENO et al., 2013; GUERRA et al., 2015). A suplementação com polpa de açaí à 2% (200 ml de polpa de açaí) foi baseada no estudo de Souza et al. (2010). Os ingredientes utilizados para a elaboração das dietas experimentais encontram-se na tabela 1.

Tabela 1. Ingredientes utilizados na elaboração das dietas experimentais.

<b>Ingredientes (g/mL)</b>	<b>Dietas Experimentais</b>			
	<b>C</b>	<b>A</b>	<b>HF</b>	<b>HFA</b>
Caseína	200	200	260	260
Amido Milho	530,7	510,7	170,7	150,7
Sacarose	100	100	100	100
Óleo de Soja*	70	70	40	40
Colina	2,5	2,5	2,5	2,5
Mist. Minerais <sup>1</sup>	35	35	35	35
Mist. Vitaminas <sup>2</sup>	10	10	10	10
Celulose	50	50	50	50
Metionina	1,8	1,8	1,8	1,8
Colesterol	0	0	10	10
Banha de Porco	0	0	320	320
Polpa de Açaí	0	200	0	200

C, dieta padrão baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes; A, dieta padrão suplementada com polpa de açaí 2% (p/p); HF, dieta hiperlipídica; HFA, dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí 2% (p/p).

<sup>1</sup> Mistura de minerais (expresso em g/kg da mistura): NaCl – 139,3 / KI- 0,79 / MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O- 57,3 / CaCO<sub>3</sub>- 381,4 / MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O – 4,01 / FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O – 0,548 / CuSO<sub>4</sub>. 5H<sub>2</sub>O – 0,477 / CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O – 0,023 / KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> – 389,0.

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

\* O óleo de soja contém, em 100g, 18g de gordura saturadas e 82 g de gordura insaturada das quais 21g de ácido oleico, 55g de ácido linoleico e 6g de ácido linolênico.

A composição química das dietas experimentais, dieta padrão (C), açaí (A) hiperlipídica (HF) e hiperlipídica + açaí (HFA), foi determinada através da análise da composição centesimal, realizada no laboratório de Bromatologia - UFOP, através de metodologias propostas para análise da composição química de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (Instituto Adolf Lutz, 2008). A composição química das dietas experimentais está demonstrada na tabela 2.

Tabela 2. Composição química das dietas utilizadas no período experimental\*.

Nutriente	Dietas Experimentais			
	C	A	HF	HFA
Carboidrato (g)**	74,8	70,8	46,9	40,2
Proteína (g)	18,0	23,4	17,4	24,2
Lípides (g)	5,8	7,2	35,7	34,9
Cinzas (g)	2,9	2,9	3,0	3,0
Umidade (%)	10,6	11,7	7,7	8,5
Valor energético total (Kcal)	423,4	441,6	578,5	571,7

C, dieta padrão baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes; A, dieta padrão suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí 2% (p/p); HF, dieta hiperlipídica; HFA, dieta hiperlipídica suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí 2% (p/p).

\* Valores expressos por 100 gramas de dieta. \*\* Determinado pelo método da diferença.

‡ Fatores de conversão: proteínas 4 kcal/g, lípides 9 kcal/g, carboidratos 4 kcal/g.

A polpa de açaí (Icefruit Polpa de Açaí Médio) foi adquirida em lote único (07/2016) no comércio local da cidade de Ouro Preto, marca Icefruit Comércio de Alimentos Ltda (Tatuí, São Paulo, Brasil) para garantir a homogeneidade da polpa durante todo o experimento. Toda a quantidade de polpa de açaí necessária para o desenvolvimento do projeto foi adquirida em uma única remessa de um mesmo fornecedor e lote garantindo a homogeneidade da polpa durante todo o experimento. De acordo com o fabricante, a polpa de açaí é pasteurizada, embalada a vácuo e mantida à -80°C. Também não contém corantes, conservantes e adição de outro ingrediente que não seja água. A polpa de açaí utilizada no presente trabalho possui cadastro para atividade de acesso no Sistema Nacional de Patrimônio Genético (SisGen), em atendimento ao previsto na Lei nº 13.123/2015 (Cadastro nº A30E10C) (ANEXO II) e sua composição química está demonstrada na tabela 3.

Tabela 3. Composição centesimal da polpa congelada de açaí, Icefruit Polpa de Açaí Médio\*.

<b>Nutrientes</b>	<b>Quantidade</b>
Umidade (%)	90.18
Proteína (g)	0.89
Lípides (g)	3.95
Carboidrato (g)	2.31
Fibra solúvel (g)	0.37
Fibra insolúvel (g)	1.9
Cinzas (g)	0.4

\* Valores expressos por 100 gramas de polpa.

Fonte: Barbosa et al., 2019.

A polpa de açaí apresenta aproximadamente 90% de umidade, 0,89 g de proteína, 3,95 g de lípidos, 2,31 g de carboidratos, 0,37 g de fibra solúvel, 1,9 g de fibra insolúvel e 0,4 g de cinzas.

Com relação à concentração de compostos fenólicos, a polpa congelada de açaí utilizada possui uma concentração de polifenóis totais de 549,51 EAG e 6,47 mg antocianinas, dados apresentados na tabela 4.

Tabela 4. Teores de polifenóis totais e antocianinas na polpa congelada de açaí, Icefruit Polpa de Açaí médio.

	<b>Polifenóis totais (EAG*)</b>	<b>Antocianinas (mg antocianina)</b>
Polpa de Açaí (100g)	549,51 ± 60,97	6,47 ± 1,21

\* EAG: equivalente de ácido gálico.

Fonte: Barbosa et al., 2019.

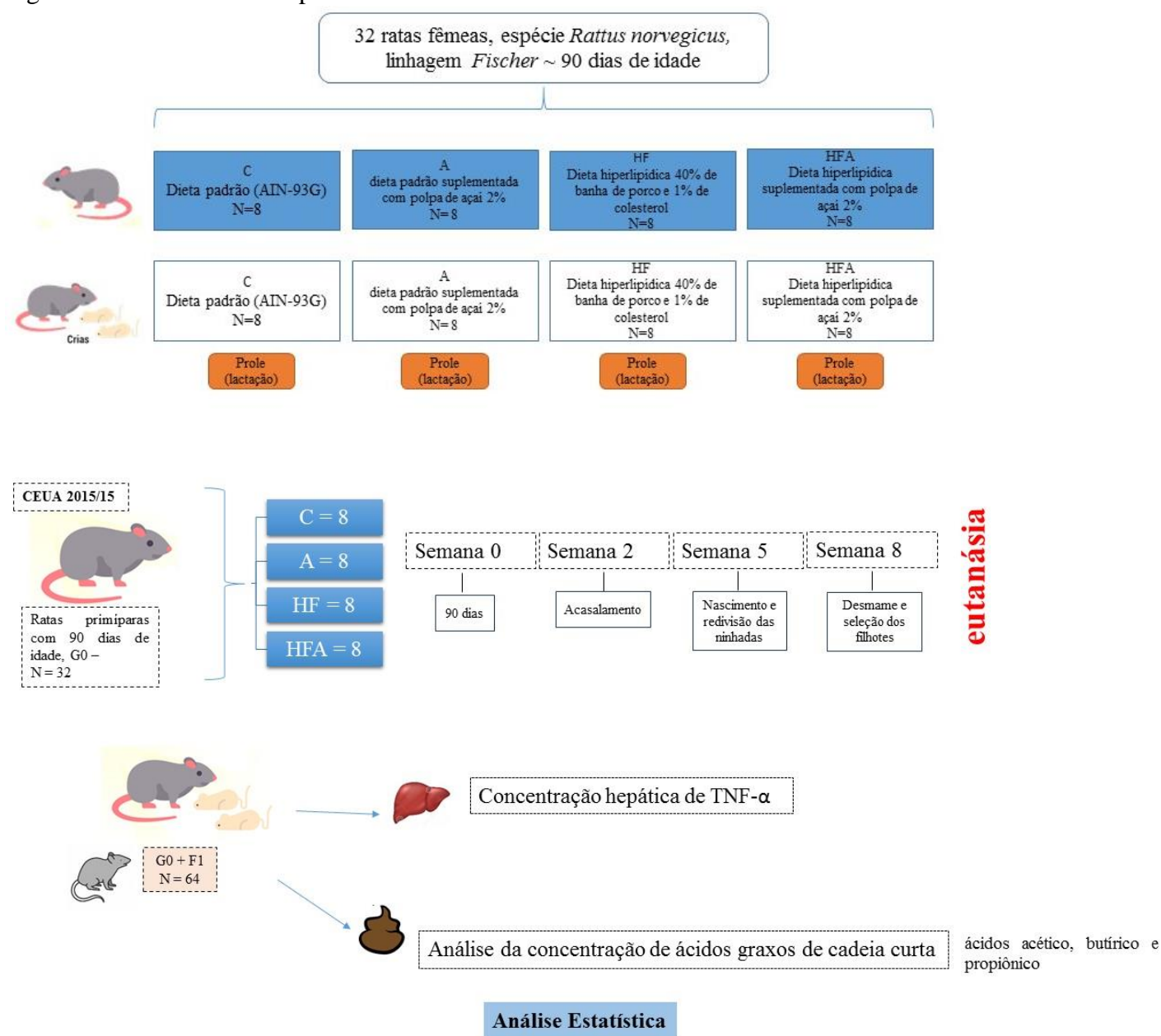
## 4.2 Animais e condições experimentais

Inicialmente, as ratas foram divididas aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n=8 animais cada), de acordo com a dieta recebida: grupo controle (C) que recebeu a dieta padrão baseada na dieta AIN 93G, grupo controle + açaí (A) que recebeu a dieta padrão suplementada com polpa de açaí (2%), grupo hiperlipídico que recebeu a dieta hiperlipídica (HF) e grupo hiperlipídico + açaí (HFA) que recebeu dieta hiperlipídica suplementada com polpa de açaí (2%).

As ratas permaneceram por um período de 2 semanas de adaptação às dietas, em gaiolas individuais e recebendo dieta e água *ad libitum*. Após esse período foi realizado o acasalamento aleatório poligâmico, o qual duas fêmeas foram colocadas com um macho, em uma gaiola de polipropileno durante 5 dias. Ao longo, do período de gestação (aproximadamente 21 dias) as ratas (Geração G0) continuaram a receber suas respectivas dietas experimentais e água *ad libitum*.

Ao nascer, as proles do sexo masculino (Geração F1), foram distribuídas aleatoriamente entre as ratas dos respectivos grupos experimentais, permanecendo até 6 filhotes por rata, a fim de proporcionar um crescimento homogêneo da ninhada. Os filhotes permaneceram na gaiola junto com a mãe durante todo o período de lactação. Durante a lactação (cerca de 21 dias), as mães continuaram a receber suas respectivas dietas experimentais e água *ad libitum*. Ao final do período de lactação (fim do período experimental), foram selecionados aleatoriamente 8 animais (prole) do sexo masculino de cada grupo experimental (C, A, HF, HFA), totalizando 32 animais na geração F1 (Figura 11)

Figura 11. Delineamento experimental do estudo.



Fonte: Elaboração própria, 2021.

Ao final do período de lactação, as matrizes (Geração G0) e as proles (Geração F1), foram anestesiadas via inalação com isoflurano, de acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e a eutanásia ocorreu por exsanguinação.

Os fígados das gerações G0 e F1 foram coletados logo após eutanásia. Depois da retirada do órgão, ele foi lavado em solução salina gelada (0,9%), pesado, identificado e armazenado em alíquotas a  $-80^{\circ}\text{C}$  até a realização das análises subsequentes.



O conteúdo cecal foi obtido através da dissecação do cólon a partir da válvula ileocecal e conseguinte compressão do conteúdo para o interior de microtubos de 0,6 ml. Em seguida o conteúdo cecal foi armazenado a  $-80^{\circ}\text{C}$  para a análise da concentração de AGCC.

### **4.3 Estabelecimento e caracterização do modelo experimental**

O delineamento experimental descrito acima foi utilizado no desenvolvimento de dois trabalhos em nosso laboratório. O primeiro trabalho foi publicado em 2019, produto de uma tese de doutorado (BARBOSA, 2019), e o segundo trabalho é a presente dissertação de mestrado. Esta seção apresenta a caracterização do modelo experimental, dados publicados por Barbosa et al. (2019), que mostram que a dieta materna hiperlipídica foi capaz de alterar o metabolismo hepático das gerações G0 e F1 promovendo o desenvolvimento da DHGNA através da avaliação de dados biométricos e marcadores hepático.

A tabela 5 inclui os resultados de ingestão alimentar, massa corporal, peso relativo do fígado das ratas (G0). Podemos observar que a ingestão alimentar das ratas que receberam dieta rica em gordura suplementada ou não com polpa de açaí, foi menor que os grupos alimentados com dieta padrão. Em relação a massa corporal, os quatro grupos experimentais não apresentaram diferenças estatísticas no período inicial do experimento. No entanto, ao final do estudo, as ratas que receberam dieta HFA tiveram massa corporal significativamente maior (19%) do que o grupo C ( $p < 0,05$ ). Ao avaliar o peso relativo do fígado observou-se que o grupo hiperlipídico apresenta um aumento significativo desse parâmetro em relação ao grupo controle. A presença de açaí na dieta rica em gordura foi capaz de prevenir o aumento do peso relativo do fígado (esse parâmetro é 25% menor no grupo HFA em comparação com o grupo HF ( $p < 0,05$ )).

Tabela 5. Ingestão alimentar, peso corporal e peso do fígado das ratas (Geração G0).

	<b>C</b>	<b>HF</b>	<b>A</b>	<b>HFA</b>
Ingestão alimentar (g/dia)	13,82 ± 1,36	9,66 ± 1,15 <sup>#*</sup>	14,73 ± 1,14	10,91 ± 0,67 <sup>#*</sup>
Massa corporal inicial (g)	210,1 ± 8,83	210,4 ± 10,48	205,4 ± 8,35	218,9 ± 12,84
Massa corporal final (g)	213,1 ± 20,78	230,9 ± 12,61	237,7 ± 27,63	255,6 ± 29,68 <sup>#</sup>
Peso relativo do fígado (%)	3,33 ± 0,73	4,45 ± 1,03 <sup>#*</sup>	2,53 ± 0,55	3,30 ± 0,34 <sup>§</sup>

C: dieta padrão baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes; HF: dieta hiperlipídica; A: dieta padrão suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí; HFA: dieta hiperlipídica suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí.

Os resultados são mostrados como média ± DP (n=7 filhotes por grupo). One-way ANOVA seguido pelos pós teste de Tukey.

<sup>#</sup> p < 0,05 versus C

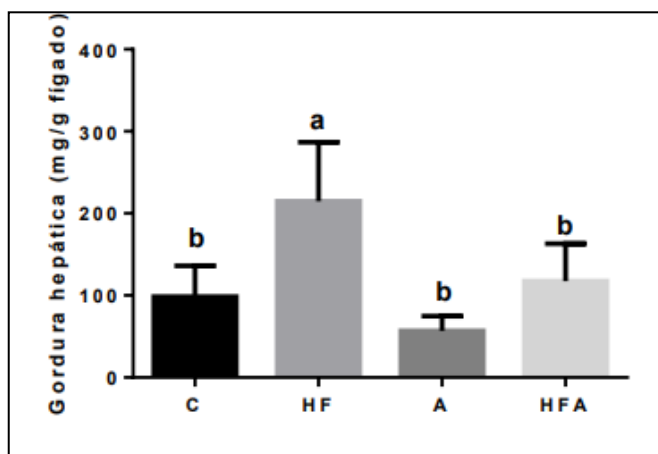
<sup>\*</sup> p < 0,05 versus A

<sup>§</sup> p < 0,05 versus HF

Fonte: Barbosa et al., 2019.

O conteúdo hepático de gordura total da geração G0 está apresentado na figura 12. Observou-se um aumento no conteúdo de gordura total hepática no grupo HF em relação aos grupos C (2,2 vezes; p<0,005) e A (3,8 vezes; p<0,001). A polpa de açaí foi capaz de prevenir em aproximadamente 1,8 vezes o aumento no conteúdo hepático de gordura total em animais alimentados com dieta hiperlipídica (p<0,01).

Figura 12. Níveis hepáticos de gordura total das ratas (Geração G0).



C: dieta padrão baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes; HF: dieta hiperlipídica; A: dieta padrão suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí; HFA: dieta hiperlipídica suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí. Os resultados são mostrados como média  $\pm$  DP (n= 7 ratas por grupo). Letras diferentes indicam diferença estatística significativa. Valor de  $p < 0,005$  foi considerado significativo para o teste *One-way* ANOVA seguido do pós-teste *Tukey*.

Fonte: Barbosa et al., 2019.

O desenvolvimento da DHGNA está associado ao acúmulo intra-hepático de gordura. O trabalho de Barbosa (2019) demonstra as características histológicas e define o grau de esteatose no fígado das ratas mães. Os resultados encontrados mostram que o grupo HF apresentou maior grau de esteatose (moderada e acentuada), e quando a polpa de açaí foi suplementada na dieta hiperlipídica os animais apresentaram uma atenuação desse grau de esteatose (dados não demonstrados; presentes na tese de doutorado de Barbosa, 2019).

Na geração F1 os resultados referentes à massa corporal final e peso relativo do fígado estão expressos na tabela 6. Com relação à massa corporal final foi observado um aumento na massa corporal da prole de HF (25% versus A;  $p < 0,01$ ) e HFA (40% versus A;  $p < 0,05$ ). Com relação ao peso relativo do fígado a alimentação das ratas durante a gestação e lactação com uma dieta rica em lipídeos promoveu um aumento de 47% neste parâmetro nas proles do grupo HF em relação as proles do grupo C. A suplementação de polpa de açaí à dieta hiperlipídica preveniu esse aumento, uma vez que as proles do grupo HFA apresentaram um peso relativo do fígado 17% menor quando comparado com o grupo HF.

Tabela 6. Massa corporal e peso do fígado da prole (Geração F1).

	<b>Prole-P21</b>			
	C	HF	A	HFA
Massa corporal final (g)	30,49 ± 3	33,67 ± 5,8*	23,96 ± 4,43	38,36 ± 7,46*#
Peso relativo do fígado (%)	3,67 ± 0,54	4,96 ± 0,89#	4,32 ± 0,38	4,1 ± 0,25§

C: dieta padrão baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes; HF: dieta hiperlipídica; A: dieta padrão suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí; HFA: dieta hiperlipídica suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí; P1: prole pós-parto; P21: prole pós-desmame. Os resultados são mostrados como média ± DP (n=7 filhotes por grupo). *One-way* ANOVA seguido pelos pós teste de *Tukey*.

# p < 0,05 versus C

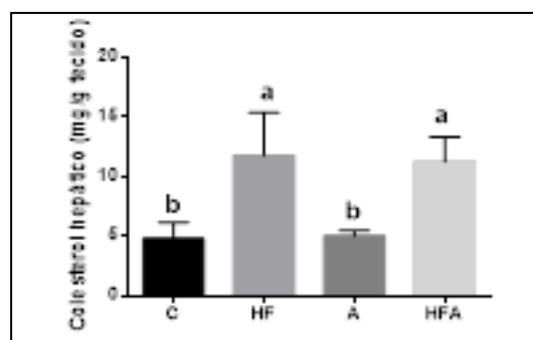
\* p < 0,05 versus A

§ p < 0,05 versus HF

Fonte: Barbosa et al., 2019.

Os níveis colesterol hepático também foram verificados em F1 (figura 13). A dieta HF e HFA durante a gestação e lactação, induziu na prole um aumento na concentração de colesterol total quando comparada à prole de mães alimentadas com dieta controle (134%, p <0,001 *versus* C) e suplementada com açaí (123%, p <0,001 *versus* A). Através das características histológicas e do grau de esteatose dos fígados da prole foi possível observar que os filhotes HF apresentaram um maior número de gotículas lipídicas em comparação com os do grupo CA e HFA. Adicionalmente, a prole do grupo HFA apresentou menor grau de esteatose quando comparado com o grupo HF, sugerindo um efeito protetor do açaí em relação ao acúmulo de lipídios hepáticos (dados não mostrados, presentes na tese de doutorado de Barbosa, 2019).

Figura 13. Níveis de colesterol hepático das proles (Geração F1).



C: dieta padrão baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes; HF: dieta hiperlipídica; A: dieta padrão suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí; HFA: dieta hiperlipídica suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí. Os resultados são mostrados como média  $\pm$  DP (n= 7 filhotes por grupo). Valor de  $p < 0,05$  foi considerado significativo para o teste *One-way* ANOVA seguido pelos pós teste de *Tukey*.

Fonte: Barbosa et al., 2019.

#### 4.4 Análise da concentração de ácidos graxos de cadeia curta

A extração e determinação da concentração dos AGCC no conteúdo cecal foi realizada de acordo com a técnica descrita por Torii et al., (2011), com algumas modificações. Amostras de fezes do conteúdo cecal (100 mg) foram misturadas a 500  $\mu$ l de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$  0,6 M) (Sigma, San Luis, EUA), homogeneizadas em vórtex e centrifugadas por 10 minutos numa velocidade de 5000 g na temperatura de 4°C. O sobrenadante foi transferido para um microtubo de 0,6 mL e por fim, a solução foi filtrada em membrana de 0,22  $\mu$ m. O sobrenadante correspondente de cada amostra foi transferido para *vials* individuais.

Para as dosagens dos ácidos acético, propiônico e butírico, foi utilizada a técnica de cromatografia líquida de alta eficiência (*High Performance Liquid Chromatography* - HPLC) em detector DAD Shimadzu® e coluna Aminex HPX-87H, 300 x 7.8 mm (Bio-Rad®, California, EUA). Alíquotas de 20  $\mu$ L do material filtrado foram analisadas no comprimento de onda de 210 nm por 70 minutos, sob um fluxo de 0,6 mL/minuto de  $H_2SO_4$  5mM e forno a 55°C. Para preparo da fase móvel foi utilizado  $H_2SO_4$  5mM. Curvas de calibração foram preparadas utilizando os padrões (Sigma, San Luis, EUA), nas seguintes concentrações acético (1,2 a 83,0  $\mu$ mol), propiônico (1,05 a 67,0  $\mu$ mol) e butírico (0,8 a 56,0  $\mu$ mol).

#### 4.5 Determinação da concentração hepática de TNF

##### 4.5.1 Processamento do fígado – preparo do homogenato

Amostras de aproximadamente 50 mg de fígado foram homogeneizadas em 500 µl de tampão RIPA (tris-(hidroximetil)-aminometano (TRIS 0,05M), cloreto de sódio (NaCl 0,15M), EDTA 0,0013M, deoxicolato de sódio 1% e duodecil sulfato de sódio (SDS 0,1%). As amostras de fígado foram trituradas utilizando um homogeneizador elétrico, sob baixa rotação por aproximadamente 30 segundos, seguido de 1 minuto no gelo. Este processo foi repetido 3 vezes para cada amostra. Após a realização desta etapa as amostras foram centrifugadas a 10.000 g por 10 minutos a 4C°. Posteriormente, foi coletado o sobrenadante e o mesmo aliquoteado e armazenado a temperatura de -80C° para as análises posteriores.

#### 4.5.2 Dosagem de proteínas totais

A concentração de proteínas totais foi determinada de acordo com o método de LOWRY et al. (1951). O princípio do método baseia-se na redução do reagente de *Folin Ciocalteu*, por aminoácidos aromáticos formando uma coloração azul. A reação ocorre em meio alcalino e é catalisada por íons cobre.

As soluções de trabalho utilizadas no ensaio foram preparadas conforme descrito abaixo: Reagente A: foram dissolvidos 0,25 g de sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O) e 0,5 g de citrato de sódio em 100 ml de água destilada.

Reagente B: foram dissolvidos 5 g de carbonato de sódio e 1 g de hidróxido de sódio em 250 ml de água destilada.

Reagente C: em 50 ml de reagente B foram adicionados 1 ml de reagente A.

Reagente D: em 1 ml de reagente de *Folin* foram adicionados 1 ml água destilada.

Para a realização do ensaio, 10 µl do sobrenadante do homogenato de tecido hepático, foi diluído em 90 µl de água destilada. Em tubos de polipropileno foram adicionados 100 µl da amostra diluída ou diferentes concentrações da solução padrão de albumina ou água destilada (branco). Em seguida foram adicionados 1 ml do reagente C. Os tubos foram agitados no vórtex e incubados a temperatura ambiente por 15 minutos. Posteriormente foram adicionados 100 µl do reagente D em todos os tubos, misturou-se vigorosamente e após 30 minutos de incubação no escuro as absorbâncias dos tubos foram obtidas pela leitura no equipamento de espectrofotômetro no comprimento de onda de 660 nm. Diluições seriadas de uma solução de concentração conhecida de albumina bovina sérica (BSA) a 2 mg/ml, foram utilizadas para a construção da curva de calibração. Após análise de regressão linear, foi determinada a equação da reta, e utilizada para determinar a concentração de proteínas totais presentes no homogenato hepático.

#### 4.5.3 Dosagem da concentração de TNF

O sobrenadante do homogenato do fígado obtido anteriormente foi utilizado na dosagem para avaliar a concentração da citocina TNF. Para esse ensaio, utilizou-se o Kit de ELISA da *Invitrogen* (Rat TNF-alpha ELISA, For Lysates, Kit - Catalog Number ERA57RB 96 tests, Califórnia). A análise foi realizada de acordo com as recomendações do fabricante.

Resumidamente, microplacas com 96 poços foram sensibilizadas com anticorpo específico para a citocina e incubadas por 2 horas e 30 minutos com agitação suave em temperatura ambiente. Para a curva padrão foram realizadas diluições seriadas do padrão de TNF utilizando as seguintes concentrações (20.000 pg/ml, 6.667 pg/ml, 2.222 pg/ml, 740,7 pg/ml, 246,9 pg/ml, 82,3 pg/ml, 27,43 pg/ml e 0 pg/ml). A placa foi bloqueada com PBS/Soro de albumina bovina e incubada em temperatura ambiente. Em seguida, após um ciclo de 3 lavagens com o tampão, foram adicionadas as amostras e as diluições seriadas da curva padrão. As placas foram incubadas em temperatura ambiente e após esse período o anticorpo conjugado de estreptavidina-peroxidase foi adicionado aos poços da microplaca. A coloração foi revelada utilizando o substrato enzimático tetrametilbenzidina (TMB) adicionado da solução de parada para bloquear a reação. A densidade óptica foi determinada em leitor de placa (EPOCH, BIOTEK®) no comprimento de onda de 450 nm e os valores da concentração de TNF no fígado foram expressos em pg/mg de proteínas totais.

#### 4.7 Análise estatística

A normalidade dos dados foi verificada utilizando o teste *Kolmogorov-Smirnov*. Os efeitos da dieta e da polpa de açaí foram avaliados usando a análise da variância ANOVA *TWO-WAY*, seguida pelo teste de *Bonferroni*. Foi considerado estatisticamente significativo  $p < 0,05$  e os dados paramétricos foram representados como média  $\pm$  desvio padrão. Foi realizada a correlação linear de *Pearson* para rastrear associações entre o peso relativo do fígado e TNF em relação a concentração do ácido butírico no grupo HFA da geração F1. As análises estatísticas foram realizadas utilizando o *software GraphPad Prism 6.0* para Windows (*GraphPad Software*, San Diego, CA).

## 5 RESULTADOS

### 5.1 Concentração de ácidos graxos de cadeia curta (ácido acético, ácido butírico e ácido propiônico)

Esta seção apresenta os resultados das concentrações dos ácidos graxos de cadeia curta do conteúdo cecal das gerações G0 e F1.

Na figura 14 estão apresentados os valores das concentrações dos ácidos graxos acético, butírico, propiônico e ácidos graxos totais (somatório dos três ácidos analisados) das mães (Geração G0).

A concentração de ácido acético nas mães teve efeito da dieta hiperlipídica ( $p < 0,001$ ), polpa de açaí ( $p < 0,01$ ) e interação ( $p < 0,05$ ). A interação nesse contexto representa a relação existente entre as variáveis, demonstrando que o efeito de uma variável causal em um resultado depende do estado de uma segunda variável causal, ou seja, o açaí e a dieta hiperlipídica. A concentração de ácido acético foi 31 % menor nas mães do grupo HFA quando comparado ao grupo HF ( $p < 0,01$ ) (Figura 14 a).

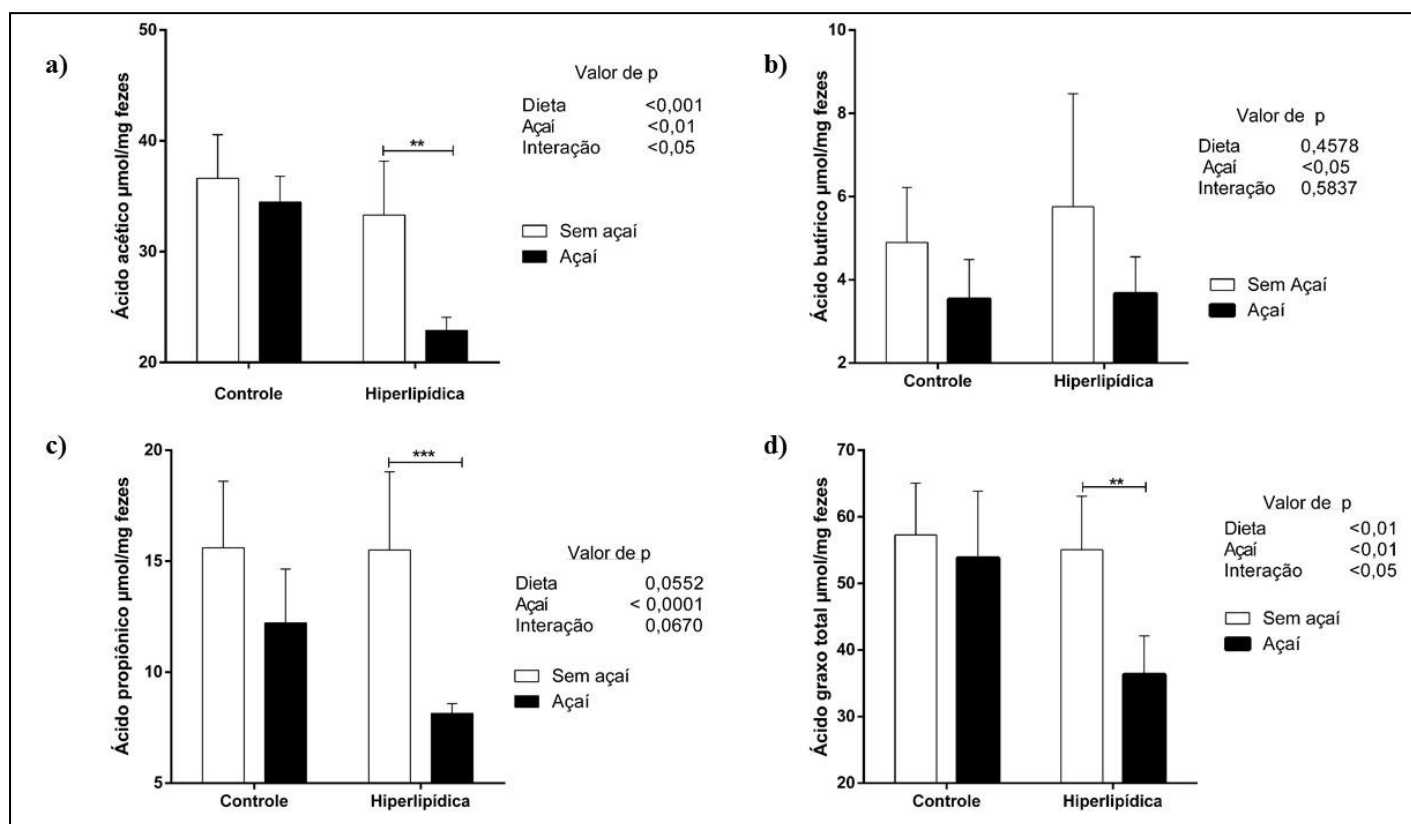
A concentração de ácido butírico nas mães teve efeito da polpa de açaí ( $p < 0,05$ ), mas o pós-teste não mostrou a diferença entre os grupos experimentais (Figura 14 b).

Em relação a concentração de ácido propiônico da geração G0, observou-se que a sua concentração teve efeito da polpa de açaí ( $p < 0,001$ ). Os animais que receberam polpa de açaí suplementada na dieta hiperlipídica apresentaram uma concentração cecal de ácido propiônico 47% menor que as mães do grupo HF ( $p < 0,01$ ) (Figura 14 c).

Referente as concentrações dos ácidos graxos totais, o mesmo foi influenciado pela dieta hiperlipídica ( $p < 0,01$ ), pela polpa de açaí ( $p < 0,01$ ) e a interação ( $p < 0,05$ ). A concentração de ácidos graxos totais no conteúdo cecal foi 33% menor nas mães do grupo HFA quando comparado ao grupo HF ( $p < 0,01$ ) (Figura 14 d).



Figura 14. Efeito da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta acético, butírico, propiônico e total no conteúdo cecal das ratas (Geração G0).



A: Concentração do ácido graxo de cadeia curta acético no conteúdo cecal das ratas (Geração G0). B: Concentração do ácido graxo de cadeia curta butírico no conteúdo cecal das ratas (Geração G0). C: Concentração do ácido graxo de cadeia curta propiônico no conteúdo cecal das ratas (Geração G0). D: Concentração do ácido graxo de cadeia curta total (somatório dos três ácidos analisados) no conteúdo cecal das ratas (Geração G0). Controle: dieta controle baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes (Grupo C); Hiperlipídica: dieta hiperlipídica (Grupo HF); Açaí: suplementação das dietas controle ou hiperlipídica com polpa de açaí a 2% (p/p) (Grupos A e HFA). Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo \*\*\* $< 0,001$ ; \*\* $< 0,01$  e \* $< 0,05$ .

Fonte: Elaboração própria, 2021.

Na figura 15 estão apresentadas as concentrações dos ácidos graxos acético, butírico, propiônico e ácidos graxos totais (somatório dos três ácidos analisados) da prole (Geração F1).

A concentração de ácido acético na prole teve efeito da interação ( $p < 0,05$ ), no entanto o pós-teste não mostrou a diferença entre os grupos experimentais (Figura 15 a).

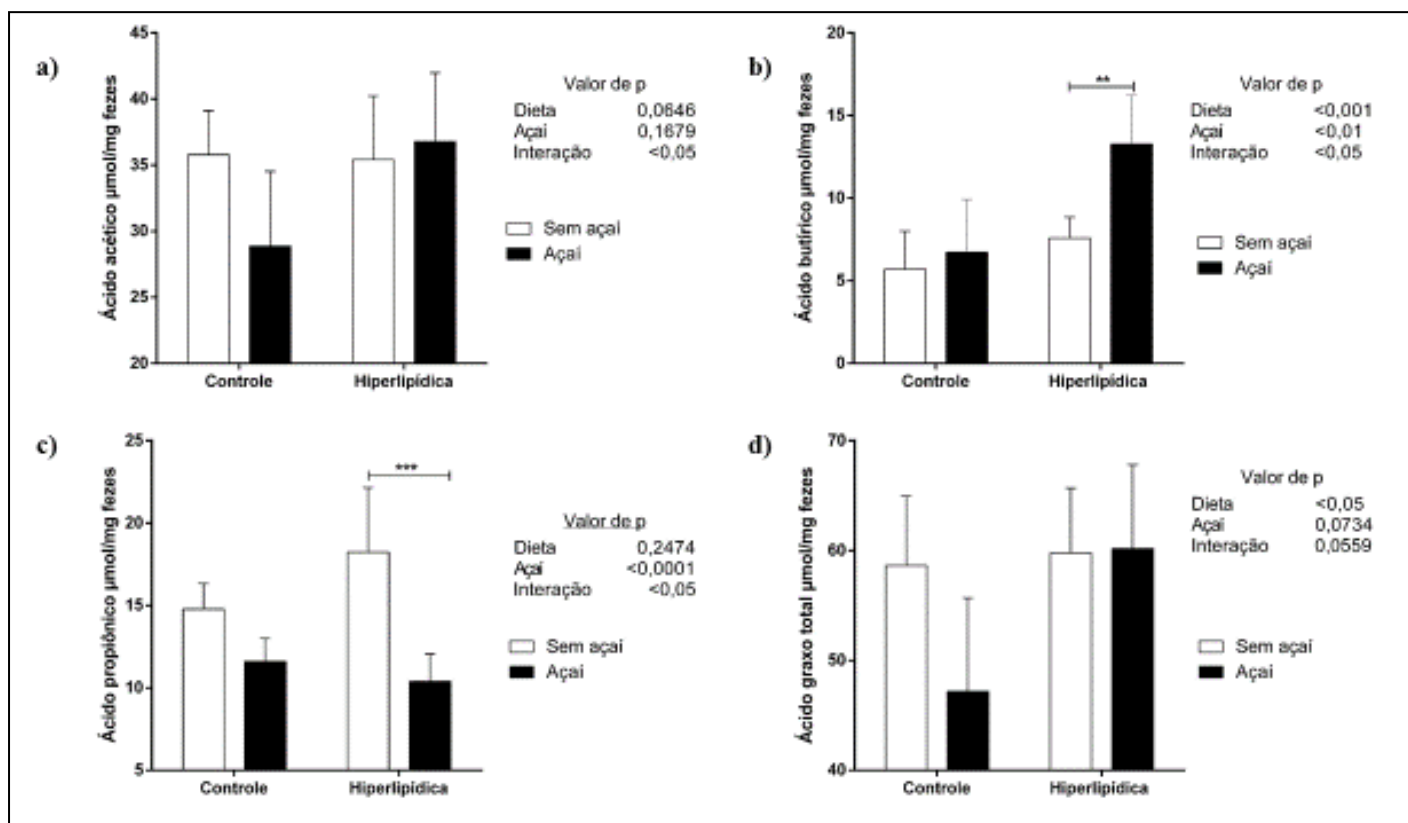
A concentração de ácido butírico na prole foi influenciada pela dieta hiperlipídica ( $p < 0,001$ ), pela polpa de açaí ( $p < 0,01$ ) e a interação ( $p < 0,05$ ). A prole que recebeu a lactação da mãe alimentada com uma dieta hiperlipídica suplementada com a polpa de açaí apresentou

um aumento de 42% na concentração de ácido butírico quando comparado ao grupo HF ( $p < 0,01$ ) (Figura 15 b).

A concentração de ácido propiônico na prole teve efeito da polpa de açaí ( $p < 0,0001$ ) e da interação ( $p < 0,05$ ). A prole do grupo HFA apresentou uma concentração de ácido propiônico 43% menor que a prole que recebeu a lactação da mãe alimentada com a dieta hiperlipídica ( $p < 0,01$ ) (Figura 15 c).

Referente as concentrações dos ácidos graxos totais, o mesmo foi influenciado pela dieta hiperlipídica ( $p < 0,05$ ), no entanto o pós-teste não mostrou a diferença entre os grupos experimentais (Figura 15 d).

Figura 15. Efeito da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre a concentração dos ácidos graxos de cadeia curta acético, butírico, propiônico e total no conteúdo cecal das proles (Geração F1).



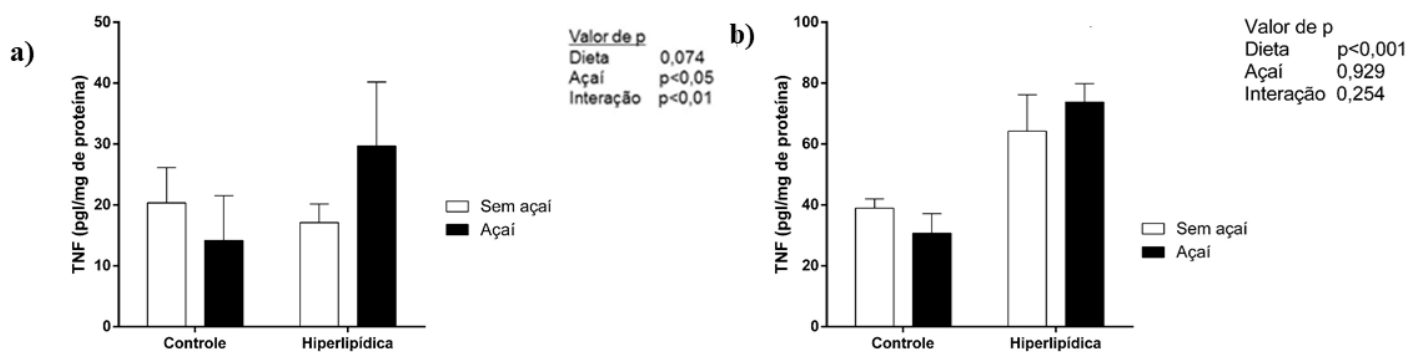
A: Concentração do ácido graxo de cadeia curta acético no conteúdo cecal das proles (Geração F1). B: Concentração do ácido graxo de cadeia curta butírico no conteúdo cecal das proles (Geração F1). C: Concentração do ácido graxo de cadeia curta propiônico no conteúdo cecal das proles (Geração F1). D: Concentração do ácido graxo de cadeia curta total (somatório dos três ácidos analisados) no conteúdo cecal das proles (Geração F1). Controle: dieta controle baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes (Grupo C); Hiperlipídica: dieta hiperlipídica (Grupo HF); Açaí: suplementação das dietas controle ou hiperlipídica com polpa de açaí a 2% (p/p) (Grupos A e HFA). Para a análise estatística foi utilizado 8 animais por grupo, o valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo. Foi utilizado o teste *Two-way* ANOVA seguido pelo teste de *Bonferroni* para detectar diferenças estatísticas entre os grupos experimentais, sendo \*\*\* $< 0,001$ ; \*\* $< 0,01$  e \* $< 0,05$ .

## 5.2 Concentração hepática da citocina TNF

Esta seção apresenta os resultados das concentrações hepáticas de TNF das gerações G0 e F1.

A concentração hepática de TNF nas mães foi influenciada pela polpa de açaí ( $p < 0,05$ ) e a interação ( $p < 0,01$ ), mas o pós-teste não mostrou a diferença entre os grupos experimentais (Figura 16 a). A concentração hepática de TNF na prole foi influenciada pela dieta ( $p < 0,001$ ) (Figura 16 b), no entanto, não foi encontrada diferença significativa entre os quatro grupos experimentais no pós-teste.

Figura 16. Efeito da dieta hiperlipídica e da polpa de açaí sobre a concentração hepática de TNF das ratas e proles (Geração G0 e F1).



A: Concentração hepática de TNF das ratas (Geração G0) e B: Concentração hepática de TNF das proles (Geração F1).

C: dieta controle baseada na dieta AIN-93G para ratas gestantes; HF: dieta hiperlipídica; A: dieta controle suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí; HFA: dieta hiperlipídica suplementada com 2% (p/p) de polpa de açaí.

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

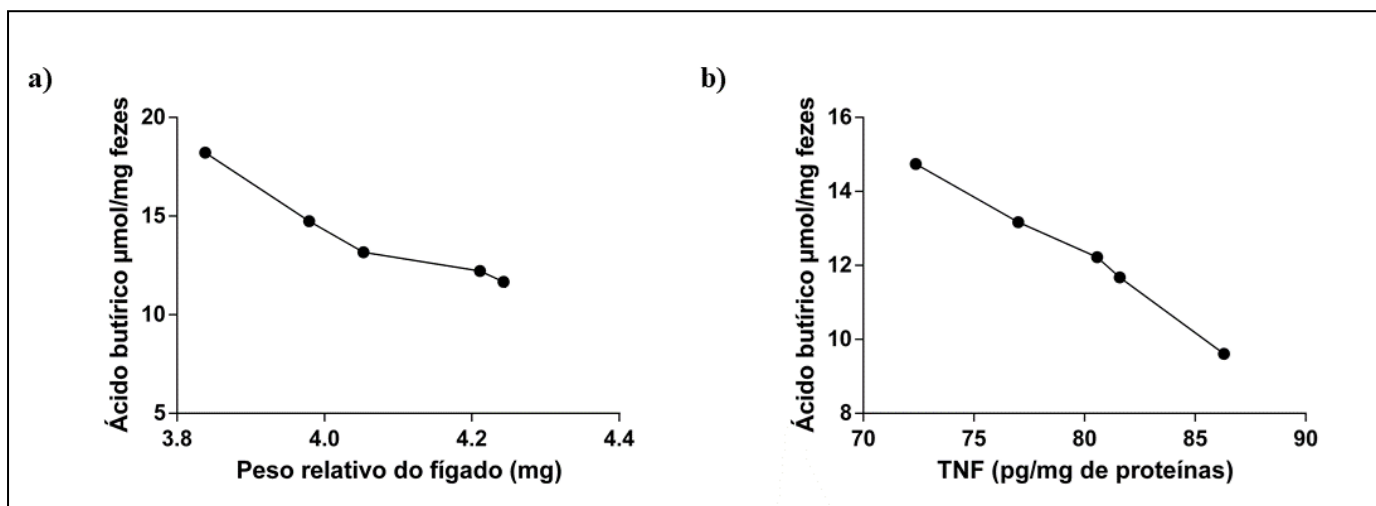
Fonte: Elaboração própria, 2021.

## 5.3 Correlação entre peso relativo do fígado, concentração hepática de TNF e ácido butírico na geração F1

Nas proles do grupo HFA investigamos, através da análise de correlação linear, a associação entre o peso relativo do fígado e a concentração de ácido butírico (Figura 17a) e a associação entre a concentração hepática de TNF e a concentração de ácido butírico (Figura 17b). Nesses animais encontramos que a concentração cecal de ácido butírico foi

inversamente associada ao peso relativo do fígado ( $r=0,9164$ ;  $p < 0,05$ ) e à concentração hepática de TNF ( $r=0,9870$ ;  $p < 0,01$ ).

Figura 17. Correlação linear de *Pearson* entre o peso relativo do fígado e a concentração hepática de TNF em relação à concentração de ácido butírico no grupo HFA na prole (Geração F1).



A: Correlação linear de *Pearson* entre o peso relativo do fígado em relação à concentração de ácido butírico no grupo HFA na prole (Geração F1). B: Correlação linear de *Pearson* entre a concentração hepática de TNF em relação à concentração de ácido butírico no grupo HFA na prole (Geração F1).

Para a análise estatística foi utilizado 5 animais por grupo, o valor de  $p < 0,05$  foi considerado estatisticamente significativo.

Fonte: Elaboração própria, 2021.

## 6 DISCUSSÃO

Já é bem estabelecido na literatura o papel dos metabólitos microbianos intestinais na etiopatogenia da DHGNA (ENDO et al., 2013; DAI et al., 2020). A relação descrita entre o desequilíbrio na produção de AGCC e o desenvolvimento e progressão desta doença incluem a disfunção da barreira intestinal, resultando em endotoxemia metabólica e formação de produtos e toxinas derivados do intestino que irão ativar receptores hepáticos do tipo *toll like*, com uma produção subsequente de mediadores pró-inflamatórios e inflamação sistêmica (XIE e DEMARZIO, 2019; CATALKAYA et al., 2020). Deste modo, atenuar os danos causados por esse desequilíbrio pode ser uma abordagem adicional para a prevenção e/ou tratamento da DHGNA (CHAMBERS et al., 2015; DAI et al., 2020).

O açaí é um fruto que apresenta alta concentração de polifenóis e fibras alimentares e tem sido muito estudado como estratégia terapêutica para a DHGNA, demonstrando importantes efeitos no metabolismo redox e de lipídeos (GUERRA et al., 2015; SILVA, 2020; BARBOSA et al., 2021). No presente estudo foi encontrado que as ratas que receberam dieta hiperlipídica e polpa de açaí durante os períodos de gestação e lactação apresentaram alteração na concentração cecal de AGCC e esse efeito refletiu na vida pós-natal de sua prole de 21 dias de idade. Foi demonstrado uma redução na concentração de ácido acético nas mães do grupo HFA em relação ao grupo hiperlipídico, levando a uma associação otimista da adição da polpa açaí protegendo a geração G0 do acúmulo hepático de lipídeos, visto que o ácido acético desempenha papel importante papel como substrato da gliconeogênese e da lipogênese no fígado (JASIRWAN et al., 2019).

Mães e proles do grupo HFA apresentaram uma redução na concentração do ácido propiônico em relação ao grupo hiperlipídico. Esse AGCC em altas concentrações pode inibir a atividade de histonas desacetilases (HDAC) (SCHILDERINK, VERSEIJDEN e JONGE, 2013). As sirtuínas (SIRT) são uma família de proteínas classificadas como histonas desacetilase de classe III e estudos avaliando o efeito da dieta materna em modelos experimentais de DHGNA têm mostrado que o excesso de lipídios pode reduzir a expressão e a atividade da SIRT1 no fígado de mães e filhos, causando alterações no metabolismo hepático e promovendo o acúmulo de gordura (SUTER et al., 2012). (SACCONNAY, CARRUPT, NURISSO, 2016; BARBOSA et al., 2019). Vimos que mãe e prole do grupo HFA tem uma menor concentração de ácido propiônico e isso provavelmente leva a uma menor inibição da SIRT1, que cvai de encontro com o estudo de Barbosa (2019) onde as

proles de mães que receberam a dieta hiperlipídica suplementada com a polpa de açaí, apresentam uma maior expressão gênica dessa proteína.

Adicionalmente, a literatura mostra que o ácido butírico pode modular o metabolismo energético celular pela ativação da via de sinalização da proteína quinase ativada por monofosfato de adenosina (AMPK) e subsequente regulação da fosforilação por meio da modificação de SIRT1 (ENDO et al., 2013). Esse trabalho demonstrou que a prole que recebeu a lactação da mãe alimentada com uma dieta hiperlipídica suplementada com a polpa de açaí apresentou um aumento na concentração de ácido butírico quando comparado ao grupo HF. Cabe ressaltar que o ácido butírico desempenha importante papel na DHGNA, atuando na manutenção da permeabilidade intestinal, uma vez que promove o fortalecimento das junções intestinais por meio da regulação positiva da proteína zona ocludente-1 (ZO-1) (PLOGER et al., 2012; ZHOU et al., 2017; DAI et al., 2020). O ácido butírico também é conhecido por apresentar efeito anti-inflamatório, assim como o açaí (MISHIRO et al., 2013; DIAS et al., 2015). Embora não tenha sido observado efeito direto da polpa de açaí na concentração hepática de TNF nos animais, ao realizar uma análise de correlação entre a concentração de ácido butírico e TNF no grupo HFA da geração F1 foi visto uma associação inversa muito forte. Isto sugere que o consumo de polpa de açaí poderia estar protegendo a prole de um estado pró-inflamatório causado pela DHGNA pelo aumento na concentração desse AGCC.

Observamos efeito da amamentação sobre os resultados obtidos na geração F1. A literatura é bem consistente em mostrar os efeitos benéficos do leite materno sobre a DHGNA que poderiam ser mediados em parte pela programação de uma composição mais saudável do microbioma intestinal, induzida por componentes deste alimento (SÁNCHEZ et al., 2021). PRENTICE et al. (2019) demonstraram que o ácido butírico derivado do leite materno contribui para a regulação da adiposidade e do metabolismo do bebê, promovendo o desenvolvimento de um peso saudável no início da vida (PRENTICE et al., 2019).

Estudos avaliando a suplementação com polpa de açaí na dieta materna hiperlipídica modificando a concentração de AGCC ainda são escassos e, até onde sabemos, este é o primeiro estudo a verificar o efeito da dieta materna suplementada com açaí na modulação dos ácidos acético, butírico e propiônico. Portanto, ainda faltam dados na literatura que permitam confrontar nossa hipótese e discuti-la com outros trabalhos. Nesta temática, o único estudo que se tem é um ensaio *in vitro* de simulação da digestão intestinal do açaí realizado por ALQURASHI et al. (2017). Os autores demonstraram que os polifenóis presentes neste fruto não são totalmente degradados durante o processo de digestão e que uma porcentagem

desses componentes atinge o cólon e junto com as fibras alimentares influenciam na produção fecal dos AGCC, acético, butírico e propiônico, e na mudança dos gêneros de grupos bacterianos, com redução de *Bacteroides-Prevotella* spp. e *Clostridium-histoliticum*.

Nossos resultados sugerem um papel positivo do açaí na dieta materna hiperlipídica para conferir respostas relacionadas às mudanças na concentração dos AGCC na mãe e suas proles. Dados publicados anteriormente pelo nosso grupo de pesquisa mostram que nesse modelo experimental a prole e a mãe são protegidas do desenvolvimento e progressão da DHGNA pelo consumo de polpa de açaí por seu efeito no metabolismo de lipídeos, através da expressão e ativação da proteína 1 de ligação ao elemento regulador de esterol (SREBP1) e enzimas-chave da biossíntese de lipídeos, como ácido graxo sintase (FAS) e também, por exercer importante efeito antioxidante no fígado (BARBOSA, 2019; BARBOSA et al., 2021). O presente estudo sugere que, complementarmente aos efeitos demonstrados anteriormente, a mudança na concentração dos AGCC que ocorre pelo consumo de polpa de açaí, também possa estar protegendo a mãe e prole de um menor acúmulo de lipídeos e conseqüentemente progressão da DHGNA. Contribuindo para demonstrar que o *hit* inicial para o acúmulo de gordura no fígado possa estar ocorrendo ainda no útero associado a uma dieta materna hiperlipídica.

Cabe ressaltar uma limitação importante dos resultados obtidos que é a não utilização na dieta materna dos compostos bioativos do açaí de forma isolada, mas a sua polpa comercial como um alimento que apresenta em sua composição outros compostos químicos que podem alterar a relação do eixo intestino-fígado e então afetar o metabolismo lipídico hepático através da regulação de outras vias metabólicas. Além disso, poucos estudos consideraram a possível atividade sinérgica de fibras e polifenóis, ambos presentes na polpa de açaí (MANSOORIAN et al., 2019). Sendo assim, não é possível distinguir se as mudanças na produção de AGCC são efeitos de fibras ou polifenóis, ou provavelmente poderiam ser uma combinação de ambos.

## 7 CONCLUSÃO

Em síntese, o presente estudo mostrou que a na geração G0, quando o animal do grupo hiperlipídico recebe a suplementação com a polpa de açaí, apresenta uma menor concentração de ácido acético e ácido propiônico. Já na geração F1, quando o animal hiperlipídico recebe a suplementação com a polpa de açaí, apresenta uma concentração menor de ácido propiônico e maior de ácido butírico.

Esses resultados complementam os efeitos benéficos que foram vistos anteriormente, quando o açaí foi suplementado na dieta hiperlipídica na mãe e prole e apresentou melhora no metabolismo lipídico e oxidativo. Aqui mostramos que uma outra possível via seria através da modulação da concentração de AGCC no intestino. Nossos achados podem ser úteis para ajudar na melhor compreensão do efeito de alimentos ricos em compostos bioativos sobre o trato intestinal em um modelo de DHGNA induzida por dieta materna hiperlipídica. Entretanto, mais estudos de intervenção dietética são necessários para explicar o papel do eixo intestino-fígado no desenvolvimento da DHGNA induzida por nutrientes e comprovar que o consumo de açaí é benéfico para a saúde intestinal e indicado como estratégia terapêutica para a prevenção da DHGNA.

Sugere-se que o papel do açaí na modulação da permeabilidade intestinal e também na sinalização de vias inflamatórias relacionadas ao eixo intestino-fígado possa ser o objetivo de estudos posteriores para melhor compreender os efeitos do açaí na dieta materna e seus descendentes.



## 8 BIBLIOGRAFIA

1. ADA, A. D. A. Position of the American Dietetic Association: health implications of dietary fiber. **J Am Diet Assoc.**, USA, v. 109, n. 2, p. 350, February 2009.
2. ADA, T. A. D. A. Position of the American Dietetic Association: Health Implications of Dietary Fiber. **Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics Home**, v. 108, n. 10, p. 1716–1731, October 2008.
3. ALQURASHI, R. et al. In vitro approaches to assess the effects of açai (Euterpe oleracea) digestion on polyphenol availability and the subsequent impact on the faecal microbiota. **Food Chemistry**, v. 234, n. 1, p. 190-198, November 2017.
4. ARAÚJO AR, ROSSO N, BEDOGNI G, TIRIBELLI C, BELLENTANI S. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease/non-alcoholic steatohepatitis: What we need in the future. **Liver Int.** 2018;38(Suppl 1):47-51. <http://doi.org/10.1111/liv.13643>
5. ARIZA-ANDRACA, R.; GARCÍA-RONQUILLO , M. El microbioma humano. Su papel en la salud y en algunas enfermedades. **Cirugía Y Cirujanos**, v. 84, n. 1, p. 31-35, 2016.
6. BARBOSA, P. O. et al. Açai (Euterpe oleracea Martius) supplementation in the diet during gestation and lactation attenuates liver steatosis in dams. **European Journal of Nutrition**, p. 1-14, July 2019. ISSN [doi.org/10.1007/s00394-019-02040-2](https://doi.org/10.1007/s00394-019-02040-2).
7. BARBOSA, PRISCILA OLIVEIRA. O consumo da polpa de açai (Euterpe Oleracea Martius) durante a gestação e lactação atenua a esteatose hepática em ratas e protege a prole contra o excesso de lipídeos. 2019. 158 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2019.
8. BARBOSA, P. O. et al. Açai (Euterpe oleracea Martius) supplementation improves oxidative stress biomarkers in liver tissue of dams fed a high-fat diet and increases antioxidant enzymes' gene expression in offspring, **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Volume 139, 2021, 111627, ISSN 0753-3322.
9. BARBOSA, Priscila Oliveira. A polpa de açai (Euterpe oleracea Mart.) melhora o estado oxidativo de mulheres saudáveis. 2015. 72 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) - Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2015.
10. BARCZYNSKA, R.; BANDURSKA, K.; SLIZEWSKA, K.; LITWIN, M. et al. Intestinal microbiota, obesity and prebiotics. **Polish Journal of Microbiology**, 64, n. 2, p. 93-100, 2015.
11. BARKER DJP. Fetal Origins of Coronary Heart Disease. **BMJ** 1995; 311(15): 171-74.
12. BERNAUD, F. S. R.; RODRIGUES, T. C. Fibra alimentar – Ingestão adequada e efeitos sobre a saúde do metabolismo. **Arq. Bras. Endocrinol Metab.** 2013; 57/6 397.
13. BEVINS, C. L.; SALZMAN, N. H. Paneth cells, antimicrobial peptides and

- maintenance of intestinal homeostasis. **Nature Reviews Microbiology**, v. 9, p. 356–368, March 2011.
14. BICHARA, C. M. G.; ROGEZ, H. (2011). Açai (*Euterpe oleracea* Martius). *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. E. M. Yahia, **Woodhead Publishing**: 1-27e
  15. BOETS, E.; GOMAND, S. V.; DEROOVER, L.; PRESTON, T. et al. Systemic availability and metabolism of colonic-derived short-chain fatty acids in healthy subjects: a stable isotope study. **J Physiol**, 595, n. 2, p. 541-555, 01 2017.
  16. BONNEMA, A. L. Gastrointestinal tolerance of chicory inulin products. **J Am Diet Assoc.**, v. 110, n. 6, p. 865-880, June 2010.
  17. BRASIL (2017). Censo Agropecuário. IBGE. Rio de Janeiro.
  18. BRUNT, E. M. (2010). "Pathology of nonalcoholic fatty liver disease." **Nat Rev Gastroenterology Hepatic** 7(4): 195-203.
  19. BURGUEÑO AL, CABRERIZO R, GONZALES MANSILLA N, SOOKOIAN S, PIROLA CJ (2013) Maternal high-fat intake during pregnancy programs metabolic-syndrome-related phenotypes through liver mitochondrial DNA copy number and transcriptional activity of liver PPARGC1A. **J Nutr Biochem** 24(1):6–13. <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2011.12.008>
  20. BURLAMAQUI, I. M. B.; DORNELAS, C. A.; VALENÇA, J. T.; MESQUITA, F. J. C. et al. **Gastroenterologia**. Experimental/experimental gastroenterology hepatic and biochemical repercussions of a polyunsaturated fat-rich hypercaloric and hyperlipidic diet in wistar rats. p. 153-153. 2011a.
  21. CAMPOS, C. B. D. S.; PALANCH, A. C. Maternal nutrition and fetal programming: The role of food in pre- and post-natal development. **SAÚDE REV**, Piracicaba, v. 17, n. 45, p. 49-59, January 2017
  22. CANFORA, E. E. et al. Gut microbial metabolites in obesity, NAFLD and T2DM. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, p. 261–273, 2019.
  23. CANI, P. D.; KNAUF, C. How gut microbes talk to organs: The role of endocrine and nervous routes. **Mol Metab**, 5, n. 9, p. 743-752, Sep 2016.
  24. CARDONA, F. et al. Benefits of polyphenols on gut microbiota and implications in human health. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 8, p. 1415-1422, August 2013.
  25. CARDOSO, A. R.; KAKIMOTO, P. A. H. B.; KOWALTOWSKI, A. J. Diet-Sensitive Sources of Reactive Oxygen Species in Liver Mitochondria: Role of Very Long Chain Acyl-CoA Dehydrogenases. **PLoS ONE**, 8, n. 10, p. 77088-77088, 2013.
  26. CARVALHO, C. J. R.; ROMBOLD, J.; NEPSTAD, D. C.; SÁ, T. D. A. (1998). "Relações Hídricas Do Açazeiro Em Mata De Várzea Do Estuário Do Amazonas." **Rev. Bras Fisiol Veg** 10: 213-218.
  27. CARVALHO, M. M. D. F. et al. Effects of açai on oxidative stress, ER stress, and inflammation-related parameters in mice with high fat diet-fed induced NAFLD. **Sci Rep**, v. 9, may 2019. ISSN doi: 10.1038/s41598-019-44563-y.
  28. CATALANO, P. M.; SHANKAR, K. Obesity and pregnancy: mechanisms of short term and long-term adverse consequences for mother and child. **BMJ**, 356, p. j1, Feb 2017.

29. CATALKAYA G. et al.; Interaction of dietary polyphenols and gut microbiota: Microbial metabolism of polyphenols, influence on the gut microbiota, and implications on host health. **Food Frontiers**. 22 June 2020. <https://doi.org/10.1002/fft2.25>.
30. CCFNSDU, C. A. Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses. **Düsseldorf ALINORM 10/33/26**, Germana, November 2009.
31. CHAMBERS ES, VIARDOT A, PSICHAS A, et al. Effects of targeted delivery of propionate to the human colon on appetite regulation, body weight maintenance and adiposity in overweight adults. **Gut**. 2015;**64**:1744-1754.
32. CHASSAING B, KOREN O, GOODRICH JK, et al. Dietary emulsifiers impact the mouse gut microbiota promoting colitis and metabolic syndrome [published correction appears in **Nature**. 2015, Aug 11;536(7615):238]. **Nature**. 2015;519(7541):92-96. doi:10.1038/nature14232
33. COHEN, J. C.; HORTON, J. D.; HOBBS, H. H. (2011). "Human fatty liver disease: old questions and new insights." **Science** **332**(6037): 1519-1523.
34. ČOLAK E, PAP D. The role of oxidative stress in the development of obesity and obesity-related metabolic disorders. **J Med Biochem**. 2021;40(1):1-9. doi:10.5937/jomb0-24652.
35. COLLAZO C. R; RODRÍGUEZ Y. H.; CAMPOVERDE D. A. Lactancia materna, programación metabólica y su relación con enfermedades crónicas. **Salud Uninorte**. Barranquilla (Col.) 2018; 34 (1): 126-143.
36. CORRÊA, T. A. F.; ROGERO, M. M.; HASSIMOTTO, N. M. A.; LAJOLO, F. M. The Two-Way Polyphenols-Microbiota Interactions and Their Effects on Obesity and Related Metabolic Diseases. **Front Nutr**, 6, p. 188, 2019.
37. D'ARCHIVIO, M. et al. Bioavailability of the Polyphenols: Status and Controversies. **Int J Mol Sci**, v. 11, n. 4, p. 1321–1342, March 2010.
38. DAHL, W. J.; AGRO, N. C.; ELIASSON, Å. M.; MIALKI, K. L. et al. Health Benefits of Fiber Fermentation. **Journal of the American College of Nutrition**, 36, n. 2, p. 127-136, 2017.
39. DAI XIN, HOU HUIQIN, ZHANG WANRU, LIU TIANYU, LI YUN, WANG SINAN, WANG BANGMAO, CAO HAILONG. Microbial Metabolites: Critical Regulators in NAFLD. **Frontiers in Microbiology**. Vol 11. 2020, pag 2373. DOI=10.3389/fmicb.2020.567654. ISSN=1664-302X .
40. DAY, C. P.; JAMES, O. F. W. (1998). "Steatohepatitis: A tale of two "hits"?" **Gastroenterology** 114(4): 842-845.
41. DEL POZO-INSFRAN D, BRENES CH, TALCOTT ST. Phytochemical composition and pigment stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **J Agric Food Chem**. 2004;52(6):1539–1545. Doi: 10.1021/jf035189n
42. DESAI, M.; JELLYMAN, J. K.; ROSS, M. G. Epigenomics, gestational programming and risk of metabolic syndrome. **International Journal of Obesity**, 39, p. 633-641, 2015a.
43. DIAS, M. M. et al. Pro-apoptotic activities of polyphenolics from açai (*Euterpe oleracea* Martius) in human SW-480 colon cancer cells. **Nutr Cancer**., v. 66, n. 8, p. 1394-1405, 2014.
44. DORSTEN, F. A. V. et al. The metabolic fate of red wine and grape juice polyphenols in humans assessed by metabolomics. **Mol Nutr Food Res**., v. 54, n. 7, p. 897-908, 2010.
45. ENDO, H.; NIIOKA, M.; KOBAYASHI, N.; TANAKA, M. et al. Butyrate-

- Producing Probiotics Reduce Nonalcoholic Fatty Liver Disease Progression in Rats: New Insight into the Probiotics for the Gut-Liver Axis. **Food Chem.** 2013a.
46. ERK, T.; HAUSER, J.; WILLIAMSON, G. Structure- and dose-absorption relationships of coffee polyphenols. **Bio Factors**, v. 40, n. 1, p. 103–112, 2014. ISSN doi: 10.1002/biof.1101.
  47. FINELLI, C.; TARANTINO, G. **Notice of retraction: Nonalcoholic fatty liver disease, diet and gut microbiota.** p. 461-490. 2017a.
  48. FURLAN, A. D. S.; RODRIGUES, L. Consumo de polifenóis e sua associação com conhecimento nutricional e atividade física. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, 22, n. 6, p. 461-464, 2016.
  49. GROBELNA, A. & KALISZ, S. e KIELISZEK, M. (2019). Effect of Processing Methods and Storage Time on the Content of Bioactive Compounds in Blue Honeysuckle Berry Purees. **Agronomy**. 9. 860. 10.3390/agronomy9120860.
  50. GUÉRIN-DEREMAUX, L. et al. fibra solúvel NUTRIOSE induz um impacto benéfico dependente da dose na saciedade ao longo do tempo. **Nutr Res.**, v. 31, n. 9, p. 665-672, September 2011. ISSN doi: 10.1016 / j.nutres.2011.09.004.
  51. GUERRA, J. F. C.; MACIEL, P. S.; ABREU, I. C. M. E.; PEREIRA, R. R.; SILVA, M.; CARDOSO, L. M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; LIMA, W. G.; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L. (2015). "Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice." **J Funct Foods** 14: 192-202.
  52. HEE, B. V.; WELLS, J.M. Microbial Regulation of Host Physiology by Short-chain Fatty Acids. *Trends in Microbiology*, Month 2021. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2021.02.001>.
  53. HENAGAN, T. M.; STEFANSKA, B.; FANG, Z.; NAVARD, A. M. et al. Themed Section: Epigenetics and Therapy Sodium butyrate epigenetically modulates high-fat diet-induced skeletal muscle mitochondrial adaptation, obesity and insulin resistance through nucleosome positioning CONCLUSIONS AND IMPLICATIONS LINKED ARTICLES. **2782 British Journal of Pharmacology**, 172, p. 2782-2798, 2015a.
  54. HOLSCHER, H. D. Dietary fiber and prebiotics and the gastrointestinal microbiota. **Gut Microbes**, v. 8, n. 2, p. 172-184, 2017.
  55. HOLSCHER, H. D. et al. Agave Inulin Supplementation Affects the Fecal Microbiota of Healthy Adults Participating in a Randomized, Double Blind, Placebo-Controlled, and Crossover Trial. **The Journal of Nutrition**, v. 145, n. 9, p. 2025-2032, September 2015.
  56. HOPPING, B. N. et al. Dietary Fiber, Magnesium, and Glycemic Load Alter Risk of Type 2 Diabetes in a Multiethnic Cohort in Hawaii. **J Nutr.** v. 140, n. 1, p. 68-74, January 2010.
  57. HU, Y. et al. The Bidirectional Interactions between Resveratrol and Gut Microbiota: An Insight into Oxidative Stress and Inflammatory Bowel Disease Therapy. **Biomed Res Int.**, v. 2019, April 2019. ISSN doi: 10.1155/2019/5403761.
  58. IBGE, S. I. D. R. A. Produção da Extração Vegetal e da Silvicultura,

- Disponível em: <https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pevs/quadros/brasil/2018>, Acessado em 06 de novembro de 2019 2019.
59. JI, Y. J.; LI, H.; XIE, P. F.; LI, Z. H. et al. Stages of pregnancy and weaning influence the gut microbiota diversity and function in sows. **J Appl Microbiol**, 127, n. 3, p. 867-879, Sep 2019.
  60. JI, YUN et al. "The Molecular and Mechanistic Insights Based on Gut-Liver Axis: Nutritional Target for Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Improvement." **International journal of molecular sciences** vol. 21,9 3066. 26 Apr. 2020, doi:10.3390/ijms21093066.
  61. JIMÉNEZ-CHILLARÓN JC, DÍAZ R, MARTÍNEZ D, PENTINAT T, RAMÓN-KRAUEL M, RIBÓ S, PLÖSCH T. The role of nutrition on epigenetic modifications and their implications on health. **Biochimie**. 2012 Nov;94(11):2242-63. doi: 10.1016/j.biochi.2012.06.012. Epub 2012 Jul 5. PMID: 22771843.
  62. KIM, H.; VENANCIO, V. P.; FANG, C.; DUPONT, A. W. et al. Mango (*Mangifera indica* L.) polyphenols reduce IL-8, GRO, and GM-SCF plasma levels and increase *Lactobacillus* species in a pilot study in patients with inflammatory bowel disease. **ScienceDirect**. 2020.
  63. KOH, A.; DE VADDER, F.; KOVATCHEVA-DATCHARY, P.; BACKHED, F. (2016). "From Dietary Fiber to Host Physiology: Short-Chain Fatty Acids as Key Bacterial Metabolites." **Cell** 165(6): 1332-1345.
  64. KWON EJ, KIM YJ. What is fetal programming?: a lifetime health is under the control of in utero health. **Obstet Gynecol Sci**. 2017;60(6):506-519. doi:10.5468/ogs.2017.60.6.506
  65. LANDETE, J. M. Ellagitannins, ellagic acid and their derived metabolites: A review about source, metabolism, functions and health. **Food Research International**, v. 44, n. 5, p. 1150-1160, June 2011.
  66. LERNER, A.; NEIDHÖFER, S.; MATTHIAS, T. The Gut Microbiome Feels of the Brain: A Perspective for Non-Microbiologists. **Microorganisms**, 5, n. 4, Oct 2017.
  67. LEWANDOWSKA, U. et al. Overview of Metabolism and Bioavailability Enhancement of Polyphenols. **J. Agric. Food Chem**, v. 61, n. 50, p. 12183-12199, December 2013. ISSN doi.org/10.1021/jf404439b.
  68. LIN, H. V.; FRASSETTO, A.; KOWALIK, E. J.; NAWROCKI, A. R. et al. Butyrate and propionate protect against diet-induced obesity and regulate gut hormones via free fatty acid receptor 3-independent mechanisms. **PLoS One**, 7, n. 4, p. e35240, 2012.
  69. LIU, J. L.; SEGOVIA, I.; YUAN, X. L.; GAO, Z. H. Controversial Roles of Gut Microbiota-Derived Short-Chain Fatty Acids (SCFAs) on Pancreatic  $\beta$ -Cell Growth and Insulin Secretion. **Int J Mol Sci**, 21, n. 3, Jan 2020.
  70. LOBATO, J. C. P. et al. Fetal programming and metabolic abnormalities: design of a case-control study. **REV BRAS EPIDEMIOL**, v. 19, n. 1, p. 52-62, January 2016.
  71. LOVEREN, H. V.; SANZ, S. S. Y. Health claims in Europe: probiotics and prebiotics as case examples. **Annu Rev Food Sci Technol**, v. 3, p. 247-261, January 2012.
  72. MAGALHÃES, T. A. F. M.; SOUZA, M. O. D.; GOMES, S. V.; MENDES E SILVA, R. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Martius) Promotes Jejunal Tissue Regeneration by Enhancing Antioxidant Response in 5-Fluorouracil-Induced

- Mucositis. **Nutrition and Cancer**, 0, n. 0, p. 1-11, 2020.
73. MANSOORIAN, B.; COMBET, E.; ALKHALDY, A.; GARCIA, A. L. et al. Impact of Fermentable Fibres on the Colonic Microbiota Metabolism of Dietary Polyphenols Rutin and Quercetin.
  74. MARCHESI, J. R.; ADAMS, D. H.; FAVA, F.; HERMES, G. D. et al. The gut microbiota and host health: a new clinical frontier. **Gut**, 65, n. 2, p. 330-339, Feb 2016.
  75. MARCINIAK, A. et al. Fetal programming of the metabolic syndrome. **Taiwanese Journal of Obstetrics and Gynecology**, v. 56, n. 2, p. 133-138, April 2017.
  76. MARÍN, L. et al. Bioavailability of Dietary Polyphenols and Gut Microbiota Metabolism: Antimicrobial Properties. **Biomed Res Int.**, February 2015. ISSN doi: 10.1155/2015/905215.
  77. MARTINEZ, R. M. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) Seed Extract Induces Cell Cycle Arrest and Apoptosis in Human Lung Carcinoma Cells. **Foods**, v. 7, n. 11, p. 178, November 2018.
  78. MARTINO, H. S. D.; DIAS, M. M. D. S.; NORATTO, G.; TALCOTT, S. et al. Anti-lipidaemic and anti-inflammatory effect of açai (*Euterpe oleracea* Martius) polyphenols on 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Functional Foods**, 23, p. 432-443, 2016.
  79. MARTINOT, Jan Feldmann; PEREIRA, Henrique dos Santos; SILVA, Suzy Cristina Pedrosa da. Coletar ou Cultivar: as escolhas dos produtores de açai-da-mata (*Euterpe precatoria*) do Amazonas. **Rev. Econ. Sociol. Rural**, Brasília, v. 55, n. 4, p. 751-766, Dec. 2017. Available from <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0103-20032017000400751&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-20032017000400751&lng=en&nrm=iso)>. Access on 20 Feb. 2020. <https://doi.org/10.1590/1234-56781806-94790550408>.
  80. MAYA-LUCAS, O. et al. The gut microbiome of Mexican children affected by obesity. **Anaerobe**, v. 55, p. 11-23, February 2019.
  81. MCCURDY, C. E.; BISHOP, J. M.; WILLIAMS, S. M.; GRAYSON, B. E. et al. Maternal high-fat diet triggers lipotoxicity in the fetal livers of nonhuman primates. **J Clin Invest**, 119, n. 2, p. 323-335, Feb 2009.
  82. MISHIRO, T.; KUSUNOKI, R.; OTANI, A.; ANSARY, M. M. U. et al. Butyric acid attenuates intestinal inflammation in murine DSS-induced colitis model via milk fat globule-EGF factor 8. **Laboratory Investigation**, 93, n. 7, p. 834-843, 2013.
  83. MOURA, R. D.; RESENDE, Cardiovascular and Metabolic Effects of Açai, an Amazon Plant. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v. 68, n. 1, p. 19-26, July 2016.
  84. MOURA, R. S. et al. Effects of *Euterpe oleracea* Mart. (AÇAÍ) extract in acute lung inflammation induced by cigarette smoke in the mouse Effects of *Euterpe oleracea* Mart. (AÇAÍ) extract in acute lung inflammation induced by cigarette smoke in the mouse. **Phytomedicine**, v. 19, n. 2, p. 262-269, February 2012.
  85. MUSSO, G.; GAMBINO, R.; CASSADER, M. Gut microbiota as a regulator of energy homeostasis and ectopic fat deposition: mechanisms and implications for metabolic disorders. **Curr Opin Lipidol**, v. 21, n. 1, p. 76-83, February 2010. ISSN doi: 10.1097/MOL.0b013e3283347ebb.

86. NUNES. V. S. ANDRADE, L.V., GUEDES. M.A. DINIZ. Distinct phenotype of non-alcoholic fatty liver disease in patients with low levels of free copper and of ceruloplasmin. *Arq. Gastroenterol.* 57 (03) Jul-Sep 2020. <https://doi.org/10.1590/S0004-2803.202000000-47>.
87. PALA, D. et al. Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) dietary intake affects plasma lipids, apolipoproteins, cholesteryl ester transfer to high-density lipoprotein and redox metabolism: A prospective study in women. **Clinical Nutrition**, v. 37, n. 2, p. 618-623, April 2018.
88. PANDEY, K. B.; RIZVI, S. I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. **Oxid Med Cell Longev.** v. 2, n. 5, p. 270-27, November 2009.
89. PARADA VENEGAS, D.; DE LA FUENTE, M. K.; LANDSKRON, G.; GONZÁLEZ, M. J. et al. Corrigendum: Short Chain Fatty Acids (SCFAs)-Mediated Gut Epithelial and Immune Regulation and Its Relevance for Inflammatory Bowel Diseases. **Front Immunol**, 10, p. 1486, 2019 2019a.
90. PARKAR, S. G.; TROWER, T. M.; STEVENSON, D. E. Fecal microbial metabolism of polyphenols and its effects on human gut microbiota. **Anaerobe**, 23, n. August, p. 12-19, 2013.
91. PERDOMO, C. M.; FRÜHBECK, G.; ESCALADA, J. Impact of Nutritional Changes on Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Nutrients**, 11, n. 3, Mar 2019.
92. PEREIRA, R. R. et al. Açai (*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, p. 1-13, 2016.
93. PETTA S, GASTALDELLI A, REBELOS E, BUGIANESI E, MESSA P, MIELE L et al. Pathophysiology of non alcoholic fatty liver disease. **Int J Mol Sci** 2016;17(12):2082.
94. PLÖGER S, STUMPF F, PENNER GB, SCHULZKE JD, GÄBEL G, MARTENS H, SHEN Z, GÜNZEL D, ASCHENBACH JR. Microbial butyrate and its role for barrier function in the gastrointestinal tract. **Ann N Y Acad Sci.** 2012 Jul;1258:52-9. doi: 10.1111/j.1749-6632.2012.06553.x. PMID: 22731715.
95. POZO-INSFRAN, D. D.; BRENES, C. H.; TALCOTT, S. T. Phytochemical Composition and Pigment Stability of Açai (*Euterpe oleracea* Mart.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 6, p. 1539-1545, February 2004.
96. PRENTICE PHILIPPA M, MARIEKE H SCHOEMAKER, JACQUES VERVOORT, KASPER HETTINGA, TIM T LAMBERS, ERIC A F VAN TOL, CARLO L ACERINI, LAURENTYA OLGA, CLIVE J PETRY, IEUAN A HUGHES, ALBERT KOULMAN, KEN K ONG, DAVID B DUNGER, Human Milk Short-Chain Fatty Acid Composition is Associated with Adiposity Outcomes in Infants, **The Journal of Nutrition**, Volume 149, Issue 5, May 2019, Pages 716–722, <https://doi.org/10.1093/jn/nxy320>.
97. RAU, M. et al. Progression from nonalcoholic fatty liver to nonalcoholic steatohepatitis is marked by a higher frequency of Th17 cells in the liver and an increased Th17/resting regulatory T cell ratio in peripheral blood and in the liver. **J. Immunol.** 196, 97–105 (2016).
98. REEVES PG, NIELSEN FH, FAHEY GC 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.** 1993 Nov; 123(11):1939-51. doi: 10.1093/jn/123.11.1939. PMID: 8229312.
99. RENDÓN-HUERTA, J. A. et al. Effects of different sources of fructans on body weight, blood metabolites and fecal bacteria in normal and obese non-diabetic and diabetic rats. **Plant Foods Hum Nutr.** v. 67, n. 1, p. 64-70, March 2012. ISSN doi: 10.1007/s11130-011-0266-9.
  100. ROGEZ, H. (2000). Açai: Preparo, Composição e Melhoramento da Conservação. Belém, Brasil, EDUFPA.
  101. SACCONNAY, L.; CARRUPT, P. A.; NURISSO, A. (2016). "Human sirtuins: Structures and flexibility." **J Struct Biol** 196(3): 534-542.
  102. SALDANHA, S. N.; KALA, R.; TOLLEFSBOL, T. O. Molecular mechanisms for inhibition of colon cancer cells by combined epigenetic-modulating epigallocatechin gallate and sodium butyrate. **Exp Cell Res**, 35294, n. 1, p. 40-53, 2014a.
  103. SÁNCHEZ C, FRANCO L, REGAL P, LAMAS A, CEPEDA A, FENTE C. Breast Milk: A Source of Functional Compounds with Potential Application in Nutrition and Therapy. **Nutrients.** 2021; 13(3):1026. <https://doi.org/10.3390/nu13031026>
  104. SANWONG, D. Y. et al. Açai (Euterpe oleraceae Mart.) berry extract exerts neuroprotective effects against  $\beta$ -amyloid exposure in vitro. **Neuroscience Letters**, v. 556, n. 27, p. 221-226, November 2013.
  105. SALONEN A., LAHTI L., SALOJARVI J., HOLTROP G., KORPELA K., DUNCAN SH, et al. (2014). Impacto da dieta e variação individual na composição da microbiota intestinal e produtos de fermentação em homens obesos. **ISME J.** 8, 2218–2230. 10.1038 / ismej.2014.63.
  106. SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; HUANG, D.; OWENS, J.; AGARWAL, A.; JENSEN, G. S.; HART, A. N.; SHANBROM, E. (2006a). "Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, Euterpe oleraceae mart. (acai)." **J Agric Food Chem** 54(22): 8604-8610.
  107. SCHAUSS, A. G.; WU, X.; PRIOR, R. L.; OU, B.; PATEL, D.; HUANG, D.; KABABICK, J. P. (2006b). "Phytochemical and nutrient composition of the freeze-dried amazonian palm berry, Euterpe oleraceae mart. (acai)." **J Agric Food Chem** 54(22): 8598-8603.
  108. SHILDRICK, M. (2000). "Maternal Imagination: Reconceiving First Impressions." **de** 4(3): 243-260.
  109. SELMA, M. V.; ESPÍN, J. C.; TOMÁS-BARBERÁN, F. A. Interaction between Phenolics and Gut Microbiota: Role in Human Health. **J. Agric. Food Chem**, v. 57, n. 15, p. 6485-6501, July 2009.
  110. SERINO, M. et al. Metabolic adaptation to a high-fat diet is associated with a change in the gut microbiota. **BMJ Journals**, v. 61, n. 4, p. 543-553. 2012.
  111. SEYFERTH, D.; YICK-PUI MUI, J.; TODD, L. J.; DARRAGH, K. V. Halomethyl-metal compounds VIII. The reaction of phenyl(trihalomethyl)mercury compounds with hydrogen chloride. **Journal of Organometallic Chemistry**, 8, n. 1, p. 29-36, 1967.
  112. SILVA, D. G. D.; BRITO, J. D. S.; RODRIGUES, B. F. B.; AFONSO,



- D. M. et al. Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica: Atualização Sobre a Fisiopatologia. **Brasília Médica**, 52, n. 3-4, p. 108-115, 2015.
113. SILVA, RENATA REBECA PEREIRA e. Efeito protetor do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) na doença hepática gordurosa não alcoólica mediado pelo aumento dos níveis de paraoxonase-1 e redução da oxidação de LDL em ratos. 2017. 119 f. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas) - Núcleo de Pesquisas em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Ouro Preto, Ouro Preto, 2017.
  114. SILVA, C. T. et al. Clustered cardiovascular risk factors are associated with inflammatory markers in adolescents. *Annals of Nutrition and Metabolism*, v. 70, p. 259-267, 2017. Disponível em: <<https://www.karger.com/Article/FullText/458767>>. Acesso em: 29 ago. 2017.
  115. SIREROL, J. A. et al. Role of Natural Stilbenes in the Prevention of Cancer. **Oxid Med Cell Longev**. December 2016. ISSN doi: 10.1155/2016/3128951.
  116. N, J. Fiber and Prebiotics: Mechanisms and Health Benefits. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1417-1435, April 2013.
  117. SOUZA, M. O. D. 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, p. 804-810, July 2010.
  118. SOUZA, M. O. et al. The hypocholesterolemia activity of açaí (*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. 13, p. 976-984, December 2012.
  119. SUBEDI, L. et al. Equol, a Dietary Daidzein Gut Metabolite Attenuates Microglial Activation and Potentiates Neuroprotection in Vitro. **Nutrients**, v. nine, n. 3, p. 207, March 2017.
  120. SUN, M.; WU, W.; LIU, Z.; CONG, Y. Microbiota metabolite short chain fatty acids, GPCR, and inflammatory bowel diseases. **Journal of Gastroenterology**, 52, n. 1, p. 1-8, 2017.
  121. SUTER, M. A.; CHEN, A.; BURDINE, M. S.; CHOUDHURY, M. et al. A maternal high-fat diet modulates fetal SIRT1 histone and protein deacetylase activity in nonhuman primates. **FASEB J**, 26, n. 12, p. 5106-5114, Dec 2012.
  122. TELES, R. B. D. A. et al. Flavonoids as Therapeutic Agents in Alzheimer's and Parkinson's Diseases: A Systematic Review of Preclinical Evidences. **Oxid Med Cell Longev**. May 2018. ISSN doi: 10.1155/2018/7043213.
  123. TORII, T.; KANEMITSU, K.; WADA, T.; ITOH, S. et al. Measurement of short-chain fatty acids in human faeces using high-performance liquid chromatography: specimen stability. **Ann Clin Biochem**, 47, n. Pt 5, p. 447-452, Sep 2010.
  124. TSUNEDA, P. P. et al. EFFECTS OF MATERNAL NUTRITION ON DEVELOPMENT AND REPRODUCTIVE PERFORMANCE OF RUMINANTS OFFSPRING, **Investigation**, v. 16, n. 1, p. 56-61, 2017.
  125. WALKER, A. W. et al. Dominant and diet-responsive groups of bacteria within the human colonic microbiota. **ISME J.**, v. 5, n. 2, p. 220-230,

February 2011.

126. WANG, L.; LU, Z.; ZHOU, X.; DING, Y. et al. Effects of intrahepatic cholestasis of pregnancy on hepatic function, changes of inflammatory cytokines and fetal outcomes. **Exp Ther Med**, 17, n. 4, p. 2979-2984, Apr 2019.
127. WANG, L.; LU, Z.; ZHOU, X.; DING, Y. et al. Effects of intrahepatic cholestasis of pregnancy on hepatic function, changes of inflammatory cytokines and fetal outcomes. **Exp Ther Med**, 17, n. 4, p. 2979-2984, Apr 2019.
128. WATERLAND, R. A.; JIRTLE, R. L. Early nutrition, epigenetic changes at transposons and imprinted genes, and enhanced susceptibility to adult chronic diseases. **Nutrition**, 20, n. 1, p. 63-68, Jan 2004.
129. XIE, C.; HALEGOUA-DEMARZIO, D. Role of Probiotics in Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Does Gut Microbiota Matter? 2019.
130. YAMAGUCHI, K. K.; PEREIRA, L. F.; LAMARAO, C. V.; LIMA, E. S.; DA VEIGAJUNIOR, V. F. (2015). "Amazon acai: chemistry and biological activities: a review." **Food Chem** 179: 137-151
131. YOUNOSSI, Z. M. et al. Global epidemiology of nonalcoholic fatty liver disease—Meta-analytic assessment of prevalence, incidence, and outcomes. **Steatohepatitis/Metabolic Liver Disease**, v. 64, n. 1, p. 73-84, July 2016.
132. YU, EL, GOLSHAN, S., HARLOW, KE, ANGELES, JE, DURELLE, J., GOYAL, NP, NEWTON, KP, SAWH, MC, HOOKER, J., SY, EZ, MIDDLETON, MS, SIRLIN, CB , E SCHWIMMER, JB (2019). Prevalência de doença hepática gordurosa não-alcoólica em crianças com obesidade. **The Journal of pediatrics** , 207 , 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.jpeds.2018.11.021>
133. YUAN, T. et al. Pomegranate's Neuroprotective Effects against Alzheimer's Disease Are Mediated by Urolithins, Its Ellagitannin-Gut Microbial Derived Metabolites. **ACS Chem. Neurosci.**, v. 7, n. 1, p. 26-33, November 2016.
134. ZHOU, D.; CHEN, Y. W.; ZHAO, Z. H.; YANG, R. X. et al. Sodium butyrate reduces high-fat diet-induced non-alcoholic steatohepatitis through upregulation of hepatic GLP-1R expression. **Experimental and Molecular Medicine**, 50, n. 12, p. 1-12, 2017.
135. ZHOU D, FAN JG. Microbial metabolites in non-alcoholic fatty liver disease. **World J Gastroenterol**. 2019;25(17):2019-28. DOI: 10.3748/wjg.v25.i17.2019.
136. ZHUANG, L.; CHEN, H.; ZHANG, S.; ZHUANG, J. et al. Intestinal Microbiota in Early Life and Its Implications on Childhood Health. **Genomics Proteomics Bioinformatics**, 17, n. 1, p. 13-25, 02 2019.

## ANEXO I



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@ouroo.ufop.br](mailto:ceua@ouroo.ufop.br)



## CERTIFICADO

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

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

Restrição de dieta: ( ) sim ( X ) não

Especificar:

**Este Certificado expira em: 30/03/2019.**

Ouro Preto, 29 de fevereiro de 2016.

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

## ANEXO II



Ministério do Meio Ambiente  
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

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

Comprovante de Cadastro de Acesso  
Cadastro nº A30E10C

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

Número do cadastro: **A30E10C**  
 Usuário: **UFOP**  
 CPF/CNPJ: **23.070.659/0001-10**  
 Objeto do Acesso: **Patrimônio Genético**  
 Finalidade do Acesso: **Pesquisa**

**Espécie**

**Euterpe oleracea**

Título da Atividade: **Efeito do consumo de polpa de açaí (Euterpe oleracea Martius) sobre a programação metabólica da doença hepática gordurosa não alcoólica**

**Equipe**

<b>Melina oliveira</b>	<b>UFOP</b>
<b>Priscila Oliveira Barbosa</b>	<b>UFOP</b>
<b>Renata Nascimento de Freitas</b>	<b>UFOP</b>
<b>Marcelo Eustáquio Silva</b>	<b>UFOP</b>
<b>Maraísa Porfíria de Souza e Silva</b>	<b>UFOP</b>
<b>Deuziane Pereira Domingos de Paiva</b>	<b>UFOP</b>

**Parceiras no Exterior**

**Robert Gordon University**

Data do Cadastro: **26/10/2018 16:21:28**  
 Situação do Cadastro: **Concluído**



Conselho de Gestão do Patrimônio Genético  
 Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em **21:48 de 30/04/2019**.



SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO  
 DO PATRIMÔNIO GENÉTICO  
 E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL  
 ASSOCIADO - **SISGEN**

