

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM SAÚDE E DESENVOLVIMENTO NA
REGIÃO CENTRO-OESTE**

AMARILES DINIZ RAMIRES

**SUPLEMENTAÇÃO DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DA CASCA DE *CAMPOMANESIA*
ADAMANTIUM (GUAVIRA) SOBRE O PERFIL
METABÓLICO E INFLAMATÓRIO EM
CAMUNDONGOS SWISS**

CAMPO GRANDE

2020

AMARILES DINIZ RAMIRES

**SUPLEMENTAÇÃO DO EXTRATO
HIDROETANÓLICO DA CASCA DE *CAMPOMANESIA*
ADAMANTIUM (GUAVIRA) SOBRE O PERFIL
METABÓLICO E INFLAMATÓRIO EM
CAMUNDONGOS SWISS**

Tese de doutorado ao Programa de Pós-Graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, área de concentração Metabolismo e Nutrição, para apreciação na defesa de tese na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS).

Orientadora: Prof. Dra. Andréia C. M. Brochado Antonioli.

Co-orientadora: Prof. Dra. Elisvânia Freitas dos Santos.

CAMPO GRANDE

2020

AMARILES DINIZ RAMIRES

Suplementação do extrato hidroetanólico da casca de *Campomanésia Adamantium* (guavira) sobre o perfil metabólico e inflamatório em camundongos Swiss

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste, área de concentração Metabolismo e Nutrição, para apreciação na defesa de tese na Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS)

Resultado: _____

Campo Grande (MS), ____ de _____ de 2020

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a D.^{ra} Andreia Conceição Milan Brochado Antonioli da Silva – UFMS

Prof.^a D.^{ra} Debora Marchetti Chaves Thomaz - UFMS

Prof.^a D.^{ra} Rita de Cassia Avellaneda Guimarães – UFMS

Prof.^o D.^{ro} Wilson de Barros Cantero – UFMS

Prof.^a D.^{ra} Leda de Araujo Bento – UNIDERP

Dedico aos meus filhos, Damaris e Daniel, meu orgulho, que sempre foram minha maior motivação em todas as buscas e conquistas. E meu esposo, Lauri, com você ao meu lado, aprendi que as inquietações da alma nos fazem crescer. Sem vocês nada disso faria sentido. Obrigada por tanto.

AGRADECIMENTOS

A Profa. Dra. **Andréia C. M. Brochado Antonioli Silva**, minha orientadora, pela confiança que me foi depositada, que esteve ao meu lado, sempre disposta a ajudar-me a percorrer o caminho do aprendizado e do conhecimento, de uma forma amigável e compreensiva, meu muito obrigado.

A Profa. Dra. **Elisvânia Freitas dos Santos**, que aceitou coorientar-me e me ajudou no esclarecimento de inúmeras dúvidas, com a dedicação de seu tempo comigo, sempre de uma forma gentil e atenciosa, meu muito obrigado.

A minha amiga **Cacilda Rocha Hildebrand**, nossa parceria mostrou-me que juntos vamos muito mais longe, tive o prazer de compartilhar com você o valor do trabalho em equipe, dividindo as apreensões das buscas e as alegrias dos resultados, encontrando desta forma a motivação de seguir em frente, meu carinho em forma de um muito obrigada.

Ao meu esposo, **Lauri Luiz Kener**, por compartilhar comigo os meus sonhos, compreendendo e incentivando todas as minhas buscas, essa conquista também é sua.

Aos meus filhos, **Damaris** e **Daniel**, foi olhando para vocês, que compreendi o amor em toda a sua plenitude e busquei sempre ser melhor, obrigada por isso.

A toda equipe do **Inbio/UFMS Laboratório de Imunologia e Análises clínicas da UFMS**, pelas dosagens e operacionalização dos exames.

A todos os funcionários do **Biotério da UFMS**, pelo zelo com que resguardaram os experimentos, tornando possíveis as atividades ali realizadas.

Ao **Programa de Pós-graduação em Saúde e Desenvolvimento na Região Centro-Oeste da UFMS**, possibilitando a realização deste projeto.

“... a aproximação do que quer que seja, se faz gradualmente e penosamente – atravessando inclusive o oposto daquilo que se vai aproximar.”

Clarice Lispector (1920 - 1977)

RESUMO

Introdução: O fruto *Campomanesia adamantium* (guavira) pertence ao bioma Cerrado e apresenta alto valor nutritivo, com compostos fenólicos e grande atividade antioxidante, sendo que o fruto é uma ótima opção natural no controle de comorbidades metabólicas relacionadas a processos inflamatórios. Apesar de seu potencial, não existem estudos que tenham avaliado essa ação com a casca da guavira. **Objetivo:** Avaliar o efeito da suplementação do extrato hidroetanólico da casca de *C. adamantium* (ExCa), sobre o perfil metabólico e inflamatório em camundongos Swiss. **Metodologia:** As cascas de guavira foram utilizadas para o preparo do extrato hidroetanólico (30:70 v/v) que foi caracterizado quanto à atividade antioxidante *in vitro* pelo método DPPH e utilizado para suplementação no experimento animal. Para o experimento, todos os animais receberam dieta com concentração de 65% de amido e maior concentração de lipídeos em relação à dieta padrão. Os 24 animais foram distribuídos em três grupos: Controle (água); ExCa 250mg/Kg; e ExCa 500mg/Kg. O experimento teve duração de 16 semanas e a suplementação do extrato foi realizada por gavagem nas últimas 4 semanas. Foram avaliados o ganho de peso corporal e a ingestão alimentar dos animais, e após eutanásia realizou-se coleta de sangue para as seguintes análises: insulina, Proteína C Reativa (PCR), glicose, ureia, creatinina, triglicerídeos e as citocinas inflamatórias IL-6, IL-10, IL-12, TNF, IFN- γ e MCP-1. Além disso, coletou-se o fígado e rins para análise histológica. **Resultados:** Dentre os resultados foi possível identificar que o ExCa apresentou potencial antioxidante, com IC₅₀ de 980 μ g/mL e elevado teor de compostos fenólicos e taninos. Apenas o extrato da casca de guavira na dosagem de 500 mg/kg reduziu o ganho de peso corporal, níveis de glicemia, triglicerídeos, colesterol total e a esteatose hepática induzida pela ração controle. Entretanto, essa mesma dosagem induziu processo inflamatório no rim e fígado dos animais. O ExCa não alterou a produção das citocinas inflamatórias. **Conclusão:** O extrato hidroetanólico da casca de guavira tem potencial para ser utilizado futuramente como estratégia nutricional para o tratamento de doenças crônicas como a síndrome metabólica.

Palavras-chave: *Campomanesia adamantium*. Obesidade. Inflamação.

ABSTRACT

Introduction: The fruit *Campomanesia adamantium* (guavira) belongs to the Cerrado biome and presents high nutritional value, with phenolic compounds and high antioxidant activity, being that the fruit is a great natural option in the control of metabolic comorbidities related to inflammatory processes and oxidative stress. Despite its potential, there are no studies that have evaluated this action with the peel of guavira. **Objective:** To evaluate the effect of *C. adamantium* peel extract (ExCa) supplementation on metabolic and inflammatory profile in Swiss mice. **Methodology:** The guavira peel was used for the preparation of the hydroethanolic extract (30:70), which was characterized for the antioxidant activity *in vitro* by the DPPH method and used for supplementation in the animal experiment. For the experiment, all animals received a diet with a concentration of 65% starch and higher concentration of lipids compared to the standard diet. The 24 animals were divided into three groups: Control (water); ExCa 250mg/kg; and ExCa 500mg/kg. The experiment lasted 16 weeks and supplementation of the extract was performed by gavage in the last 4 weeks. Data were collected on body weight and dietary intake of animals, and after euthanasia blood samples were collected for the following analyzes: insulin, C-reactive protein (CRP), glucose, urea, creatinine, triglycerides and the inflammatory cytokines IL-6, IL-10, IL-12, TNF, IFN- γ e MCP-1. In addition, the liver and kidneys were collected for histological analysis. **Results:** Among the results, it was possible to identify that ExCa presented antioxidant potential, with IC₅₀ of 980 μ g/mL and high content of phenolic compounds and tannins. Only the extract of the guavira peel at the dose of 500 mg/kg reduced the body weight, blood glucose, triglycerides, total cholesterol and hepatic steatosis induced by the control diet. However, this same dosage induced an inflammatory process in the kidney and liver of the animals. The O ExCa did not alter the production of the inflammatory cytokines. **Conclusion:** The guavira peel extract has the potential to be used in the future as a nutritional strategy for the treatment of chronic diseases such as the metabolic syndrome.

Keywords: *Campomanesia adamantium*. Antioxidant action. Inflammation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.	Porcentagem de indivíduos com sobrepeso ou obeso no mundo em 2016.	21
Figura 2.	Inflamação crônica subclínica e suas implicações em indivíduos obesos.	25
Figura 3.	Correlação entre a síndrome metabólica e comorbidades.	27
Figura 4.	Fruto da <i>Campomanesia adamantium</i> .	33
Figura 5.	Delineamento experimental.	38
Figura 6.	Ganho de peso dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta experimental e 4 semanas de suplementação com extrato de casca de <i>Campomanesia adamantium</i> (ExCa; 250 mg e 500 mg/kg de peso).	45
Figura 7.	Análise histológica dos focos inflamatórios no rim dos animais. A) Controle; B) ExCa 250 e C) ExCa 500. Processo inflamatório mononuclear (seta preta), hemácias congestionadas (*), deposição proteinácea (#). 200x. Hematoxilina-Eosina.	50
Figura 8.	Análise histológica dos focos inflamatórios no rim dos animais. ExCa - extrato de <i>C. adamantium</i> . Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. $^{**}p < 0,001$, em comparação ao grupo controle.	50
Figura 9.	Análise histológica dos focos inflamatórios no fígado dos animais. ExCa - extrato de <i>C. adamantium</i> . Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. $^{***}p < 0,001$, em comparação ao grupo controle, $^{###}p < 0,001$, em comparação ao grupo ExCa 250 mg/Kg.	51
Figura 10.	Análise histológica dos focos inflamatórios no fígado dos animais: A) Controle; B) ExCa 250 e C) ExCa 500. Processo inflamatório mononuclear (seta preta), hemácias congestionadas (*), deposição proteinácea (#), esteatose (círculo). 200x. Hematoxilina-Eosina.	52
Figura 11.	Análise histológica do grau de esteatose no fígado dos animais. ExCa - extrato de <i>C. adamantium</i> . Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=7). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. $^{***}p < 0,001$, em comparação ao grupo controle, $^{###}p < 0,001$, em comparação ao grupo ExCa 250 mg/Kg.	53
Figura 12.	Análise histológica do grau de esteatose no fígado dos animais A) Controle, B)	

- ExCa 250 e C) ExCa 500. Deposição aumentada de triglicerídeos nas células parenquimatosas do fígado (setas). 200x. HE. 54
- Figura 13.** Análise histológica dos pontos de fibrose no fígado dos animais. ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=7). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. * $p < 0,05$, em comparação ao grupo controle. 55
- Figura 14.** Análise histológica dos pontos de fibrose no fígado dos animais. A) Controle, B) ExCa 250 e C) ExCa 500. Pontos de fibrose (seta preta). 200x. Tricrômio de Masson. 55
- Figura 15.** Dosagem de citocinas inflamatórias por meio da citometria de fluxo. A) IL-6, B) IL-10, C) IL-12, D) TNF, E) IFN- γ , F) MCP-1. 57
- Figura 16.** Capacidade de inibição do radical estável DPPH em relação à concentração do extrato de cascas de guavira utilizados. 59

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	Composição em macronutrientes da dieta padrão Nuvital® AIN-93M e da dieta experimental da <i>American Institute of Nutrition</i> RH19521B.	39
Tabela 2.	Calibração de ácido gálico para estabelecimento de reta do teor fenólico.	43
Tabela 3.	Calibração da curva padrão para taninos totais através de solução padrão contendo 10 mg de ácido tânico com um balão de 100 mL com água destilada (0,1 mg/mL).	44
Tabela 4.	Análise dos dados de peso inicial e final dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta experimental e 4 semanas de suplementação com extrato de casca de <i>Campomanesia adamantium</i> (250 mg e 500 mg/kg de peso).	45
Tabela 5.	Parâmetros bioquímicos de glicemia, triglicerídeos e colesterol total séricos dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta experimental e 4 semanas de suplementação com extrato de casca de <i>Campomanesia adamantium</i> (250 mg e 500 mg/kg de peso).	46
Tabela 6.	Concentração sérica de ureia, creatinina, ácido úrico, proteína C-Reativa (PCR) e insulina dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta controle e 4 semanas de suplementação com extrato de casca de <i>Campomanesia adamantium</i> (250 mg e 500 mg/kg de peso).	47

LISTA DE APÊNDICES

Apêndice A Artigo publicado

76

LISTA DE ANEXOS

Anexo A	Ficha técnica da dieta RH19521B da empresa RHOSTER®	82
Anexo B	Composição centesimal da dieta RH19521B da empresa RHOSTER®	83
Anexo C	CEUA	84

LISTA DE ABREVIATURAS

μM	Micromolar
A	Absorbância
ABTS	2,2' azobis (2-metilpropionamida)
AGL	Ácidos graxos livres
AGRAER	Agência de Desenvolvimento Agrário e Extensão Rural
AGNE	Ácidos graxos não esterificados
AP-1	Proteína ativadora-1
ARP	Poder antirradical
BHT	Butilhidroxitolueno
CAT	Catalase
COX	Ciclo-oxigenase
CXCR4	CXC receptor de quimiocina 4
DC	Doenças cardiovasculares
DCNT	Doenças crônicas não-transmissíveis
DHGNA	Doenças hepáticas gordurosa não alcoólica
DM2	Diabetes tipo 2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-picrilhidrazil
e^-	Elétron
EA	Extrato aquoso
EAE	Extrato de acetato de etila
EHE	Extrato hidroetanólico
EM	Extrato metanólico
Elisa	<i>Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay</i>
ERN	Espécies reativas de nitrogênio
ERO	Espécies reativas de oxigênio
ExCa	Extrato da casca de <i>C. adamantium</i>
FRAP	Poder Antioxidante de Redução de Ferro
GSH	Glutathione
GPx	Glutathione peroxidase
H^+	Íon hidrogênio

H ₂ O	Água
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HE	Hematoxilina-Eosina
HIF-1 α	Fator indutível por hipóxia-1 α
HMGR	3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA redutase
GK	Glicerol-quinase
GAE	Equivalentes de ácido gálico
GOD	Glicose oxidase
GPO	Glicerolfosfato oxidase
IFN- γ	Interferon gama
IG	Índice glicêmico
IL	Interleucina
InBio	Instituto de Biociências
iNOS	Óxido nítrico sintase indutível
JNK	Quinase c-Jun N-terminal
LNP	Lesão do nervo poupado
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
M	Molar
MCP-1	Proteína quimiotática de monócitos-1
NaCO ₃	Carbonato de sódio
NF- κ B	Fator nuclear kappa B
Nrf2	Fator nuclear relacionado ao fator 2 do eritróide-2
OEC	Óleos essenciais das cascas
OES	Óleos essenciais das sementes
OMS	Organização Mundial da Saúde
ON	Óxido nítrico
ORAC	Capacidade Absorbante de Radical Oxigênio
PAI-1	Inibidor do ativador de plasminogênio 1
PCR	Proteína C reativa
PKC	Proteína C-quinase
POD	Peroxidase
RI	Resistência à insulina
SDH	Suplementos dietéticos e herbais

SM	Síndrome metabólica
SOD	Superóxido dismutase
STAT3	Transdutor de sinal e ativador de transcrição 3
TAB	Tecido adiposo branco
TAG	Triacilgliceróis
TAE	Equivalentes de ácido tânico
TGF- β	Fator transformador de crescimento β
TM	Tricromio de Masson
TNF	Fator de necrose tumoral
UFMS	Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
UTASP-UFMS	Unidade de Tecnologia de Alimentos
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
VLDL	Lipoproteína de densidade muito baixa

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	19
2 REVISÃO DE LITERATURA.....	21
2.1 Dietas ricas em carboidratos e gordura.....	21
2.2 Estresse oxidativo e inflamação.....	23
2.3 Inflamação crônica subclínica e produção de citocinas	26
2.4 Antioxidantes	29
2.5 Plantas medicinais	30
2.6 Plantas medicinais da família Myrtaceae.....	31
2.7 <i>Campomanesia adamantium</i> (guavira).....	32
3 OBJETIVOS	36
3.1. Objetivo Geral	36
3.2. Objetivos Específicos.....	36
4 METODOLOGIA.....	37
4.1 Amostra	37
4.2 Procedimentos.....	38
4.2.1 Extrato.....	38
4.2.2 Dieta Experimental.....	38
4.2.3. Avaliação do ganho de peso e consumo de dieta.....	39
4.2.4 Eutanásia	39

4.2.5 Análises	40
4.2.5.1 Determinação de Colesterol Total.....	40
4.2.5.2 Determinação de Triglicerídeos e Glicose	40
4.2.5.3 Determinação de ureia	41
4.2.5.4 Determinação de creatinina	41
4.2.5.5 Determinação de citocinas inflamatórias e proteína C-reativa	41
4.2.5.6 Avaliação histopatológica.....	41
4.3 Atividade antioxidante	42
4.3.1 Método DPPH.....	42
4.3.2 Determinação de fenois totais e taninos totais	43
4.3.2.1 Fenois totais.....	43
4.3.2.2 Taninos totais	44
4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	45
6 CONCLUSÃO.....	61
REFERÊNCIAS	62

1 INTRODUÇÃO

O consumo excessivo de ácidos graxos saturados, carboidratos e menor ingestão de fibras, em conjunto com um estilo de vida sedentário são fatores que promovem a obesidade (KOLB; MANDRUP-POULSEN, 2010) e alterações metabólicas associadas, como dislipidemia, hipertensão arterial, disglucemias (resistência à insulina – RI e glicação) e obesidade central (KAUR, 2014). Além disso, a obesidade é um dos principais fatores de risco para desenvolvimento do diabetes tipo 2 (DM2) e doenças cardiovasculares (DC) (ASTRUP et al., 2008; JAMES, 2008).

Associado a estes, está o aumento da liberação de radicais livres, que precisam ser eliminados pela ação de compostos conhecidos como antioxidantes. Quando há um desequilíbrio entre os radicais livres e sua eliminação pelos antioxidantes, ocorre o estresse oxidativo que leva a danos para importantes biomoléculas e células, podendo impactar todo o organismo (ĎURAČKOVÁ, 2010).

O estresse oxidativo está diretamente ligado à inflamação, que está presente como uma inflamação crônica subclínica. O processo inflamatório na obesidade é caracterizado por elevadas concentrações dos níveis de ácidos graxos séricos, repercutindo na maior infiltração de macrófagos no tecido adiposo branco (TAB) e menor sensibilidade à insulina (FRESNO; ALVAREZ; CUESTA, 2011). E, especialmente com dietas ricas em carboidratos refinados, são observados danos teciduais, especialmente no tecido adiposo, cardíaco e hepático, com maior expressão de citocinas pró-inflamatórias, além do aumento de gordura visceral (HIDEBRAND et al., 2017).

Com o intuito de prevenir ou tratar esse processo inflamatório, há crescente busca por tratamentos à base de plantas medicinais e medicamentos fitoterápicos. Neste contexto, da biodiversidade da flora brasileira, tem-se destacado o uso de plantas frutíferas nativas da região do Cerrado, com potencial na sustentabilidade econômico-social, para a população local, como a *Campomanesia adamantium* (guavira), do bioma do Cerrado. Esta planta tem frutos nutritivos, popularmente conhecido como gabioba, gabioba-do-mato, que crescem em pequenos arbustos apresentando características peculiares, com cores brilhantes que podem variar do verde para o amarelo, com um forte aroma cítrico e gosto azedo (ALMEIDA et al., 2011).

Os frutos são explorados de diversas maneiras, como com a venda do produto *in natura*, e da manufatura de produtos derivados, como geleia, sucos e sorvetes (VALLILO et

al., 2006). Da mesma forma, partes comumente descartadas na produção agrícola e no consumo do fruto, como cascas, folhas e sementes possuem potencial nutracêutico, sendo fontes de compostos naturais como carotenoides, fenóis, vitaminas e fitosteróis, com efeitos benéficos à saúde (DURANTE et al., 2017; LENUCCI et al., 2015), sendo um nicho de exploração econômica.

A utilização dos frutos têm sido associado com a redução do risco de obesidade e das doenças associadas a este estado (CZEMPLIK et al., 2017; DONADO-PESTANA; BELCHIOR; GENOVESE, 2015; DONADO-PESTANA et al., 2018b); portanto, a criação de tratamentos decorrentes do consumo de componentes bioativos alimentares tem emergido como uma opção no tratamento destas patologias (LEE et al., 2017).

Na maioria das vezes, as sementes e casca dos frutos são descartados, sendo considerados resíduos. Entretanto, as propriedades farmacológicas que são observados nos frutos podem também estar presente nesses resíduos, sendo utilizado na indústria farmacêutica (MENDONÇA et al., 2006). Um dos exemplos de fruto do Cerrado que, parte de seus resíduos são utilizados, é a jaboticaba. A casca desse fruto é utilizada para o preparo de geleias (DESSIMONI-PINTO et al., 2011) e estudos indicaram que ela tem potencial antioxidante, antimutagênico e antiobesogênico (LEITE-LEGATTI et al., 2012; BATISTA et al., 2018).

Considerando que a dieta ocidental do século XXI consiste no consumo exacerbado de carboidratos, principalmente o amido, além de alimentos gordurosos (VORSTER; NELL, 2001) e que o Cerrado tem uma grande diversidade de plantas com potencial para a prevenção e tratamento da obesidade e comorbidades metabólicas (DONADO-PESTANA; BELCHIOR; GENOVESE, 2015), este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da suplementação do extrato hidroetanólico da casca de *C. adamantium* sobre o perfil metabólico e inflamatório em modelo de inflamação crônica subclínica induzido por uma dieta com maior teor de lipídeos e rica em amido.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Dietas ricas em carboidratos e gordura

De acordo com a Organização Mundial da Saúde, em 2016 quase 2 bilhões de adultos foram considerados com sobrepeso e destes, 650 milhões estão obesos (WHO, 2020) (Figura 1). As causas da obesidade podem ser variadas, incluindo fatores genéticos (MARQUES-LOPES et al., 2004), entretanto a principal causa ainda é o consumo excessivo de calorias associado ao baixo gasto dessa energia consumida (WHO, 2020). O maior consumo de calorias é devido a maior oferta de alimentos ricos em lipídios e carboidratos (BUCKLEY, 2018), característica presente em dietas tipicamente ocidentais que incluem o alto consumo de gorduras saturadas, elevada ingestão de alimentos com alta densidade energética pela presença de carboidratos refinados, como o xarope de milho rico em frutose (JURDAK; LICHTENSTEIN; KANAREK, 2008; MYERS; ALLEN, 2012).

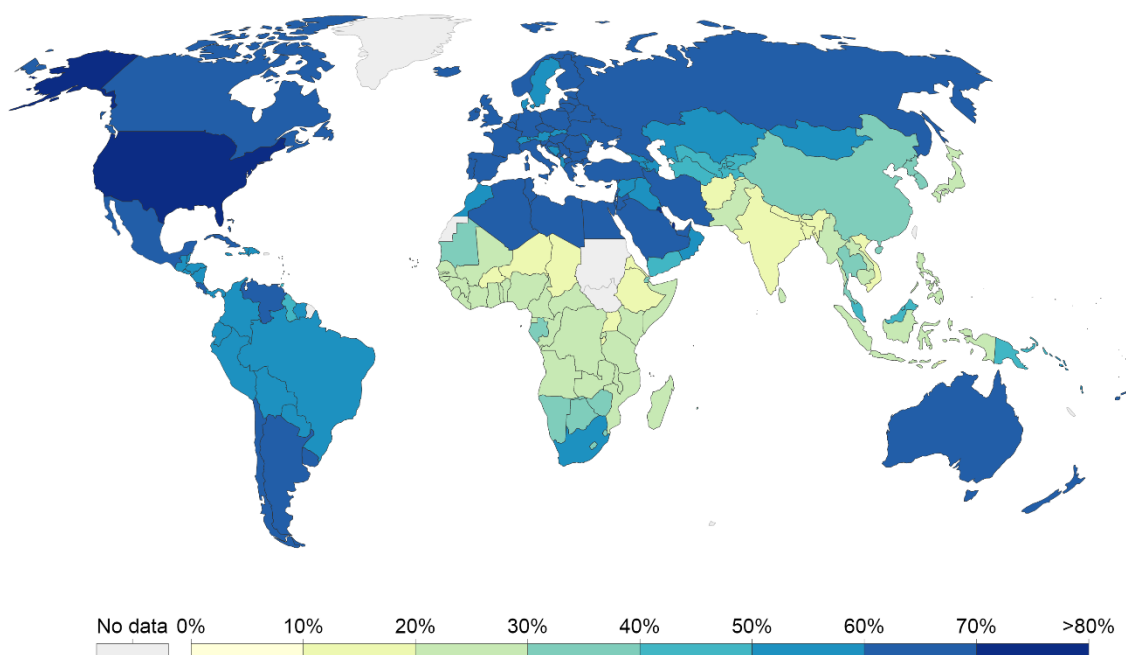


Figura 1. Porcentagem de indivíduos com sobrepeso ou obeso no mundo em 2016. Fonte: WHO (2016).

Afim de correlacionar o observado na população e o tipo de dieta utilizada, estudos científicos utilizam modelos animais para induzir a obesidade e comorbidades associadas utilizando dietas com carboidratos refinados, como a frutose e sacarose (MARTIN et al., 2011). Em estudo experimental com dietas ricas em carboidratos, especialmente amido, os animais apresentaram aumento na fadiga e baixa energia, juntamente ao aparecimento de

distúrbios metabólicos, como aumento da adiposidade visceral e dos triglicerídeos e redução dos níveis de HDL-C (FENG et al., 2015).

Ainda, a compilação de estudos experimentais envolvendo roedores em um artigo de revisão, mostrou que a intervenção com diferentes dietas ricas em lipídios ou carboidratos resultou em efeitos deletérios ao metabolismo. Os principais resultados encontrados nos estudos experimentais apresentam danos teciduais, especialmente tecido adiposo, cardíaco e hepático, com maior expressão de citocinas pró-inflamatórias, além do aumento de gordura visceral, e maiores respostas glicêmicas, especialmente com dietas ricas em carboidratos refinados (HIDEBRAND et al., 2017).

O consumo de dietas ricas em carboidratos refinados ou em gorduras podem levar a comorbidades, como resistência insulínica e intolerância à glicose. Outros problemas também são relacionados a dietas hiperlipídicas, que costumam apresentar pelo menos 35% do valor calórico total de lipídios, especialmente na forma de triacilgliceróis (TAG). Estes TAG após passarem pela hidrólise, terão seus ácidos graxos utilizados de acordo com a demanda metabólica pelos músculos, ou serão reesterificados e armazenados no tecido adiposo (LACERDA; BOCK; FUNCHAL, 2015).

Além do armazenamento no tecido adiposo, os ácidos graxos oriundos de uma dieta hiperlipídica podem ser depositados no fígado, coração, sistema nervoso, pâncreas e endotélio, dentre outros, prejudicando a funcionalidade desses órgãos, podendo gerar lipotoxicidade e lipoapoptose em decorrência do acúmulo de metabólitos tóxicos, como diacilgliceróis e ceramidas no meio intracelular (LACERDA; BOCK; FUNCHAL, 2015).

Nos últimos anos um dos grandes enfoques tem sido o debate sobre ingestão de carboidratos e sua qualidade, especialmente nas DC e DM2 (SIRI-TARINO et al., 2010; VON-RUESTEN et al., 2013). A ingestão de dietas hiperglicídicas também promove mudanças hormonais, especialmente com alimentos de alto índice glicêmico (IG) como elevação da glicemia e hiperinsulinemia pós-prandiais, os quais facilitam o rápido armazenamento de substratos energéticos no tecido adiposo, e ainda repercutem no estímulo da fome e hiperfagia (BRAND-MILLER et al., 2002).

A rápida absorção de glicose após o consumo de dietas com alto IG estimula várias alterações hormonais e metabólicas que podem promover o consumo excessivo de alimentos, contribuindo com o progresso da obesidade (POLACOW; JUNIOR; H, 2007), sendo que isso já havia sido comprovado no século XX por Ludwig et al. (1999), em que os autores observaram que adolescentes obesos do sexo masculino que faziam refeições com alto IG

ingeriam cerca de 50% mais alimentos de forma voluntária do que os que consumiam dietas com baixo IG (LUDWIG et al., 1999).

Em contrapartida, benefícios são observados com a maior ingestão de carboidratos de baixo IG, como ricos em grãos ou fibras, que além de sua menor resposta glicêmica, promoveria melhor densidade nutricional, visto que os alimentos fontes de fibras também apresentam bom conteúdo de micronutrientes e compostos bioativos (SÁNCHEZ-TAINTA et al., 2016).

Visando o controle dos danos promovidos pela obesidade recomenda-se uma alimentação saudável e equilibrada, com o aumento do consumo de grãos, cereais sem açúcar, fibra e vegetais (YUMUK et al., 2015). Sendo interessante, portanto, o estímulo ao consumo de frutas e outros vegetais especialmente pela rica composição de antioxidantes, pois dietas ricas em frutas e vegetais são relacionadas à minimização do estresse oxidativo, regulando a produção das espécies reativas de oxigênio (EROs), por meio da alteração no balanço entre atividades celulares oxidativas e defesas antioxidantes (RAHAL et al., 2014).

2.2 Estresse oxidativo e inflamação

Em sistemas biológicos, radicais livres como EROs são parte do metabolismo celular normal, participando de processos vitais em plantas e animais, como sinalização celular, em resposta a condições ambientais (QUIJANO et al., 2016), podendo ser potencialmente prejudiciais à diversas biomoléculas quando em desequilíbrio (GUTTERIDGE; HALLIWELL, 2010; VASKO et al., 2013).

A maior parte das EROs é formada nas células no processo de cadeia respiratória mitocondrial (POYTON; BALL; CASTELLO, 2009). Durante reações metabólicas endógenas, células aeróbicas produzem ERO como oxigênio singleto, peróxido de hidrogênio, superóxido, radical hidroxila, entre outras (OZCAN; OGUN, 2015; REUTER et al., 2010). Em condições anaeróbias ou hipóxicas, a cadeia respiratória mitocondrial também produz óxido nítrico (ON), levando à produção de reativas de nitrogênio (ERN) (POYTON; BALL; CASTELLO, 2009); que por sua vez, pode desencadear a formação de outras espécies reativas - tais quais aldeídos, malonaldeídos e 4-hidroxinonenal – ao provocar peroxidação lipídica (DODSON; DARLEY-USMAR; ZHANG, 2013).

O estresse oxidativo é definido com o desequilíbrio entre os radicais livres e sua redução pelos antioxidantes. Este desequilíbrio leva a danos para importantes biomoléculas e

células, podendo impactar todo o organismo (ĎURAČKOVÁ, 2010). O excesso de radicais livres é considerado um estímulo inflamatório, induzindo a síntese e liberação de citocinas inflamatórias (HUSSAIN et al., 2016).

O processo inflamatório é um mecanismo de defesa, tendo várias fontes que incluem infecções virais e microbianas (ZHANG; TSAO, 2016), exposição à alérgenos, radiação, produtos quimicamente tóxicos, doenças autoimunes e crônicas, obesidade, consumo de álcool, uso de tabaco e dieta de alta caloria (AGGARWAL; VIJAYALEKSHMI; SUNG, 2009; SCHETTER; HEEGAARD; HARRIS, 2009) ocorrendo naturalmente em processos fisiológicos. Entretanto, há dois estágios de inflamação: aguda e crônica.

A inflamação aguda é o estágio inicial da inflamação (imunidade inata), que é mediada através da ativação do sistema imune. Este tipo de inflamação persiste apenas por um curto período de tempo e geralmente é benéfica. Quando a inflamação dura mais tempo, se instala a inflamação crônica (LIN; KARIN, 2007). O estresse oxidativo está correlacionado com uma inflamação crônica persistente e com o surgimento de diversas doenças, incluindo doenças degenerativas e obesidade (DANDONA et al., 2005; SERHAN; CHIANG; DALLI, 2015).

O processo inflamatório persistente na obesidade é denominado inflamação crônica subclínica e durante esse evento os leucócitos são recrutados para o tecido adiposo, o que leva a um consumo elevado de oxigênio, gerando acúmulo ERO no local da inflamação (COUSSENS; WERB, 2002; SOMANI; HUSAIN; SCHLORFF, 2017). Esse processo leva a um ciclo vicioso, que pode ocasionar o dano de tecidos saudáveis adjacentes, e em um longo período de tempo, pode desencadear carcinogênese (FEDERICO et al., 2007; NOURSHARGH; ALON, 2014), conforme exemplificado na figura 2.

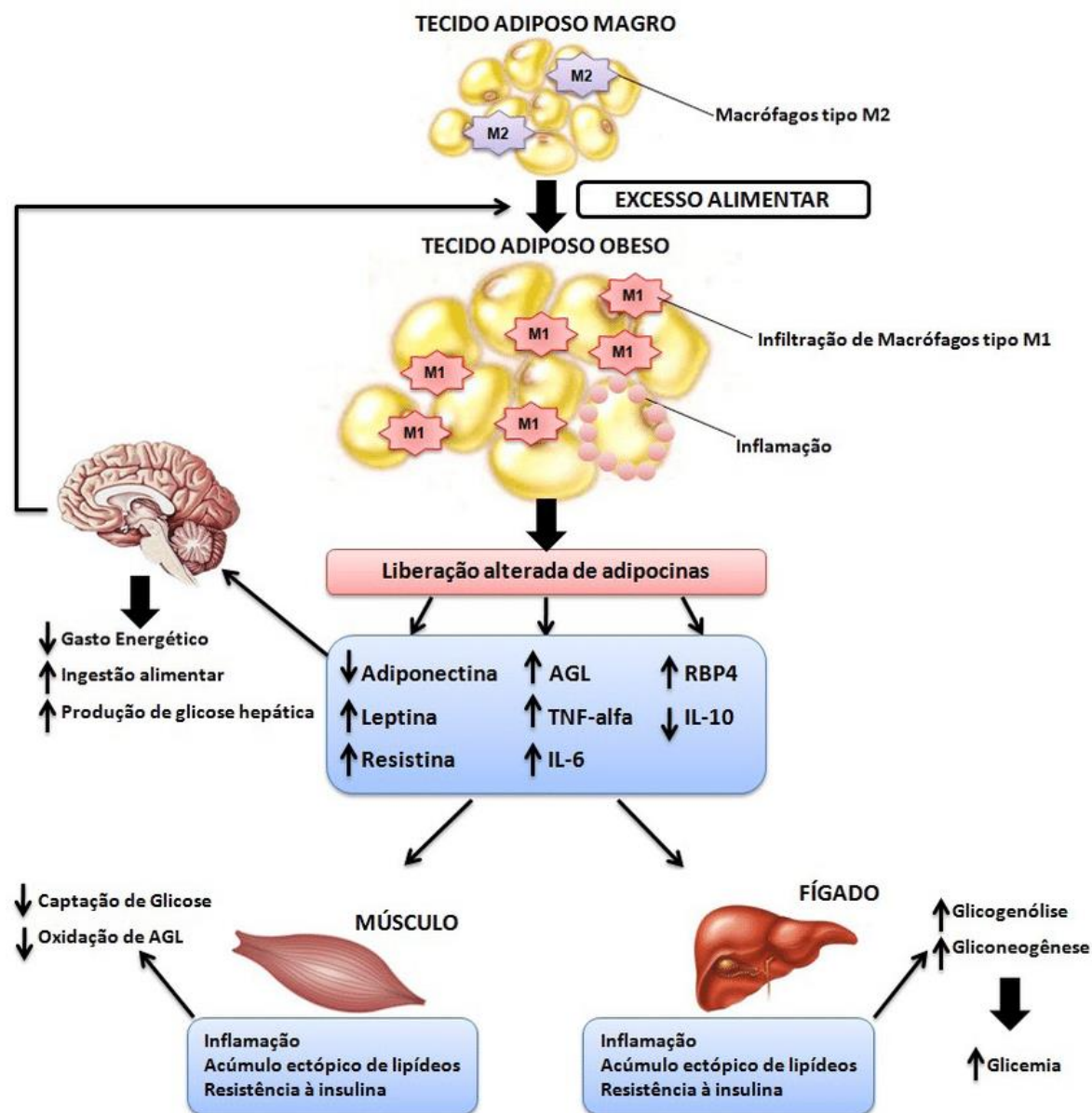


Figura 2. Inflamação crônica subclínica e suas implicações em indivíduos obesos. Adaptada de Speretta et al. (2014).

Por outro lado, as células inflamatórias também produzem mediadores solúveis, tais quais metabólitos do ácido araquidônico, citocinas e quimiocinas, que por sua vez, atuam recrutando maior número de células inflamatórias para o local, produzindo mais espécies reativas. Esses mediadores-chave podem ativar cascatas de transdução de sinal, bem como induzir mudanças nos fatores de transcrição, como fator nuclear kappa B (NF- κ B), transdutor de sinal e ativador de transcrição 3 (STAT3), fator indutível por hipóxia-1 α (HIF-1). α), proteína ativadora-1 (AP-1), fator nuclear de células T ativadas e fator nuclear relacionado ao fator 2 do eritróide-2 (Nrf2), que medeiam respostas de estresse celular imediatas. Indução de ciclo-oxigenase (COX) 2 e óxido nítrico sintase indutível (iNOS), expressão aberrante de

citocinas inflamatórias (fator de necrose tumoral (TNF), interleucina-1 (IL-1), IL-6 e quimiocinas (IL-8, CXC receptor de quimiocina 4 (CXCR4)), bem como alterações na expressão de microRNAs específicos também foram relatados para desempenhar um papel na inflamação induzida por estresse oxidativo (PERWEZ-HUSSAIN; HARRIS, 2007).

2.3 Inflamação crônica subclínica e produção de citocinas

O alto consumo de carboidratos por indivíduos obesos pode promover um aumento da lipogênese, propiciando o armazenamento dos triglicerídeos que irão influenciar no processo inflamatório (MASI et al., 2017). Esse processo inflamatório é caracterizado por elevadas concentrações dos níveis de ácidos graxos séricos, repercutindo na maior infiltração de macrófagos no TAB e menor sensibilidade à insulina (FRESNO; ALVAREZ; CUESTA, 2011). Além dos elevados níveis de ácidos graxos livres (AGL), ocorre o estímulo de proteínas quinases, como quinase c-Jun N-terminal (JNK), proteína C-quinase (PKC) e inibidor do NFκB, responsáveis por prejudicar a sensibilidade à insulina pelo aumento da fosforilação inibitória (ASGHAR; SHEIKH, 2017; PETERSEN; SHULMAN, 2006).

Os AGL no plasma são transportados pelo fígado na forma de lipoproteína de densidade muito baixa (VLDL), diminuindo os níveis de *lipoproteína de alta densidade* (HDL), reduzindo o transporte reverso do colesterol e aumentando os níveis de lipoproteína de baixa densidade (LDL)-oxidada e MCP-1 (proteína quimiotática de monócitos-1). Nas condições de RI, o efeito contra regulatório da insulina não ocorre, e a lipólise no tecido adiposo aumenta os níveis circulantes de ácidos graxos não esterificados (AGNE). Estes AGNE em conjunto às adipocinas pró-inflamatórias levam a danos no fígado pelo aumento da gliconeogênese, que previne o efeito inibitório da insulina e estimula lipogênese, podendo acarretar na esteatose não alcoólica, e ainda aumentar a produção e liberação de VLDL, podendo favorecer o processo de aterogênese (SILVA-FIGUEIREDO et al., 2018).

Além de atuar no recrutamento de macrófagos e insensibilidade à insulina, a obesidade altera a pressão arterial e desencadeia dislipidemia, estando diretamente relacionada com outras comorbidades como diabetes, doenças cardiovasculares, insuficiência renal e hepática. Ainda, os macrófagos liberam citocinas pró-inflamatórias que atuam na manutenção do processo inflamatório crônico de baixa intensidade (Figura 3).

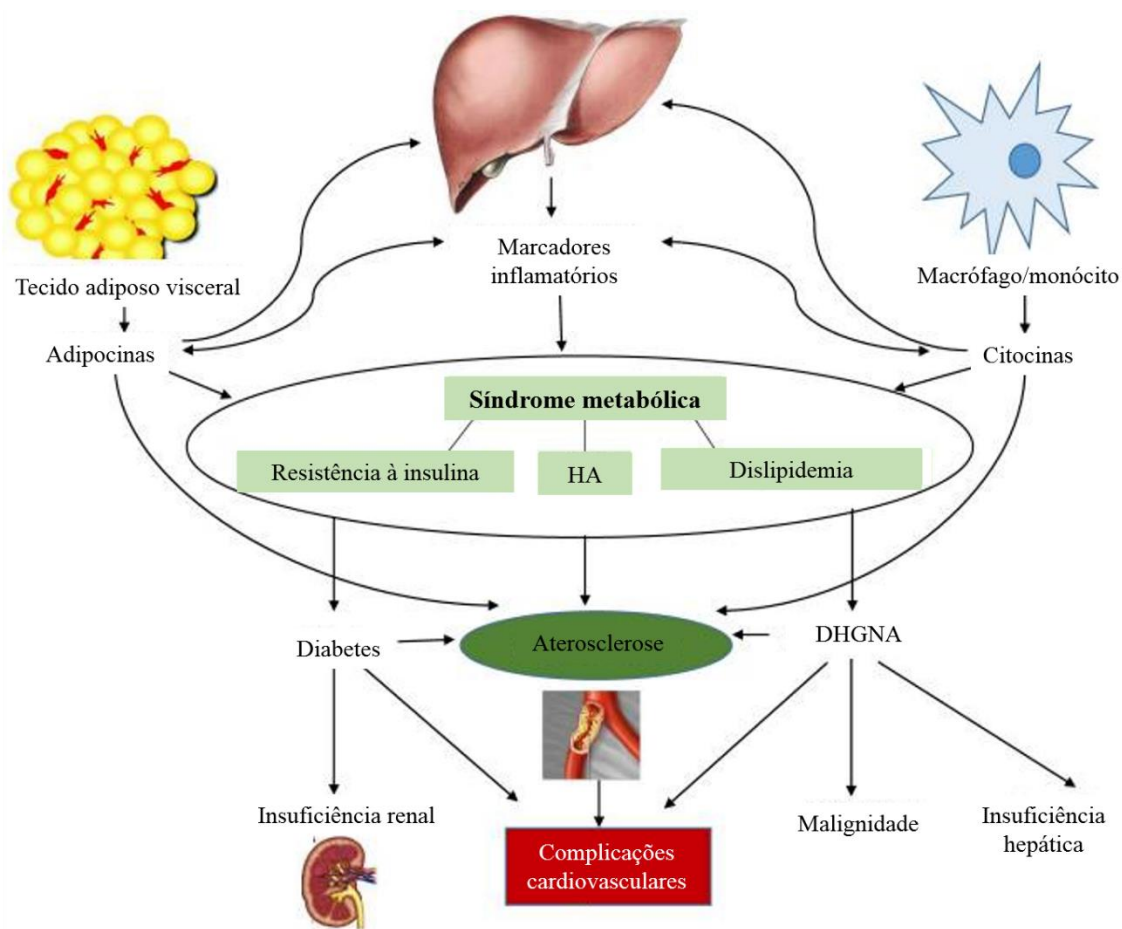


Figura 3. Correlação entre a síndrome metabólica e comorbidades. HA – hipertensão arterial, DHGNA - doença hepática gordurosa não alcoólica. Adaptado de Srikanthan et al. (2016).

Os macrófagos podem ser classificados em M1 e M2, tendo ações pró e anti-inflamatórias respectivamente (MOGHADDAM et al., 2018). No processo inflamatório crônico de baixa intensidade há predomínio de macrófagos do tipo M1 (ARON-WISNEWSKY et al., 2009), que secretam citocinas pró-inflamatórias como IL-1 e IL-6, e são polarizados na presença de citocinas como a TNF- α e interferon-gama (IFN- γ) (FENG et al., 2015; FLEMING et al., 2015; MOGHADDAM et al., 2018). Essa ação dos macrófagos M1 na obesidade foi confirmada pela análise do tecido adiposo de modelos animais e de pessoas obesas, que indicaram elevados níveis de citocinas pró-inflamatórias (SHAW et al., 2014), tendo uma correlação positiva entre o aumento do tecido adiposo e da produção dessas citocinas (ROSA et al., 2016).

Ainda, as proteínas envolvidas no processo inflamatório crônico de baixa intensidade podem ser secretadas pelo TAB (ASGHAR; SHEIKH, 2017), que é considerado um órgão endócrino, envolvido não somente no fornecimento e armazenamento energético, mas também e especialmente, nos processos metabólicos e fisiológicos do organismo (FONSECA-

ALANIZ et al., 2006). Dentre as adipocinas, destacam-se as citocinas, proteínas da via complemento alternativa (adipsina), fatores de crescimento (fator transformador de crescimento β – TGF- β), adipocinas da regulação da pressão sanguínea (angiotensinogênio), homeostase vascular (inibidor do ativador de plasminogênio 1 – PAI-1), homeostase glicêmica (adiponectina) e angiogênese (fator de crescimento endotelial vascular – VEGF), leptina e resistina (FONSECA-ALANIZ et al., 2006; FRÜHBECK et al., 2001).

As citocinas são proteínas que atuam em praticamente todas as etapas da inflamação. Elas podem modular o processo inflamatório e são consideradas como pró ou anti-inflamatórias (HOLDSWORTH; GAN, 2015). As citocinas pró-inflamatórias, como a IL-1 β , TNF e IFN- γ , iniciam a defesa contra um agente estranho (HOLDSWORTH; GAN, 2015), sendo que a produção e liberação das citocinas como a TNF, IFN- γ , IL-6 e MCP-1 induz o influxo de macrófagos para o tecido adiposo, potencializando e contribuindo com a manutenção processo inflamatório crônico de baixa intensidade no local (HAGITA et al., 2011).

Já as citocinas anti-inflamatórias, como a IL-10 atuam na resolução do processo inflamatório (HOLDSWORTH; GAN, 2015). Além disso, uma mesma citocina também pode ter ações opostas pró e anti-inflamatórias, como a IL-4, IL-13 (VERRI et al., 2006) e IL-6 (HUNTER; JONES, 2015).

A IL-6 atua como pró-inflamatória no início da inflamação ao induzir a migração de neutrófilos, enquanto que a produção constante é importante para a resolução da inflamação (SCHELLER et al., 2011; HUNTER; JONES, 2015), tendo uma atividade anti-inflamatória ao inibir a expressão de IL-1 β , TNF- α (KAPLANSKI et al., 2003) e IFN- γ (JIN; HAN; YU, 2013). Essa citocina é uma das principais envolvidas na inflamação crônica subclínica (MCCRACKEN; MONAGHAN; SREENIVASAN, 2018), estando diretamente correlacionada com a obesidade, diabetes tipo 2, resistência à insulina e outras comorbidades. Sendo que o aumento do tecido adiposo favorece a produção de IL-6 (FRIED; BUNKIN; GREENBERG, 1998; PEREIRA; ALVAREZ-LEITE, 2014; BAO; LIU; WEI, 2015).

A IL-12 é outra citocina pró-inflamatória produzida por macrófagos e células dendríticas (VERRI et al., 2006). A produção dessa citocina é estimulada principalmente por micro-organismos (WATFORD et al., 2004). Dentre as suas ações está a indução de dor (VERRI et al., 2005), além disso a IL-12 atua em conjunto com a IL-18 para induzir o aumento da expressão de IFN- γ (HOSHINO et al., 1999). Ainda, a IL-12 está elevada em diabéticos tipo 2 (ALI et al., 2017) e em pacientes obesos e em animais alimentados com dieta

hipercalórica foi observado que há o aumento dos níveis séricos de IL-12 que está diretamente correlacionado com a gordura abdominal, glicose elevada e produção de TNF (STRISSEL et al., 2010; SUÁREZ-ÁLVAREZ et al., 2013).

A TNF está elevada em um processo inflamatório, estando presente no tecido adiposo de pessoas obesas (ESSER et al., 2014). Essa citocina tem ações como o aumento da produção de outras citocinas pró-inflamatórias como a IL-1 β e IL-6, além de induzir o influxo de monócitos por meio do aumento de expressão de MCP-1 e induzir do aumento da resistência à insulina (BALISTRERI; CARUSO; CANDORE, 2010; STONE; PRUSSIN; METCALFE, 2010).

A MCP-1 é uma proteína quimioatratora de monócitos que pode ser liberada pelos macrófagos e pelos adipócitos. Além de ter a função quimioatratora, também atua na resistência à insulina e esteatose hepática durante o processo inflamatório crônico subclínico (KANDA et al., 2006).

Diferentes citocinas também podem ter ações semelhantes, a fim de potencializar uma resposta, como é o caso da IFN- γ que também aumenta a expressão de MCP-1 (RAUCH; MULLER; DECKER, 2003) além de inibir a produção de IL-10 (HU et al., 2006).

Com efeitos opostos às citocinas anteriormente descritas, a IL-10 é um mediador anti-inflamatório que é secretado por macrófagos do tipo M2, a fim de encerrar o processo inflamatório e impedir possíveis efeitos deletérios (HOLDSWORTH; GAN, 2015; MOGHADDAM et al., 2018). Além disso, essa citocina reduz a expressão de citocinas pró-inflamatórias como a IL-1, IL-6 e TNF- α , e reduz a expressão de MCP-1 (MOSSER; ZHANG, 2008).

2.4 Antioxidantes

Antioxidante pode ser definido como uma substância capaz de reduzir a gravidade do estresse oxidativo ao formar um radical menos reativo ou pela mitigação dos danos causados pela reação em cadeia em substratos (proteínas, lipídeos, carboidratos ou ácido desoxirribonucleico-DNA) por radicais livres (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006); sendo responsáveis pela inibição e redução de lesões causadas pelos radicais livres nas células (ABRAHÃO et al., 2012).

Até então, nenhum antioxidante de forma isolada consegue oxidar todos os radicais livres e impedir sua ação deletéria, sendo que para tanto deveriam apresentar propriedades

como: ser um composto biológico naturalmente presente em tecidos animais; ser ativo na proteção de moléculas de proteínas e lipídios; ter boa disponibilidade após administração oral ou parenteral; possuir meia-vida longa; ser ativo no espaço intracelular e extracelular e ser capaz de cruzar a membrana celular intacto (BECHARA; TREVISAN, 2009), embora possam trabalhar de forma sinérgica, otimizando seus benefícios.

Entre os antioxidantes endógenos e aqueles obtidos a partir da dieta, de acordo com Halliwell (2011), os endógenos apresentam maior capacidade antioxidante e as células e tecidos se beneficiam muito mais dos antioxidantes como a glutathione (GSH) ou da superóxido dismutase (SOD), enquanto os antioxidantes dietéticos teriam uma função bem menor. Entretanto, apesar do elevado potencial dos antioxidantes endógenos, é necessário obter esses compostos a partir da dieta ou do uso de medicamentos, sendo que estes podem ser produzidos de forma sintética ou por meio do uso de plantas medicinais.

2.5 Plantas medicinais

Plantas medicinais são amplamente utilizadas na medicina popular e tradicional há milhares de anos. Estas plantas são usadas no tratamento de diversas enfermidades na forma de pós, gomas, chás e associações (SHARMA; KUMAR, 2011).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), entre 65 e 80% da população dos países em desenvolvimento recorre ao uso de plantas medicinais como medicamentos (CAMERON et al., 2011), sendo essa utilização incentivada pela OMS desde a década de 70 (ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE, 1979).

O uso de plantas medicinais tem servido como base para medicamentos alopáticos, sendo que grande parte das drogas de importância utilizadas foram derivadas da etnomedicina, desta forma justificando a relevância da pesquisa dos compostos em plantas (RIBEIRO et al., 2018). O potencial uso das plantas medicinais advém da diversidade de metabólitos secundários que as mesmas podem apresentar (MICHELIN et al., 2005).

A quantidade e tipo de metabólito secundário varia de acordo com a espécie vegetal e o ambiente ao seu redor, sendo encontrados com frequência os compostos fenólicos, taninos e flavonoides (RAVEN; EVERT; CURTIS, 2007). Os estudos com esses metabólitos indicam que eles têm potencial farmacológico, podendo atuar como antioxidante, antitumoral, antimicrobiano, anti-obesogênico e antidiabético (EL-KASHAK et al., 2017; SMERIGLIO et al., 2017).

Assim, diversos estudos tem focado na busca e avaliação de plantas medicinais, visto que o Brasil é o país com maior diversidade vegetal do mundo, com grande potencial para exploração dessas plantas para a produção de fitoterápicos (NETO; MORAIS, 2003). Ainda, cabe destacar que o Cerrado é uma região rica em recursos naturais ainda não estudados, sendo uma fonte para a descoberta de novas plantas com atividades farmacológicas (CORREIA et al., 2016).

2.6 Plantas medicinais da família Myrtaceae

O Cerrado tem elevada biodiversidade de espécies vegetais e representa uma ampla extensão do Brasil, estando presente em 9 Estados (FRANÇOZO et al., 2015). Dentre as espécies vegetais do Cerrado estão as Angiospermas, que são as espécies que apresentam as sementes protegidas pelos frutos. Em 2015, Zappi et al. (2015) indicaram que existem mais de 12 mil espécies de angiospermas no Cerrado, confirmando a existência de uma grande riqueza de frutos no Cerrado.

Uma das famílias botânicas representadas por essas espécies vegetais é a Myrtaceae. Estudos com as espécies dessa família apontam que elas apresentam potencial para o tratamento de diversas enfermidades, devido às suas atividades antioxidantes, anti-inflamatória e anticarcinogênica (BORGES; CONCEIÇÃO; SILVEIRA, 2014).

A caracterização da atividade antioxidante de frutos das espécies da família Myrtaceae que são utilizadas na medicina tradicional, apontou que dentre as espécies *Psidium cattleianum*, *Eugenia pyriformis* e *Campomanesia xanthocarpa*, a *C. xanthocarpa* apresentou maior atividade antioxidante, com elevada quantidade de Vitamina C e compostos fenólicos (PEREIRA et al., 2012).

Outra espécie, a *Campomanesia cambessedeani*, além de ter potencial antioxidante, também atuou como anti-mutagênica e anti-genotóxica e os autores atribuíram essas atividades pela presença de compostos fenólicos como a catequina (MALTA et al., 2012).

Donado-Pestana et al. (2018b), em um artigo de revisão com as espécies da família Myrtaceae confirmaram que os frutos dessa família têm potencial contra a obesidade e podem contribuir com o tratamento ou redução dos riscos de DCNTs. Como exemplo, tem-se os frutos de *Eugenia dysenterica* com elevada quantidade de compostos fenólicos que atuam na redução da obesidade, esteatose e inflamação hepática, dislipidemia e estresse oxidativo (DONADO-PESTANA; BELCHIOR; GENOVESE, 2015; DONADO-PESTANA et al.,

2018a). Resultados semelhantes foram obtidos com as espécies *Campomanseia phaea* que reduziu a hiperglicemia, dislipidemia e quantidade de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF, que normalmente estão elevadas em obesos devido à inflamação crônica subclínica (DONADO-PESTANA et al., 2015), e a *Myrciaria dúbia* que reduziu o ganho de peso, dislipidemia e esteatose (NASCIMENTO et al., 2013) .

Os frutos são compostos por sementes, casca e polpa, e diversos frutos apenas a polpa é consumida, sendo descartados as sementes e casca. O que é descartado dos frutos é considerado um resíduo, mas que pode ter uma utilização na indústria farmacêutica e/ou de produção de rações (MENDONÇA et al., 2006). Desta forma, a literatura apresenta ensaios com os resíduos de frutos, com o objetivo de verificar possíveis atividades promissoras no tratamento de enfermidades.

Um fruto bastante conhecido no Cerrado é a jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*), e a casca, que normalmente é descartada ou utilizada para a produção de geleias (DESSIMONI-PINTO et al., 2011) tem potencial antioxidante com valor de IC₅₀ no teste de DPPH de 45.38±0.50 µg/mL, além de não se mutagênico em células da medula óssea e ter atividade antiproliferativa frente a células tumorais (LEITE-LEGATTI et al., 2012).

As cascas de *M. jaboticaba* também tem potencial anti-obesogênico, visto que de acordo com Batista et al. (2018) animais alimentados com dieta rica em gordura e que receberam suplementação com as cascas dessa espécie apresentaram redução do peso com prevenção do crescimento e acúmulo de gordura no tecido adiposo e diminuição da esteatose, além de diminuir a quantidade de citocinas pró-inflamatórias como IL-6 e TNF.

Apesar do potencial dos frutos e resíduos da família Myrtaceae, o potencial antioxidante e quantidade de compostos fenólicos são variados entre os diferentes gêneros, como foi indiciado por Gonçalves, Lajolo e Genovese (2010) que analisaram quatro diferentes gêneros dessa família e observaram que os resultados foram discrepantes. Portanto, é necessário a realização de mais estudos com os frutos do Cerrado dessa família, a fim de conhecer e, possivelmente identificar, os que apresentam maior capacidade antioxidante e melhor atividade para o tratamento de doenças metabólicas.

2.7 *Campomanesia adamantium* (guavira)

Dentre as espécies medicinais encontradas no Cerrado tem-se a *Campomanesia adamantium*, popularmente chamada de guavira ou também conhecida como gabiroba, fruto

pertencente à família Myrtaceae, de formato redondo, de coloração que varia do verde escuro ao verde claro e amarelo e de aroma cítrico. A planta da guavira possui formato arbustivo, atingindo até 2 m de altura, muito ramificada e com ramos delgados; possuindo folhas ovais ou elípticas com cerca de 4 cm de comprimento e 2 cm de largura (Figura 4) (DURIGAN, 2004).

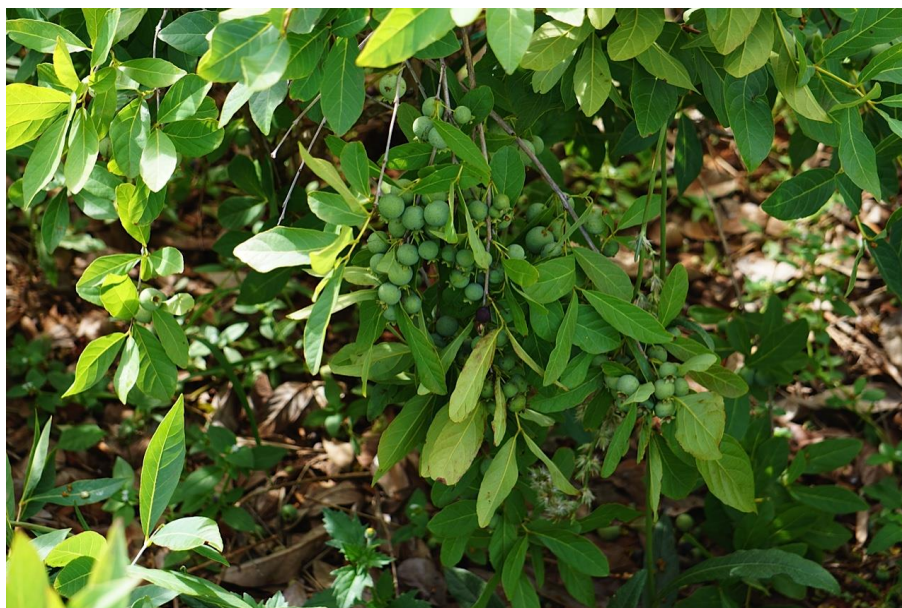


Figura 4. Fruto da *Campomanesia adamantium* (Fonte: Arquivo pessoal).

A planta floresce entre os meses de setembro e novembro, com flores brancas, solitárias, axilares ou terminais. Os frutos ocorrem de novembro a dezembro (LORENZI, 1992).

Popularmente as frutas e folhas de guavira são consumidas na forma de licor, sucos, doces e *in natura*. Na medicina tradicional, as folhas são utilizadas como depurativo, antidiarreico, antirreumático e na redução de colesterol, enquanto as raízes são utilizadas no tratamento de diabetes (BIAVATTI et al., 2004; COUTINHO et al., 2008).

A investigação fitoquímica de partes da guavira identificaram a presença de flavononas e chalconas no extrato de acetato de etila (EAE) dos frutos, compostos fenólicos como flavonoides nos extratos etanólico, metanólico, EAE e hexânico das folhas de guavira (COUTINHO et al., 2008, 2010). A análise dos óleos essenciais da fruta da guavira demonstrou a presença de 30 compostos (VALLILO et al., 2006), enquanto no óleo das folhas foram detectados 95 compostos (COUTINHO et al., 2009). Foi identificado no EAE a presença de compostos como miricetina e quercetina (FERREIRA et al., 2013), demonstrando potencial anti-inflamatório e antioxidante.

O conteúdo de ácido ascórbico, fenóis totais e atividade antioxidante *in vitro* pelos métodos 2,2-difenil-picrilhidrazil (DPPH), Capacidade Absorbante de Radical Oxigênio (ORAC) e de Poder Antioxidante de Redução de Ferro (FRAP) foram avaliados por Alves et al., (2017). A guavira apresentou maior atividade antioxidante em todos os métodos, além de maior concentração de fenóis totais e vitamina C, quando comparada com outras frutas do Cerrado como a cagaita e o caju do Cerrado.

A atividade antioxidante e o efeito hipolipemiante do extrato aquoso (EA) das raízes de guavira foram testados em ratos hiperlipidêmicos alimentados com ração com alto teor de frutose. Na avaliação antioxidante realizado pelo teste de DPPH, o valor de IC₅₀ foi semelhante ao controle butilhidroxitolueno (BHT) e protegeu os eritrócitos da liperoxidação induzida pelo 2,2' azobis (2-metilpropionamida) (ABTS), reduzindo a geração de malonaldeído. A suplementação dos ratos hiperlipidêmicos com o extrato aquoso das raízes de guavira (200 mg/kg) reduziu o colesterol total e o triglicerídeo sérico a níveis similares aos ratos normolipidêmicos e aos ratos hiperlipidêmicos tratados com sinvastatina (30 mg/kg) e ciprofibrato (2 mg/kg). Os níveis de malonaldeído no soro também foram reduzidos nos animais tratados com o EA (ESPINDOLA et al., 2016).

Lescano et al., (2018) avaliaram a atividade antiplaquetária e a inibição de COX induzidas pelo extrato metanólico (EM) das cascas de guavira no sangue humano, concluindo que o EM exerce ação antiplaquetária pela inibição de COX-1, reduzindo a agregação plaquetária, elevando os níveis de nucleotídeos cíclicos, reduzindo o cálcio intracelular e sua mobilização total e os níveis de tromboxano 2.

Os efeitos anti-inflamatórios e antinociceptivos do EA e do EAE das folhas de guavira foram analisados por Ferreira et al. (2013). A administração de EA e EAE via gavagem nas concentrações de 125 mg/kg e 250 mg/kg em camundongos demonstrou ser efetiva na redução do edema de pata induzido por carragenina. O EAE (125 e 250 mg/kg) e o EA (125 mg/kg) também reduziram o tempo de lambida, na segunda fase no método de formalina *in vivo*. EAE (250 mg/kg) e EA (125 mg/kg) reduziram o número de contorções nestes animais, demonstrando efeito antinociceptivo.

Da mesma forma, os óleos essenciais das cascas (OEC) e sementes (OES) dos frutos de guavira (100 mg/kg e 300 mg/kg) foram utilizados no tratamento do edema de pata induzido por carragenina em camundongos e de pleurisia, enquanto a ação antinociceptiva destes óleos foi avaliada utilizando o modelo de formalina *in vivo*. Foi observada uma redução significativa na migração leucocitária na pleura na dose de 300 mg/kg de ambos OEC e OES,

com inibição máxima de 89% no uso de OEC e 80% no uso de OES. O edema de pata foi minimizado com todas as concentrações de ambos os óleos, com inibição máxima de 72% e 74% na concentração de 100 mg/kg para OEC e OES, respectivamente. No teste de formalina, a inibição da dor inflamatória ocorreu de forma máxima na dose de 100 mg/kg tanto para OEC (72%), quanto para OES (80%) (VISCARDI et al., 2017).

Souza et al., (2017) avaliaram o efeito da administração do extrato hidroetanólico (EHE) das cascas do fruto de guavira no tratamento de pleurisia e do modelo de lesão do nervo poupado (LNP), que envolve lesão neuronal periférica, acarretando em dor crônica ao estímulo mecânico e ao frio, associada com declínio cognitivo, depressão e comorbidade emocional (ALVARADO et al., 2013). A administração do EHE (100 mg/kg e 300 mg/kg) inibiu significativamente a migração leucocitária na pleura; no modelo LNP, o EHE administrado por 3-15 dias reduziu a hiperalgesia e elevou o tempo de imobilidade no teste de nado forçado. Da mesma forma, no 15º dia, o tratamento com o EHE das cascas de guavira preveniu o aumento da sensibilidade ao estímulo pelo frio induzido pelo LNP.

Desta forma, a guavira apresenta potencial antioxidante e anti-inflamatório, sendo importante avaliar os compostos presentes em outras partes desse fruto, como as cascas, além de seus efeitos metabólicos inicialmente em animais de experimentação, visando encontrar alternativas naturais para prevenção e tratamento das principais comorbidades metabólicas relacionadas às DCNTs, além de agregar valor aos frutos do Cerrado.

3 OBJETIVOS

3.1. Objetivo Geral

Avaliar o efeito da suplementação do extrato hidroetanólico da casca de *Campomanesia adamantium* (guavira) sobre o perfil metabólico e inflamatório em camundongos Swiss

3.2. Objetivos Específicos

- Verificar medidas antropométricas, ganho de peso e consumo alimentar nos animais dos diferentes grupos experimentais;
- Realizar estudo de parâmetros bioquímicos (colesterol total, triglicerídeos, insulina, glicose, ureia, creatinina e PCR) dos animais experimentais;
- Realizar estudo histológico do fígado e dos rins dos animais experimentais;
- Realizar estudo das citocinas inflamatórias (IL-6, IL-10, IL-12, TNF, IFN- γ e MCP-1) dos animais experimentais.

4 METODOLOGIA

4.1 Amostra

Foram utilizados 24 animais camundongos (*Mus musculus*) linhagem Swiss machos, com 60 dias de idade, procedentes do Biotério Central do Instituto de Biociências (InBio), da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS). O estudo experimental foi realizado no Biotério Central da UFMS em condições controladas de luz (fotoperíodo de 12/12 horas de claro/escuro), temperatura ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$) e umidade ($55\pm 10\%$), para análise do efeito da suplementação de extrato hidroetanólico de *Campomanesia adamantium* (guavira) sobre o perfil metabólico e inflamatório.

Após a aclimação de 14 dias com dieta padrão Nuvital[®], os animais foram pesados e, randomicamente, distribuídos em três grupos experimentais: Controle (n=8), Extrato hidroetanólico da casca de *C. adamantium* (ExCa) 250 (n=8) e ExCa 500 (n=8). Os animais foram acondicionados em caixas de polietileno contendo 2 ou 3 animais por caixa, evitando dessa forma a superlotação e acesso de todos os animais a água e ração.

Por um período de 16 semanas foi ofertada a dieta experimental e água *ad libitum* para todos os grupos. A suplementação dos animais foi realizada 12 semanas após o início da dieta experimental e nos grupos ExCa 250 e ExCa 500 foi realizada a suplementação com extrato hidroetanólico da casca de *C. adamantium* por gavagem, sendo a dosagem corrigida semanalmente de acordo com a variação do peso dos animais, conforme descrito no item 4.2.1. Assim, a suplementação foi realizada nas últimas 4 semanas do experimento. O grupo controle também recebeu gavagem apenas de água durante o mesmo período. O delineamento experimental está ilustrado na Figura 5.

O estudo atendeu às normas estabelecidas no *Guide for the care and use of laboratory animals* do National Research Council (NRC, 1996) e os *Princípios éticos na experimentação animal* do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 1991) e foi submetido ao Comitê de Ética da UFMS, e aprovado sob o número 848/2017.

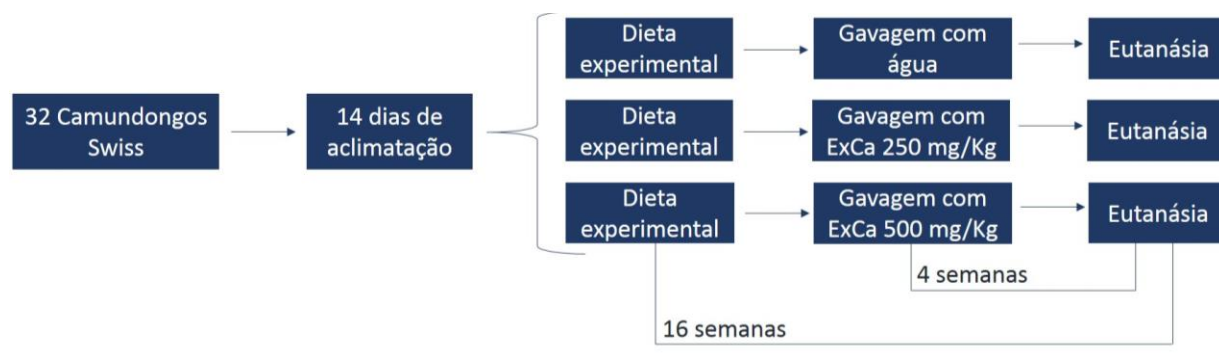


Figura 5. Delineamento experimental.

4.2 Procedimentos

4.2.1 Extrato

Os frutos da guavira foram fornecidos pela Agência de Desenvolvimento Agrário e Extensão Rural/AGRAER, Campo Grande, MS. Após recebimento dos frutos na Unidade de Tecnologia de Alimentos (UTASP-UFMS) os frutos foram separados, sendo descartados os impróprios para consumo. O restante foi higienizado em água corrente, despulpado manualmente e as cascas foram colocadas para secar em estufa de circulação de ar (40° C) até peso constante. As cascas secas foram pulverizadas em moinho industrial, tamisadas (40 *mesh*), obtendo rendimento de 25% e armazenadas em frasco fechado em congelador (-18°C) até a confecção do extrato.

Para a realização do extrato hidroetanólico (30:70 v/v) das cascas pulverizadas de guavira foi realizada percolação por 72 h, utilizando gotejamento de 20 gotas/minuto. O extrato obtido foi rotaevaporado e então, liofilizado. O material liofilizado foi armazenado no freezer -18°C até o momento do ensaio biológico.

Para os ensaios *in vivo*, a partir do material liofilizado, foram realizadas diluições em água destilada para obtenção das doses de 250 e 500 mg/kg, sendo calculadas as doses com base na diluição e estudos prévios do grupo de pesquisa.

4.2.2 Dieta Experimental

As dietas foram elaboradas de acordo com o protocolo experimental do *American Institute of Nutrition* (Tabela 1) pela empresa RHOSTER® e o detalhamento da composição da dieta denominada RH19521B se encontra nos Anexos A e B. As rações foram

armazenadas em temperatura de 8°C, evitando oxidação lipídica e alterações na composição da dieta (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993).

Tabela 1. Composição em macronutrientes da dieta padrão Nuvital® AIN-93M e da dieta experimental da *American Institute of Nutrition* RH19521B.

Composição (g/100 g)	Dieta padrão	Dieta experimental
Proteína	14,00	22,00
Lipídio	4,00	5,00
Carboidrato	72,07	65,00
<i>Amido milho</i>	46,57	55,00
<i>Sacarose</i>	10,00	-
<i>Maltodextrina</i>	15,50	10,00
Celulose	5,00	5,00
Mix mineral	3,50	3,50
Mix vitamínico	1,00	1,00
L- Cistina	0,18	0,18
Bitartarato de colina	0,25	0,25
Tertbutilhidroquinona	0,0008	0,0008
Total	100,00	101,94

4.2.3. Avaliação do ganho de peso e consumo de dieta

A avaliação do peso corporal dos animais foi verificada no início do experimento e semanalmente durante todo o experimento, em balança semi-analítica.

A avaliação do consumo alimentar dos animais foi realizada por gramas de ração/dia. Foi mensurada a quantidade restante de alimento em cada gaiola, podendo-se avaliar o consumo pela diferença de peso da ração oferecida na semana anterior, por animal.

4.2.4 Eutanásia

A eutanásia foi realizada por overdose de anestesia em câmara de indução com anestésico volátil, com isoflurano (3-5%), seguido pela coleta de sangue por punção da veia cava posterior para posterior análise sérica. Após confirmação da eutanásia, os tecidos (fígado e rins) foram coletados e acondicionados em solução de formalina 10% para posterior análise histológica.

4.2.5 Análises

A partir do sangue foi obtido o soro e mensurado o colesterol total, triglicerídeos, insulina, glicose, ureia, creatinina e PCR, por meio de kits comerciais (LabTest®) e quantificados em espectrofotômetro (BioTek® - powewave XS). Já as citocinas inflamatórias foram quantificadas por meio de citometria de fluxo.

4.2.5.1 Determinação de Colesterol Total

Método colorimétrico-enzimático: os ésteres de colesterol são hidrolisados pelo colesterol esterase (CHE-Lipase de origem fúngica) formando colesterol livre, que após oxidação pelo colesterol oxidase forma peróxido de hidrogênio. Desta forma, reagindo com substrato em presença da peroxidase (POD), origina-se um cromóforo de coloração cereja. A absorbância máxima é de 505 nm, diretamente proporcional à concentração de colesterol da amostra (FLEG, 1973).

4.2.5.2 Determinação de Triglicerídeos e Glicose

Método colorimétrico-enzimático: os triglicerídeos são desdobrados em glicerol e ácidos graxos mediante ação da enzima lipase. O glicerol produzido é determinado de forma totalmente enzimática por meio de uma sequência de reações que inclui a fosforilação a glicerol-1-fosfato em presença da enzima glicerol-quinase (GK) e oxidação por ação da enzima glicerolfosfato oxidase (GPO), com produção de água oxigenada (peróxido de hidrogênio). Já a glicose é oxidada enzimaticamente sob ação da glicose oxidase (GOD), formando ácido glucônico e água oxigenada. A água oxigenada formada reage sob ação catalizadora da POD que reage como doador de hidrogênio com 4-aminofenazona (4-AF) e fenol. Dessa reação oxidativa forma como produto antipirilquinonimina de coloração cereja.

Ambos apresentam absorbância máxima em 505 nm, cuja intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração da substância (CAREY; FELBRUEGGE; WESTGARD, 1974; HAGEN; HAGEN, 1962).

4.2.5.3 Determinação de ureia

Método colorimétrico-enzimático: a ureia é hidrolisada pela urease à íons amônio e CO. Os 2 íons amônio reagem em pH alcalino com salicilato e hipoclorito de sódio, sob a ação catalisadora do nitroprussiato de sódio para formar azul de indofenol. A intensidade da cor formada é proporcional à quantidade de ureia na amostra.

4.2.5.4 Determinação de creatinina

Método colorimétrico: a creatinina e outros componentes da amostra reagem com a solução de picrato em meio alcalino formando um complexo de cor vermelha que é medido fotometricamente. A adição de um acidificante abaixa o pH para 5,0, promovendo a decomposição do picrato de creatinina, permanecendo inalterada a cor derivada dos cromogênios, que também é medida fotometricamente. A diferença entre as duas leituras fornece o valor da creatinina (não corrigida).

4.2.5.5 Determinação de citocinas inflamatórias e proteína C-reativa

As citocinas pró e anti-inflamatórias, IL-6, IL-10, IL-12, TNF, IFN- γ e MCP-1 foram quantificadas por citometria de fluxo, utilizando o kit CBA (*Cytometric Bead Assay*) da marca BD (Lote 8171794) no citômetro de fluxo FACSCanto II.

A proteína C-reativa foi quantificada pelo método *Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay* (ELISA) (ERHARDT et al., 2004).

4.2.5.6 Avaliação histopatológica

As amostras de fígado e rim retiradas foram identificadas e fixadas em formalina tamponada 10%. Após uma semana o material foi processado em concentrações crescentes de álcool, diafanizados em xilol e incluído em parafina histológica. Das amostras dos órgãos foram confeccionadas secções transversais de 5 μ m de espessura com o auxílio de micrótomo rotativo (Microm HM320). As secções obtidas foram coradas pela técnica de Hematoxilina-Eosina (HE) (LUNA, 1968; BEHMER; TOLOSA; FREITAS-NETO, 1976) e Tricromio de Masson (TM) (GOLDNER, 1938).

As lâminas de fígado e rim coradas com HE foram analisadas quanto à morfologia tecidual. Nas lâminas de fígado também foram realizadas análises da presença de esteatose e focos inflamatórios, para tanto foram capturados 10 campos aleatórios. De acordo com a metodologia de Kleiner et al. (2005), na esteatose foi determinada a porcentagem de esteatose em cada campo com a aplicação de escores, sendo < 5% (0), 5-33% (1), >33%-66% (2) e >66% (3), de forma semelhante, foram aplicados escores de acordo com a contagem dos focos inflamatórios e quando não foi observado foco inflamatório foi determinado como score 0, de 1 a 2 focos (score 1), 3 a 4 focos (score 2) e mais que 4 focos (score 3).

Para verificar a presença de fibrose, as lâminas de fígado foram coradas com TM e a analisadas quanto à presença de fibras colágenas, que são coradas em azul.

4.3 Atividade antioxidante

4.3.1 Método DPPH

Para análise de atividade antioxidante foi utilizado o método de sequestro do radical livre estável DPPH. Foram feitas modificações em relação ao método original de Brand-Williams et al. (1995), sendo preparado 150 μM de solução de DPPH em metanol 80 %, em vez de 100 %. A utilização de metanol 80 % tem a vantagem de reação a uma velocidade mais rápida para alguns compostos, como o BHA e o BHT e menores perdas por evaporação. Em vez de realizar as leituras por espectrofotometria, o método foi realizado em microplacas. Foram adicionados 22 μL de amostra e 200 μL de solução de DPPH a um poço da placa de microtitulação de 96 poços EIA de fundo chato (ICN Biomedicals Inc.). Os extratos foram preparados em triplicata para cada concentração utilizada (0-500 μM), e foram utilizadas pelo sete concentrações diferentes. A placa foi deixada no escuro em temperatura ambiente (22°C) e lida após 30, 180 e 360 minutos em um leitor de placa MRX utilizando filtro de 520 nm.

Um gráfico de Absorbância (A) 520 nm versus concentração de amostra na solução final foi feito para cada intervalo de tempo. Usando os resultados do intervalo de tempo com a inclinação mais alta, a inclinação inicial da curva foi calculada por regressão linear ($r^2 > 0,800$). A atividade antirradical foi definida pelo valor inicial do *slope* em unidades de A 520 nm/ μM de amostra ou μM de DPPH/ μM de amostra. As unidades foram convertidas de A 520 nm para μM de DPPH, desenvolvendo uma curva padrão para DPPH usando o leitor de placas. A concentração de DPPH foi inicialmente determinada a partir da equação da curva de calibração dada por Brand-Williams et al. (1995), onde A 515 nm medido

espectrofotometricamente foi igual a 12509 concentração em M - 0,00258. Embora Brand-Williams et al. (1995) tenha solubilizado o DPPH em metanol, a mesma equação foi usada porque a absorbância do DPPH em 80% de metanol era a mesma. A atividade antirradical foi considerada equivalente a metade negativa do poder antirradical (ARP), conforme definido por Brand-Williams et al. (1995). O ARP foi igual ao recíproco da quantidade de composto necessária para diminuir a concentração inicial de DPPH em 50% em unidades de moles de DPPH por mole de composto.

4.3.2 Determinação de fenois totais e taninos totais

4.3.2.1 Fenois totais

Para a determinação de fenois totais foram preparadas as seguintes soluções (Tabela 2): solução etanólica de ácido gálico a 0,5g/L; solução aquosa de Folin-Ciocalteu a 10%; solução aquosa de carbonato de sódio 7,5%. Foram realizadas as seguintes diluições a partir da solução-mãe de ácido gálico (0,5 g/L) para os tubos de ensaio com as seguintes concentrações: 0,025; 0,075; 0,09; 0,105 g/L. Foram adicionados aos tubos 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%. A amostra foi diluída até que o valor de absorbância obtido fosse maior que o menor valor de absorbância apresentado pelo menor ponto da curva de calibração. Os tubos foram agitados e levados ao banho-maria a 50°C por 5 minutos; resfriados e a leitura das amostras foram realizadas em espectrofotômetro a 760 nm. Como branco foi utilizado etanol, 2,5 mL de reagente de Folin-Ciocalteu 10% e 2,0 mL de solução de carbonato de sódio 7,5%. Cada ponto foi realizado em triplicata.

Tabela 2. Calibração de ácido gálico para estabelecimento de reta do teor fenólico.

Concentração mg/mL	Ac. gálico 0,5 g/L (mL)	Metanol (mL)	Ácido gálico	Folin Denis (mL)	Carbonato de sódio (mL)
0,025	0,15	2,85	0,5	2,5	2
0,075	0,45	2,55	0,5	2,5	2
0,09	0,54	2,46	0,5	2,5	2
0,105	0,63	2,37	0,5	2,5	2

A curva de calibração de ácido gálico é feita para se estabelecer uma equação da reta a partir da qual foi calculado o teor fenólico das amostras. E os resultados foram expressos em equivalentes de ácido gálico (mgGAE/g).

4.3.2.2 Taninos totais

Foi preparada solução aquosa de Folin-Denis da seguinte forma (Tabela 3): 100 g de tungstato de sódio hidratado, 20 g de ácido fosfomolibdico e 50 mL de ácido fosfórico em 750 mL de água. Este conteúdo foi refluxado por 2 h. Foi preparada solução aquosa de carbonato de sódio saturada – pesados 35 g de NaCO₃ anidro e dissolvido em 100 mL de água a 70-80 °C, resfriado por uma noite e semeado a sol. Após cristalização, a solução foi filtrada através de lã de vidro. A amostra foi diluída até que o valor de absorbância obtido fosse maior que o menor valor de absorbância apresentado pelo menor ponto da curva de calibração. Para a leitura foram utilizados 0,5 mL do tubo de diluição com água, adicionado 8 mL de água destilada, 0,5 mL de reagente de Folin-Denis e 1,0 mL de solução de carbonato de sódio saturada. Os tubos foram agitados e após 30 minutos foi realizada a leitura de cada tubo em espectrofotômetro a 760 nm. Cada ponto de concentração foi realizado em triplicata. Como branco foi utilizado água, solução de Folin-Denis e NaCO₃ (8,5+0,5+1 mL respectivamente).

Tabela 3. Calibração da curva padrão para taninos totais através de solução padrão contendo 10 mg de ácido tânico com um balão de 100 mL com água destilada (0,1 mg/mL).

Concentração mg/mL	Ac. tânico (mL)	Água (mL)	Folin Denis (mL)	Carbonato de sódio saturado (mL)
0,02	0,2	8,3	0,5	1
0,04	0,4	8,1	0,5	1
0,06	0,6	7,9	0,5	1
0,08	0,8	7,7	0,5	1
0,1	1	7,5	0,5	1

Concentração do ácido tânico na amostra correspondente à leitura da curva-padrão x V mL tubo x 100/ massa em g tubo = mg de ácido tânico/100 g de massa seca. E os resultados foram expressos em equivalentes de ácido tânico (mgTAE/g).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram tratados utilizando software Sigma Stat e GraphPad Prism 5 e expressos como médias ± erro padrão da média (EPM) e submetidos a ANOVA de uma via, seguida de teste de Bonferroni, considerando-se significância estatística $p < 0,05$.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaaios *in vivo*

Os valores de peso inicial, peso final, ganho de peso e ingestão alimentar por grupo estão disponíveis na Tabela 4 e Figura 6. Não houve diferença no peso inicial dos animais, indicando que todos os grupos estavam iguais no início do experimento, e após os tratamentos, foi observado que os animais do grupo ExCa 500 mg/kg apresentavam numericamente menor peso final em relação ao grupo aos demais grupos, entretanto, essa diferença não foi estatisticamente significativa, o que pode ter sido devido à diferença de peso entre os animais do mesmo grupo (Tabela 4).

Tabela 4. Análise dos dados de peso inicial e final dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta experimental e 4 semanas de suplementação com extrato hidroetanólico de casca de *Campomanesia adamantium* (250 mg e 500 mg/kg de peso).

Dados	Controle (n=8)	ExCa 250 (n=8)	ExCa 500 (n=8)
Peso inicial (g)	36,87±3,16	36,87±2,87	36,25±1,87
Peso final (g)	46,00±3,75	48,62±5,28	42,87±3,37
Ingestão alimentar (g)	4,40±0,67	4,60±0,52	4,3±0,36

ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média ± EPM (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, $p > 0,05$.

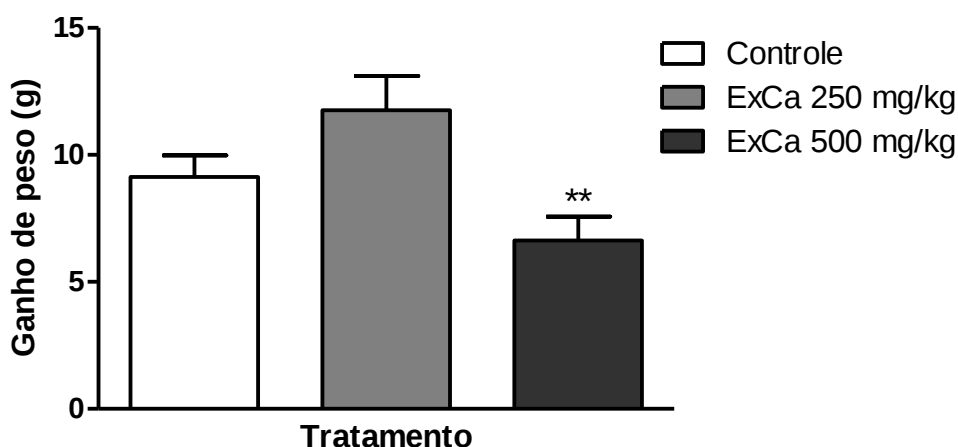


Figura 6. Ganho de peso dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta experimental e 4 semanas de suplementação com extrato hidroetanólico de casca de *Campomanesia adamantium* (Exca; 250 mg e 500 mg/kg de peso). Os resultados foram expressos como média ± DP (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. ** $p < 0,01$ em relação ao grupo ExCa 250 mg/kg.

Ao avaliar o ganho de peso dos animais, ou seja, a diferença entre o peso final e inicial, foi observado que o menor ganho de peso ocorreu no grupo ExCa 500 (6.62 ± 1.97 g), em relação ao grupo grupo ExCa 500 (11.75 ± 2.94 g), porém não foram diferentes do controle (9.12 ± 1.87 g). Não houve diferença entre os grupos quanto a ingestão alimentar.

Popularmente, outras espécies de *Campomanesia*, como a *Campomanesia xanthocarpa* são utilizadas com o propósito de perda de peso (KLAFKE et al., 2012). Os resultados em relação ao uso de espécies de *Campomanesia* para perda de peso são contraditórios. Catelan et al. (2018) não encontraram diferença significativa de peso em grupos tratados com doses de 250 mg/kg, 500 mg/kg e 1000 mg/kg de infusão de folhas de *Campomanesia guazumifolia*, em teste de toxicidade subaguda. Da mesma forma, Boas et al. (2018) ao realizar teste de toxicidade aguda e subaguda do extrato etanólico de *Campomanesia pubescens* verificaram resultados similares de ganho de peso entre os grupos tratados com 125 mg/kg, 250 mg/kg, 500 mg/kg, 1000 mg/kg e 2000 mg/kg, indicando que o extrato não apresentou toxicidade.

No entanto, semelhante ao observado no presente estudo, a suplementação do extrato aquoso *ad libitum* de *C. xanthocarpa* foi eficiente na redução do ganho de peso em ratos tratados com dieta hipercalórica durante 4 semanas (BIAVATTI et al., 2004).

Tabela 5. Análise dos parâmetros bioquímicos de glicemia, triglicerídeos e colesterol total séricos dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta experimental e 4 semanas de suplementação com extrato hidroetanólico de casca de *Campomanesia adamantium* (250 mg e 500 mg/kg de peso).

Parâmetros (mg.dL ⁻¹)	Controle (n=8)	ExCa 250 (n=8)	ExCa 500 (n=8)
Glicemia	465,6 $\pm$ 25,11	480,8 $\pm$ 36,55	363,8 $\pm$ 75,10*
Triglicerídeos	176,8 $\pm$ 17,85	183,6 $\pm$ 23,98	157,00 $\pm$ 66,70
Colesterol total	174,2 $\pm$ 26,56	192,0 $\pm$ 13,62	119,0 $\pm$ 36,93*

ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando * como diferença estatística na mesma linha ($p < 0,05$) em relação ao grupo controle e ** ($p < 0,01$) em relação à ExCa250.

Em relação aos parâmetros bioquímicos avaliados (Tabela 5), os níveis de triglicerídeos não apresentaram diferença estatística entre os grupos ($p > 0,05$). Os níveis de glicemia sérica apresentaram-se inferiores ($p < 0,05$) nos animais do grupo ExCa 500, indo de encontro ao observado para o menor ganho de peso (Figura 6) ao longo do experimento no mesmo grupo. Sugere-se, portanto, que o extrato da casca de *C. adamantium* seja uma alternativa no controle de peso corporal e glicemia, parâmetros importantes no tratamento de

diabetes mellitus. Na medicina popular, a espécie *C. xanthocarpa* é conhecida por sua ação anti-obesogênica, com melhorias na glicemia de ratos (BIAVATTI et al., 2004), mostrando o potencial desse gênero para novos estudos envolvendo desordens metabólicas.

Ainda neste contexto, após o tratamento, o grupo ExCa 500 também apresentou ação hipocolesterolêmica em relação aos demais grupos, inferindo-se a ação inibidora de 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA redutase (HMGR) já observada *in vitro* com *C. xanthocarpa* (KLAFKE et al., 2010), ao competir com a 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A pela ligação no sítio catalítico da HMGR e, assim, reduzir a síntese de colesterol. Além disso, a presença de compostos bioativos, como os ácidos elágico e gálico na *C. adamantium*, parecem exercer importante papel antioxidante, devido ao estímulo da atividade enzimática da SOD, catalase (CAT) e glutathione peroxidase (GPx), contribuindo para a ação hipocolesterolêmica, atenuando o processo de estresse oxidativo envolvido (CARDOZO et al., 2018).

Tabela 6. Concentração sérica de ureia, creatinina, ácido úrico, proteína C-Reativa (PCR) e insulina dos animais após 16 semanas de tratamento com dieta experimental e 4 semanas de suplementação com extrato hidroetanólico de casca de *Campomanesia adamantium* (250 mg e 500 mg/kg de peso).

Parâmetros	Controle (n=8)	ExCa 250 (n=8)	ExCa 500 (n=8)
Ureia (mg/dL)	57,70±8,20	65,90±20,51	46,78±7,86
Creatinina (mg/dL)	0,28±0,03	0,30±0,12	0,20±0,10
Ácido úrico (mg/dL)	7,90±2,11	7,60±1,77	7,26±1,43
PCR (mg/dL)	0,24±0,12	0,21±0,07	0,21±0,08
Insulina (mU/L)	0,20±0,00	0,20±0,00	0,20±0,00

ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média ± EPM (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, $p > 0,05$.

Os resultados de ureia e creatinina aumentaram na seguinte ordem de grupos (Tabela 6): ExCa 500, Controle e ExCa 250. Considerando os valores de referência em camundongos de ureia sérica (45 - 53 mg/dL) (DINIZ et al., 2006) e creatinina sérica (0,2 – 0,5 mg/dL) (ARAÚJO-DANTAS et al., 2006) é possível constatar que o único grupo que se encontra dentro das referências esperadas para ureia é o ExCa 500, com declínio do *clearance* de ureia sérica, sem afetar as concentrações de creatinina.

Em relação aos valores de ácido úrico, as menores concentrações foram encontradas no grupo ExCa 500, seguido do grupo ExCa 250 e Controle. A hiperuricemia pode ser causada pela produção excessiva de ácido úrico, excreção renal deficitária ou pela

combinação dos dois (SU et al., 2014); sendo caracterizada pelos altos níveis de ácido úrico no sangue, o que pode causar deposição de cristais de urato nas articulações e rins (WU et al., 2014).

A doença renal, assim como outras complicações da inflamação, como a doença coronariana podem ser associadas com diversas anormalidades metabólicas decorrentes da obesidade, tais quais inflamação, resistência insulínica e comprometimento do metabolismo lipídico e de glicose (PARK et al., 2018). Diversos estudos demonstraram que a suplementação com produtos e extratos a base de fitoquímicos apresentaram efeitos protetores na função renal (FAHMY et al., 2016; FERIANI et al., 2017; ZARGAR et al., 2016).

A concentração de PCR foi de 0,24 mg/dL no grupo Controle e de 0,21 mg/dL nos grupos ExCa 250 e ExCa 500. A PCR é uma proteína de fase aguda, utilizada como importante preditor de eventos cardiovasculares (RIDKER et al., 2002). Foi demonstrado que a PCR pode ser produzida nos adipócitos diante da estimulação de citocinas pró inflamatórias e que pode ser modulada pela intervenção de fármacos (CALABRO et al., 2005). A redução da PCR foi demonstrada em pessoas que utilizam alguns produtos naturais como arroz vermelho fermentado, berberina, curcumina e uso de ômega-3 (CICERO; COLLETTI, 2017).

A insulina sérica em todos os grupos foi de 0,2 mU/L. Embora a resistência à insulina esteja relacionada à inflamação (SHOELSON; LEE; GOLDFINE, 2006), não houve diferença ($p>0,05$) entre os grupos estudados.

O estresse oxidativo induz processo inflamatório (HUSSAIN et al., 2016), ocorrendo em situações como a obesidade. De acordo com Chalasani et al. (2012) disfunções metabólicas estão relacionadas com doenças hepáticas gordurosas não alcoólicas (DHGNA), que tem como característica a presença de inflamação, esteatose e fibrose. E a inflamação também pode estar presente em outros órgãos como os rins (DECLEVES; SHARMA, 2015).

O processo inflamatório observado nesses casos é condizente com a presença marcante de linfócitos e poucos neutrófilos, sendo essas células encontradas em aglomerados, que podem ser contados como focos inflamatórios (KIRSCH et al., 2003). Os linfócitos e macrófagos também estão presentes em elevadas quantidades no tecido adiposo de obesos (CINKAJZLOVÁ; MRÁZ; HALUZÍK, 2017), sendo os linfócitos do subtipo *helper* 1 (Th1) responsáveis por polarizar os macrófagos em M1, que liberam citocinas pró-inflamatórias (FLEMING et al., 2015; MOGHADDAM et al., 2018).

Os focos inflamatórios nos rins dos animais de cada grupo estão ilustrados nas Figuras 6 e 7. Todos os grupos apresentaram focos inflamatórios, especialmente aqueles tratados com

extrato hidroetanólico de guavira, diferindo estatisticamente do controle ($p < 0,001$). Apesar de terem sido observados focos inflamatórios, que indicam a presença de linfócitos, para confirmar o tipo de célula leucocitária presente, seria necessário a realização de ensaios de imuno-histoquímica utilizando marcadores celulares específicos.

Além das células inflamatórias, foi observado hiperemia (hemácias congestionadas) no grupo controle e deposição proteinácea nos animais do grupo ExCa, o que indica, que apesar da deposição proteinácea e do processo inflamatório, o extrato da casca de guavira reduziu a hiperemia. Essa condição consiste no aumento de volume de sangue em um local específico e, juntamente com outros fatores, está correlacionado com a presença de danos teciduais (MOGHADAM et al., 2015), indicando um efeito protetor do extrato.

Em contrapartida, a deposição proteinácea ocorre devido a falhas na degradação de proteínas que não estão em sua conformação tridimensional correta, levando ao acúmulo dessas proteínas que formam agregados insolúveis denominados amiloides. Os agregados amiloides podem causar danos em células e tecidos (KUMAR; HAQUE; PRABHU, 2016). Esses agregados estão presentes em doenças renais crônicas (SCHOTT; METRE; DIVERS, 2006) e também na inflamação crônica (MAREEDU; MIGRINO, 2016), o que poderia estar correlacionado com os focos inflamatórios observados no rim dos animais (Figura 7 e 8). Entretanto seriam necessários mais ensaios a fim de verificar se de fato existe uma amiloidose, qual o papel do ExCa da casca de guavira nesse processo e qual metabólito secundário presente no extrato hidroetanólico poderia estar desencadeando a deposição proteinácea e inflamação.

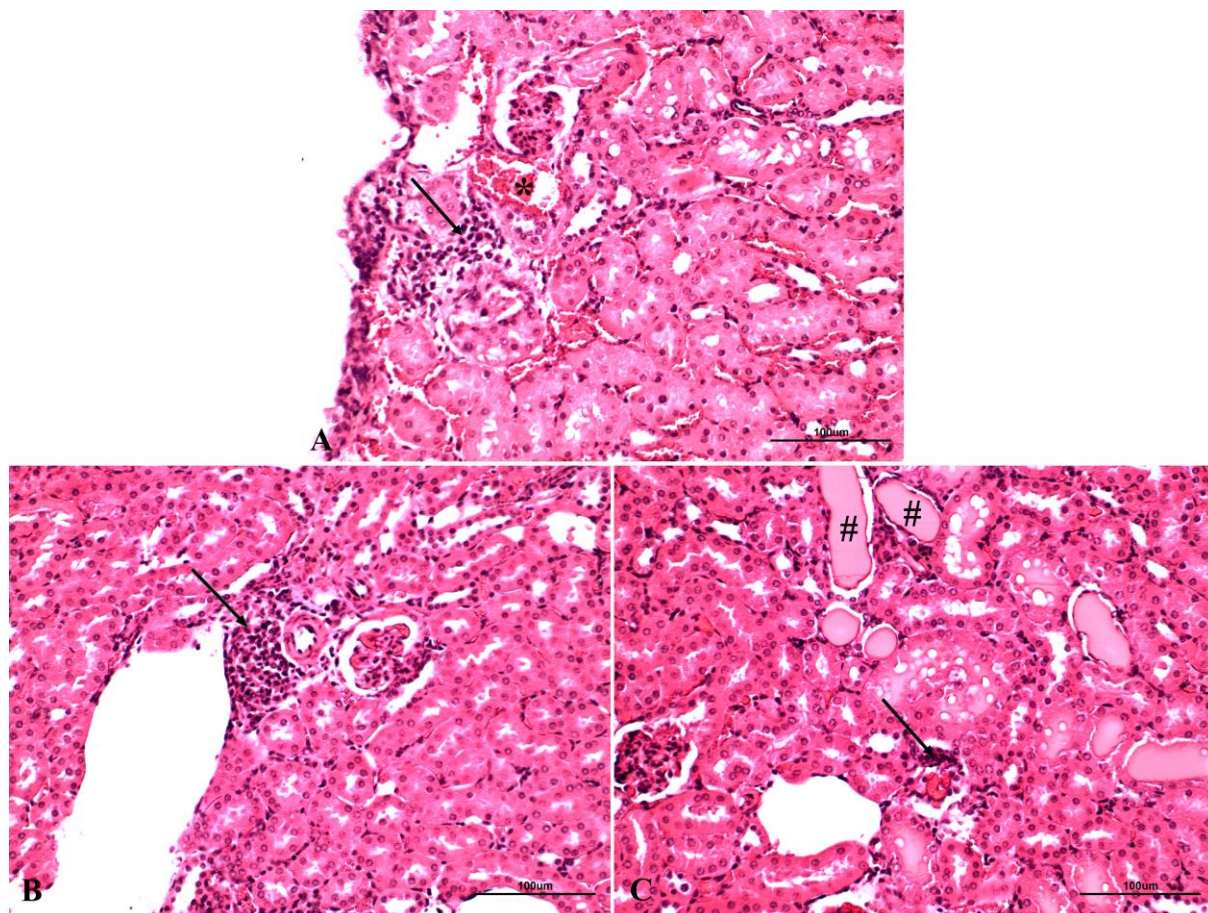


Figura 7. Análise histológica dos focos inflamatórios no rim dos animais. A) Controle; B) ExCa 250 e C) ExCa 500. Processo inflamatório mononuclear (seta preta), hemácias congestionadas (*), deposição proteinácea (#). 200x. Hematoxilina-Eosina.

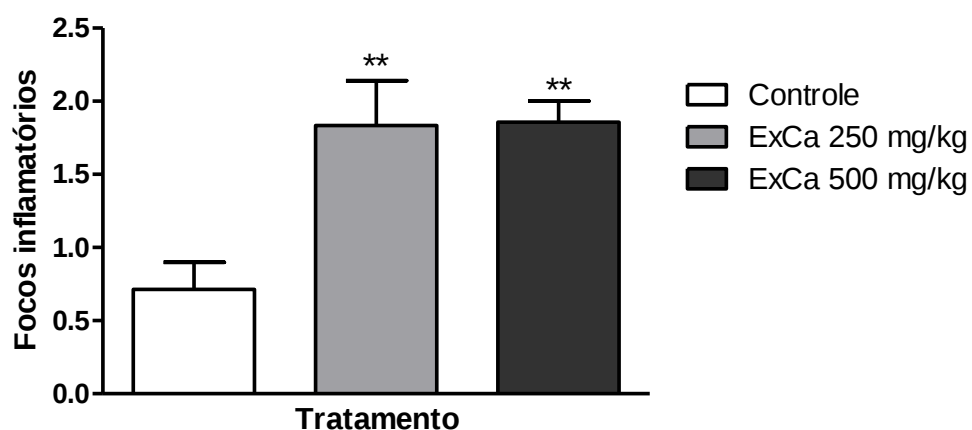


Figura 8. Análise histológica dos focos inflamatórios no rim dos animais. ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. ** $p < 0,001$, em comparação ao grupo controle.

Os estudos de Souza et al. (2017) não observaram toxicidade, aguda e subaguda, em ensaios de suplementação de extrato de cascas do fruto da guavira em ratos, entretanto,

conforme observado nas figuras 6 e 7, os animais tratados com a ExCa 250 e 500 apresentaram processo inflamatório no rim, estatisticamente superior ao grupo controle. Em contrapartida, outra espécie do mesmo gênero, a *Campomanesia velutina*, induziu inflamação e hemorragia nos rins de ratos com extratos superiores a 300 mg/kg (ARAÚJO et al., 2017). Assim, esses dados indicam que o tipo de dieta ofertada aos animais pode ter interferido na atividade do extrato, induzindo a inflamação em animais com uma predisposição metabólica.

Conforme explanado, as DHGNA são uma consequência da obesidade e do estilo de vida alimentar atual, rico em gordura e açúcar. Dentre os sinais da DHGNA estão a inflamação, esteatose e fibrose (ANN; EO; LIM, 2015). Desta forma, foram realizadas análises no fígado dos animais a fim de verificar se o ExCa da casca de guavira poderia ter um efeito hepatoprotetor, ao reduzir esses danos.

Em relação aos achados de células leucocitárias, o grupo que apresentou maior quantidade de focos inflamatórios no fígado foi o ExCa 500, seguido pelo grupo Controle e finalmente o grupo ExCa 250 (Figura 9).

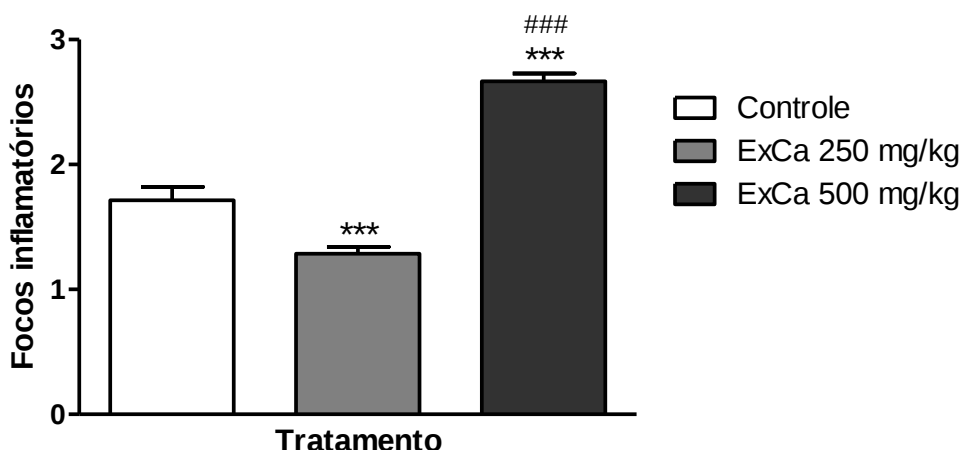


Figura 9. Análise histológica dos focos inflamatórios no fígado dos animais. ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média ± EPM (n=8). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. *** $p < 0,001$, em comparação ao grupo controle, #### $p < 0,001$, em comparação ao grupo ExCa 250 mg/Kg.

Todas as dietas propostas induziram a algum grau de inflamação hepática, de acordo com a Figura 10, porém, o grupo ExCa 500 apresentou maior potencial inflamatório, com diferença ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos. Os grupos ExCa 250 e Controle não diferiram entre si. Além do processo inflamatório, também foi observado hiperemia no grupo controle, indicando novamente um efeito hepatoprotetor, sendo semelhante ao observado nos rins. Ainda, foi observada deposição proteinácea em todos os grupos, que pode estar relacionada ao processo inflamatório.

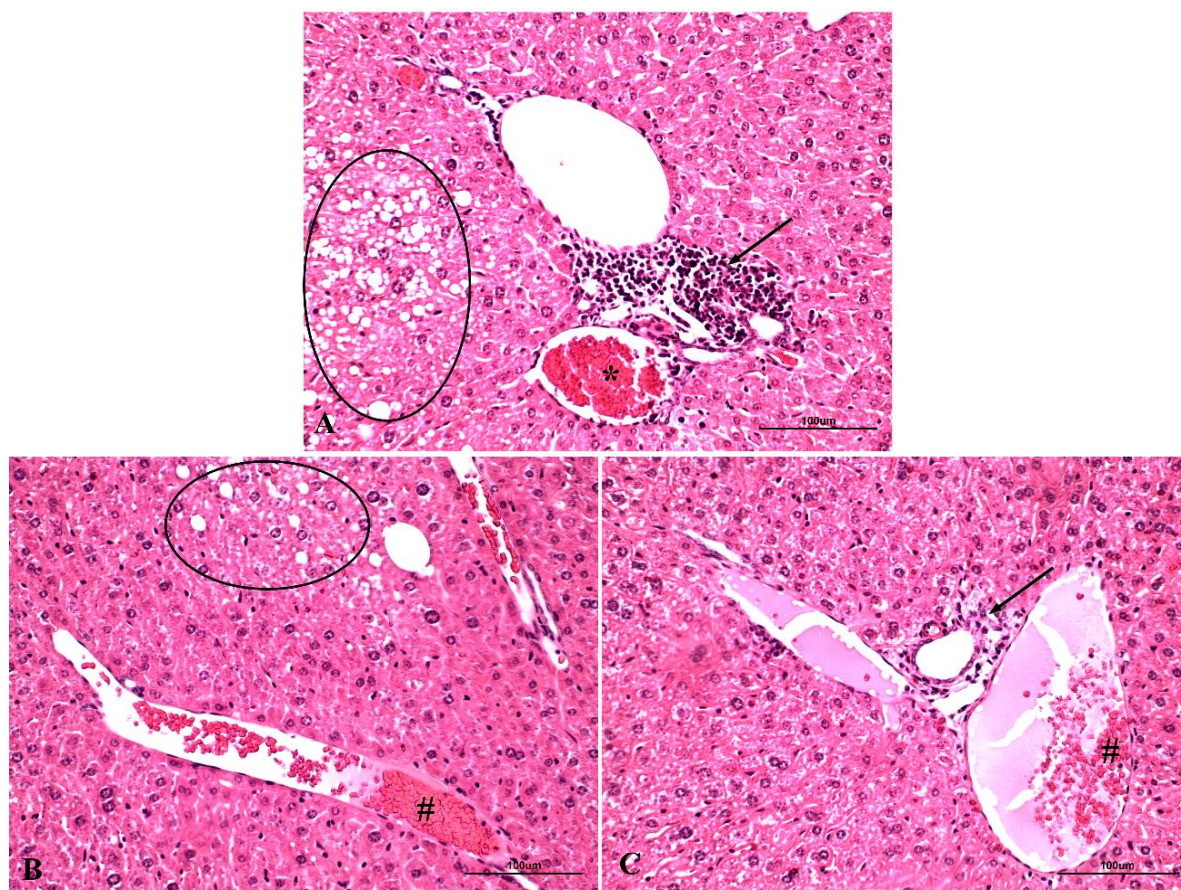


Figura 10. Análise histológica dos focos inflamatórios no fígado dos animais: A) Controle; B) ExCa 250 e C) ExCa 500. Processo inflamatório mononuclear (seta preta), hemácias congestionadas (*), deposição proteinácea (#), esteatose (círculo). 200x. Hematoxilina-Eosina.

O uso de suplementos dietéticos e herbais (SDH) tem sido utilizado como alternativa de emagrecimento, entretanto foi o causador de 20% das intoxicações hepáticas pelo uso de medicamentos entre os anos de 2013 – 2014. O uso de substâncias conhecidas e consideradas seguras e benéficas à saúde, como o chá verde, quando consumidas em quantidades elevadas, pode levar à intoxicação. Desde 2006, mais de 50 casos de intoxicação hepática decorreram devido ao uso agudo de chá verde (NAVARRO et al., 2017).

O fígado é um órgão multifuncional com papel central na desintoxicação e na homeostase metabólica, tendo seu estado redox celular suscetível a desequilíbrios quando sobrecarregado, podendo levar a uma variedade de doenças hepáticas (SHIN; YANG; KI, 2013). Assim, são necessários mais estudos a fim de verificar se o processo inflamatório e deposição proteinácea no fígado dos animais pode ser em decorrência de algum composto tóxico presente no extrato que poderia desencadear uma hepatotoxicidade, ou se as alterações observadas são decorrentes de um processo de desintoxicação devido ao período prolongado de administração do extrato (BIAVATTI et al., 2004).

Em diversos estudos existe uma associação direta entre a esteatose e o processo inflamatório presente no fígado (KLEINER et al., 2005), sendo que a esteatose pode induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias (ESSER et al., 2014). Embora tenham sido observados focos inflamatórios no fígado, o extrato de guavira mostrou-se interessante quanto à esteatose hepática, apresentando o menor grau no grupo ExCa 500 (Figuras 11 e 12), com diferença estatística em relação aos grupos ExCa 250 e Controle.

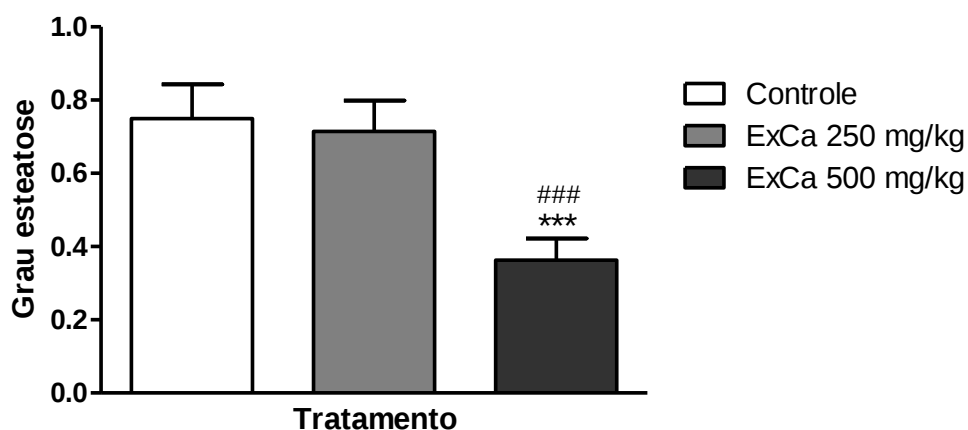


Figura 11. Análise histológica do grau de esteatose no fígado dos animais. ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=7). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. *** $p < 0,001$, em comparação ao grupo controle, ### $p < 0,001$, em comparação ao grupo ExCa 250 mg/Kg.

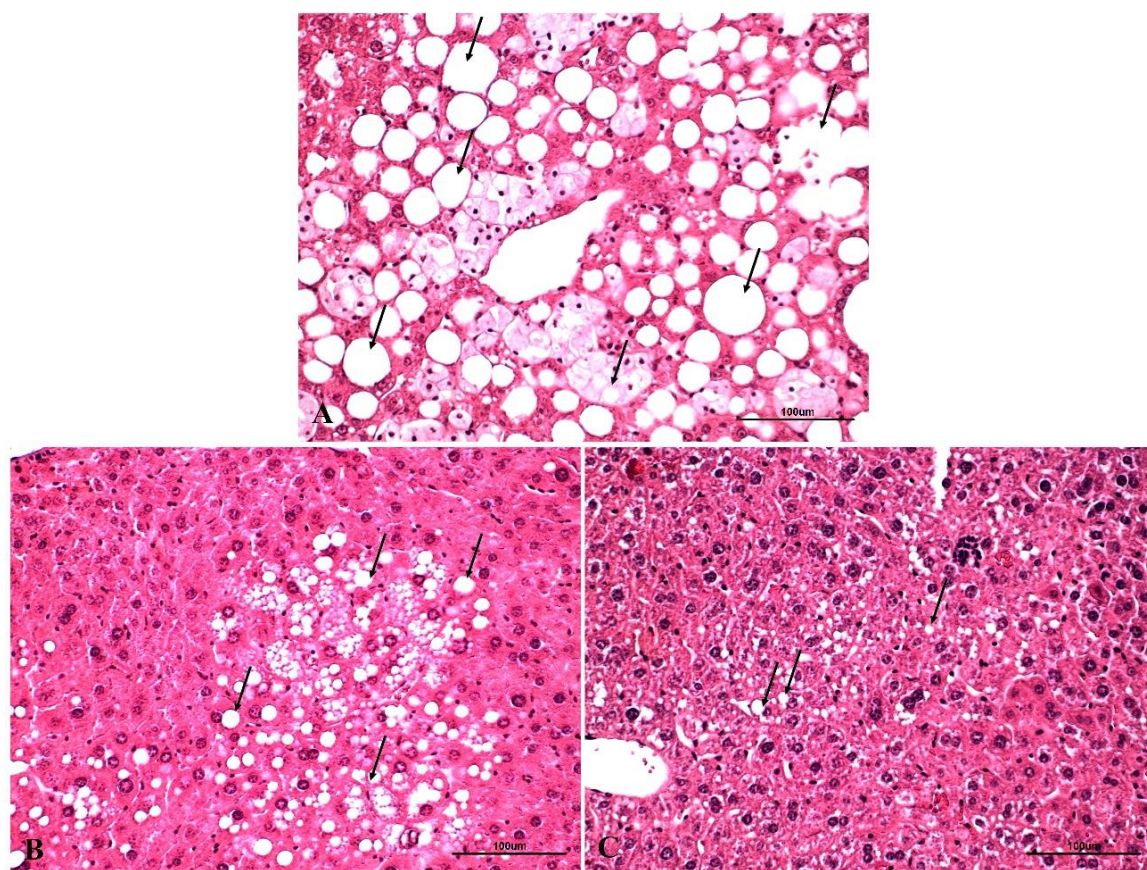


Figura 12. Análise histológica do grau de esteatose no fígado dos animais A) Controle, B) ExCa 250 e C) ExCa 500. Deposição aumentada de triglicerídeos nas células parenquimatosas do fígado (setas). 200x. HE.

A redução da esteatose já foi observada com outras espécies de plantas medicinais, como os frutos de *Phyllanthus emblica*, que reduziram o acúmulo de gordura no fígado de animais que receberam dieta rica em lipídeos (HUANG et al., 2017).

Além da esteatose e inflamação, o estresse oxidativo pode desencadear danos no fígado como a fibrose, assim, alguns compostos dietéticos são capazes de modular a saúde do fígado, aumentando o status antioxidante, como é o caso dos compostos fenólicos, especialmente os flavonoides, presentes na guavira (SOUZA et al., 2017). O destaque fitoquímico se dá pela presença de quercetina e mirricetrina, que também são encontrados nas folhas de *C. adamantium*, relacionadas à prevenção de muitas doenças degenerativas, como doenças hepáticas (FERNANDEZ-PANCHON et al., 2008; FERREIRA et al., 2013; IGNAT; VOLFF; POPA, 2011).

Na análise das lâminas coradas com TM, foram visualizados pontos de fibrose em todos os grupos experimentais e o tratamento com a maior dose do extrato da casca de *C. adamantium* (500 mg/Kg) reduziu a fibrose no fígado dos animais (Figuras 13 e 14).

A fibrose é caracterizada pela presença excessiva de colágeno, para a formação de novas fibras (XIE et al., 2017). A sua formação ocorre devido à um dano crônico do fígado, estando correlacionada com a insuficiência hepática (KAMAL et al., 2017).

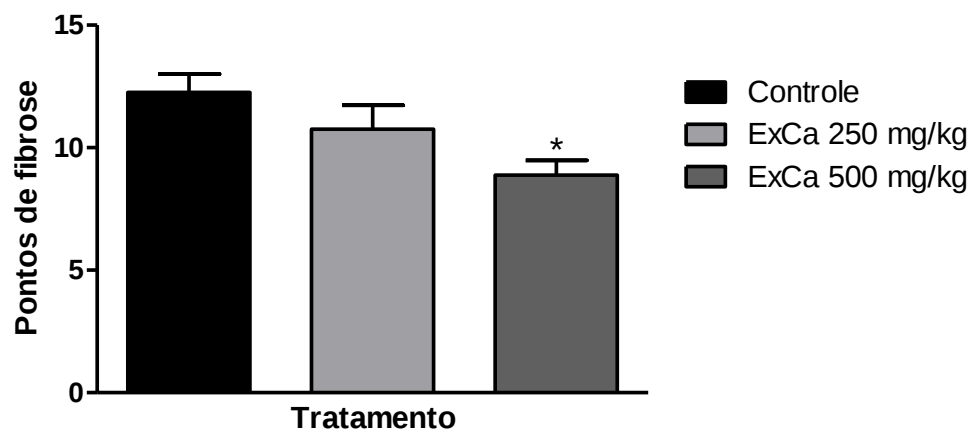


Figura 13. Análise histológica dos pontos de fibrose no fígado dos animais. ExCa - extrato de *C. adamantium*. Os resultados foram expressos como média $\pm$ EPM (n=7). ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$. * $p < 0,05$, em comparação ao grupo controle.

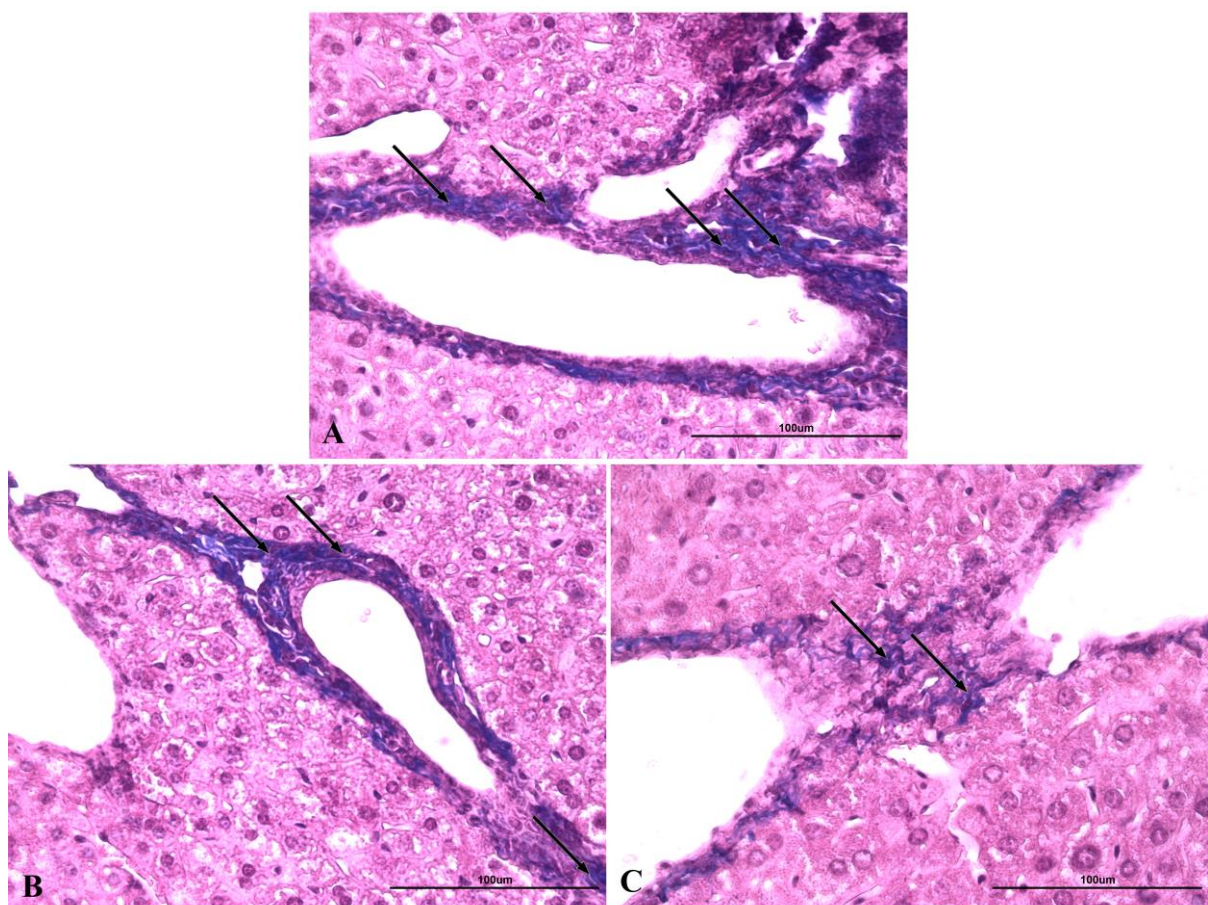


Figura 14. Análise histológica dos pontos de fibrose no fígado dos animais. A) Controle, B) ExCa 250 e C) ExCa 500. Pontos de fibrose (seta preta). 200x. Tricrômio de Masson.

Conforme observado, a maior dose do extrato reduziu a fibrose apresentada pelos animais do grupo controle, indicando um possível efeito hepatoprotetor. Um estudo *in vitro* observou ação hepatoprotetora com a utilização de extratos hidroalcoólicos da polpa e semente de frutos de guabiroba após toxicidade induzida por tetracloreto de carbono em células HepG2, linhagem de hepatoma humano, representando importante ação de desintoxicação dos hepatócitos pela presença de flavonoides nos extratos de *C. adamantium*. Outro possível mecanismo seria a expressão de enzimas citoprotetoras através do Nrf2, que é aumentado com o consumo de compostos fenólicos, protegendo as células de danos oxidativos (DE-OLIVEIRA-FERNANDES et al., 2014).

Estudos ainda indicam que as atividades das plantas medicinais são variadas de acordo com a espécie e os metabólitos presentes. Como exemplo, as folhas de *Vitis coignetiae* também reduziram a fibrose apresentada por animais com danos hepáticos, entretanto, ao contrário do observado com o ExCa 500, o extrato das folhas de *V. coignetiae* não minimizaram a esteatose (TAKAYAMA et al., 2009).

Corroborando como os ensaios com o ExCa 500, o extrato das folhas de *Morus alba* atuou na redução da esteatose e fibrose em animais que receberam dieta rica em gordura (ANN; EO; LIM, 2015). De acordo com os autores, a grande quantidade de compostos fenólicos presentes no extrato pode ter contribuído com a atividade hepatoprotetora, além de ter apresentado um potencial antioxidante (ANN; EO; LIM, 2015).

O mesmo foi descrito por Zarzour et al. (2017) com o extrato de *Phyllanthus Niruri* que apresentou atividade redutora da esteatose, fibrose, além de atuar como anti-inflamatória, o que não foi observado com o extrato da casca de guavira do nosso estudo. Também foram realizados ensaios de atividade antioxidante pelo método DPPH, que indicaram que a *P. niruri* tem potencial redução do estresse oxidativo, estando relacionado com a redução dos danos hepáticos.

O aumento da produção e liberação de citocinas pró-inflamatórias pode ser considerado um marcador da inflamação crônica subclínica. A quantificação de citocinas permite verificar como está a inflamação, contribuindo para a elaboração de uma terapêutica adequada dos pacientes, podendo inclusive reduzir o progresso de algumas comorbidades associadas à obesidade (VOLP et al., 2008; ROSA et al., 2016).

A avaliação de modelos animais de obesidade e de inflamação crônica subclínica indica que há aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias e influxo de macrófagos no tecido adiposo e também nos rins (STEMMER et al., 2012; MORI et al., 2014; MARTÍN et

al., 2015). Ainda, de acordo com Kanda et al. (2006), há o aumento da expressão de MCP-1 durante o processo de esteatose hepática decorrente de DHGNA. Desta forma, por meio do ensaio de citometria de fluxo, foram quantificadas no soro dos animais as citocinas que estão envolvidas no processo inflamatório.

Apesar dos estudos relatarem o aumento da produção de citocinas pró-inflamatórias e redução de citocinas anti-inflamatórias em modelos animais de obesidade, em nosso estudo não observamos alterações na quantificação das citocinas IL-12, IL-10, IL-6, TNF, IFN- γ , MCP-1 (Figura 15).

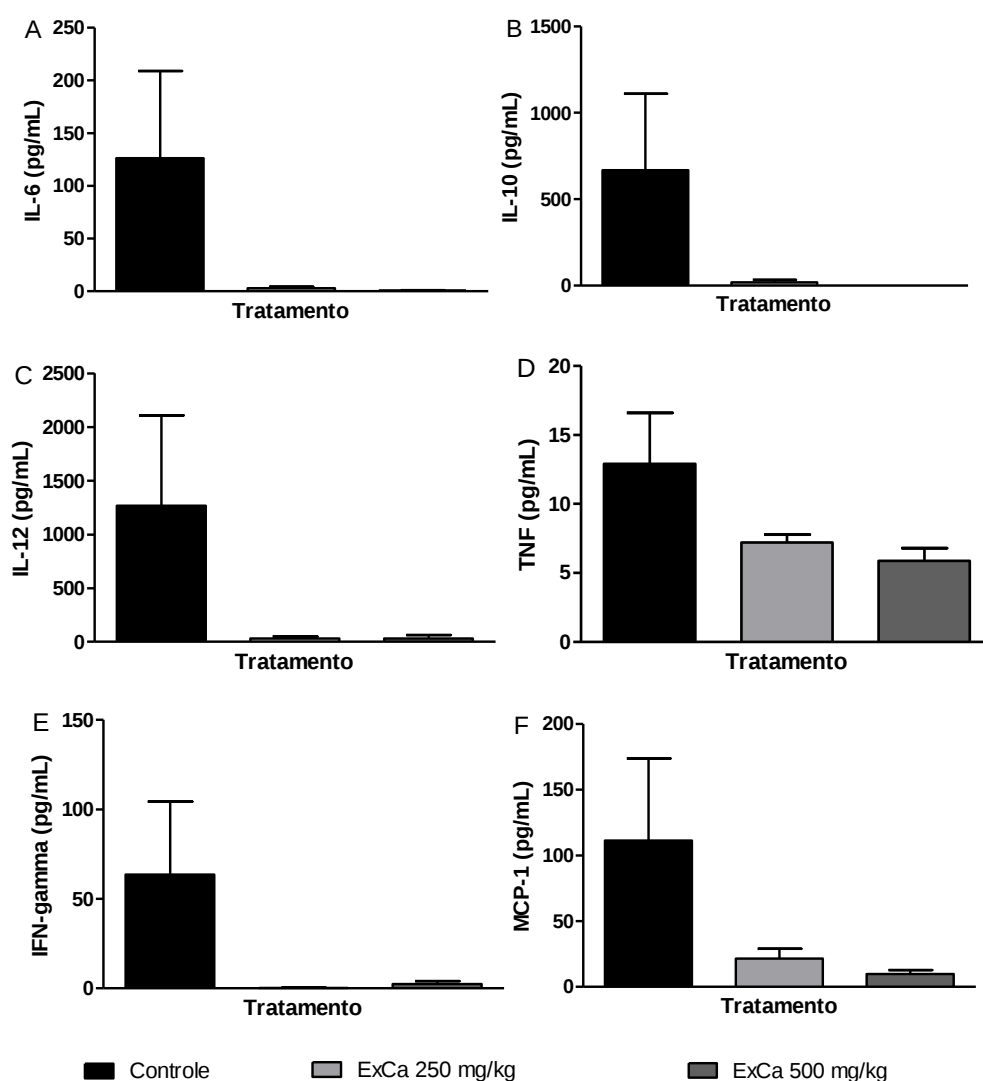


Figura 15: Dosagem de citocinas inflamatórias por meio da citometria de fluxo. A) IL-6, B) IL-10, C) IL-12, D) TNF, E) IFN- γ , F) MCP-1. ANOVA seguida pelo teste de Bonferroni, considerando $p < 0,05$

Na quantificação da citocina IL-6, foi detectado no controle $126,3 \pm 82,7$ pg/mL, enquanto que nos grupos tratados com o ExCa foi quantificado $3,0 \pm 1,4$ pg/mL (ExCa 250

mg/Kg) e $0,7 \pm 0,1$ pg/mL (ExCa 500 mg/Kg), apesar dos menores valores observados com os grupos tratados com o ExCa, essa diferença não foi significativa. Resultados semelhantes foram observados com as demais citocinas.

A IL-10 foi quantificada em $667,6 \pm 442,9$ pg/mL no grupo controle, $17,9 \pm 13,4$ pg/mL no grupo ExCa 250 mg/Kg e não foi detectada no grupo ExCa 500 mg/Kg. A IL-12, no grupo controle, foi quantificada em $1267,0 \pm 841,4$ pg/mL, e $31,1 \pm 18,3$ pg/mL e $32,1 \pm 31,81$ pg/mL nos grupos ExCa 250 e 500 mg/Kg, respectivamente. Na quantificação de TFN observamos $12,9 \pm 3,7$ pg/mL no grupo controle, $7,2 \pm 0,6$ pg/mL no grupo ExCa 250 mg/Kg e $5,9 \pm 0,9$ pg/mL no grupo ExCa 500 mg/Kg.

A análise de citometria de fluxo da apontou a presença de $63,6 \pm 40,9$ pg/mL de IFN- γ no grupo controle, $0,3 \pm 0,2$ pg/mL no grupo ExCa 250 mg/Kg e $2,5 \pm 1,5$ pg/mL no grupo ExCa 500 mg/Kg. Já a quantificação de MCP-1 no grupo controle foi de $111,4 \pm 62,4$ pg/mL e nos grupos ExCa 250 e 500 mg/Kg foi de $21,6 \pm 7,5$ pg/mL e $9,9 \pm 3,1$ pg/mL, respectivamente.

Estudos com outros frutos do Cerrado, como a manga (*Mangifera indica*), observaram que animais alimentados com dieta rica em lipídeos apresentaram aumento da quantidade de TNF e o suco de manga reduziu essa citocina. Enquanto que não houve diferença entre os grupos na produção da citocina anti-inflamatória IL-10 (NATAL et al., 2016).

Ao contrário dos nossos ensaios com o extrato etanólico da casca do fruto de *C. adamantium*, Ferreira et al. (2013) observaram que o extrato de acetato de etila das folhas dessa mesma espécie reduziu a produção de TNF e aumentou a citocina IL-10 em animais com processo inflamatório induzido por carragenina. O extrato aquoso das folhas de outra espécie do mesmo gênero, a *C. xanthocarpa*, reduziu os níveis séricos de IL-1, IL-6, TNF e IFN- γ , além de aumentar os níveis de IL-10 em animais hipocolesterolêmicos (KLAFKE et al., 2015).

Essa diferença de atividade, que foram observadas nas folhas de espécies do gênero *Campomanesia*, mas que não foram observadas em nosso estudo, pode ser devido ao tipo e quantidade de metabólitos presentes. Visto que as partes da planta que apresentaram atividade anti-inflamatória foram as folhas, além do tipo de extrato que foi diferente.

5.2 Atividade antioxidante e quantificação de fenóis e taninos

Os resultados da atividade antioxidante estão representados na Figura 16. A atividade antioxidante *in vitro* aumentou de acordo com a concentração de extrato utilizada, com maior capacidade de inibição do radical livre estável DPPH• acompanhando o crescimento da concentração do extrato hidroetanólico das cascas de guavira utilizadas.

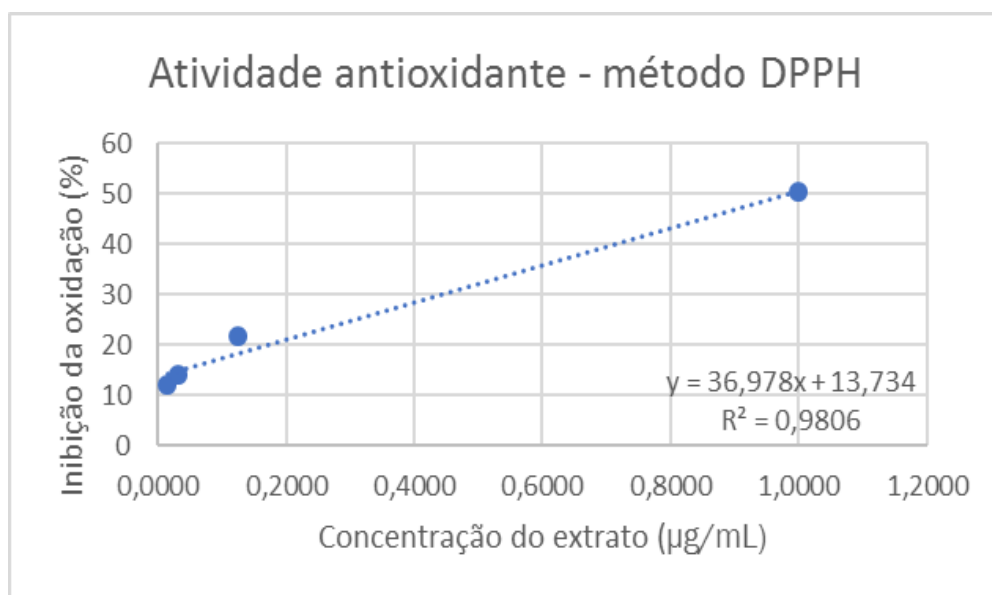


Figura 16. Capacidade de inibição do radical estável DPPH em relação à concentração do extrato de cascas de guavira utilizados.

A atividade antioxidante, acompanhou a quantidade de fenóis de acordo com a concentração do extrato utilizada. Este resultado era esperado, uma vez que os compostos fenólicos são os principais responsáveis pela atividade antioxidante em frutas e vegetais (JACOBO-VELÁZQUEZ; CISNEROS-ZEVALLOS, 2009).

O valor de IC₅₀, quantidade de extrato hidroetanólico das cascas de guavira suficiente para inibir 50% da oxidação do DPPH foi de 980 µg/mL. Quanto menor o valor de IC₅₀, maior a capacidade inibitória do antioxidante (MISHRA; OJHA; CHAUDHURY, 2012), portanto, valores maiores indicam uma menor capacidade antioxidante. Assim, o extrato hidroetanólico das cascas de guavira apresentou um menor potencial antioxidante quando comparado com outros extratos da mesma espécie como o extrato aquoso das raízes que apresentou uma IC₅₀ de 37,3 µg/mL (ESPINDOLA et al., 2016) e o extrato metanólico das cascas (IC₅₀ 163,70 µg/mL) (LESCANO et al., 2018).

O extrato preparado para verificação de fenóis apresentou 26,49 mgGAE/g. Estes resultados são muito superiores aos encontrados por Lescano et al. (2018) no extrato metanólico de cascas de guavira, com 1,35 mgGAE/g e por Naves et al. (2016) de 12,22 mgGAE/g nos frutos de *C. adamantium*.

O conteúdo de fenóis pode ser classificado como baixo, para valores < 1 mgGAE/1g, intermediários, para valores 1-5 mgGAE/g e elevados, para valores superiores a 5 mgGAE/g em matéria fresca. Em matéria seca, o conteúdo de fenóis é classificado como baixo, para valores < 10 mgGAE/g; intermediários, para valores entre 10-50 mgGAE/g e elevados, para valores superiores a 50 mgGAE/g (RUFINO et al., 2010).

Na quantificação de taninos, o extrato apresentou concentração muito superior a outros frutos do Cerrado, como o jambolão. A fruta do jambolão apresentou 0,39 mgTAE/g e o extrato funcional de jambolão apresentou 0,002 mgTAE/g (FARIA; MARQUES; MERCADANTE, 2011) o extrato hidroetanólico das cascas de guavira apresentou 3,70 mgTAE/g. Costa et al. (2015) identificaram que a fração tânica de *Cymbopogon citratus* foi responsável por grande parte da ação antioxidante do fruto. Zhong et al. (2014) corroboram este resultado, onde os taninos condensados apresentaram contribuição importante no potencial antioxidante de *S. bicolor*.

De acordo com os valores obtidos de ensaio de atividade antioxidante, o extrato hidroetanólico das cascas de guavira apresentou baixa atividade antioxidante quando comparado com outros extratos da mesma espécie. Em contrapartida, esse extrato possui elevada concentração de fenóis e taninos, que podem exercer atividades como anti-inflamatório (AMIOT; RIVA; VINET, 2016). Sugere-se então, que as atividades observadas com o ExCa são em decorrência dos metabólitos antioxidantes presentes no extrato da casca de guavira, como os taninos e compostos fenólicos.

6 CONCLUSÃO

A suplementação com o extrato das cascas de *Campomanesia adamantium* (guavira) em camundongos reduziu o ganho de peso corporal, os níveis de glicemia, colesterol total e a esteatose hepática, especialmente na dosagem de 500 mg/kg de peso, que pode estar correlacionado com o potencial antioxidante observado. Assim, sugere-se a aplicação da guavira em estudos futuros envolvendo desordens metabólicas como diabetes ou doenças coronarianas, a fim de verificar seu potencial efeito em modelos animais com doenças pré-existentes..

REFERÊNCIAS

- ABRAHÃO, S. A. et al. Atividade antioxidante in vitro e in vivo de café bebida mole. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 1, p. 127–133, 2012.
- AGGARWAL, B. B.; VIJAYALEKSHMI, R.; SUNG, B. Targeting inflammatory pathways for prevention and therapy of cancer: short-term friend, long-term foe. **Clinical Cancer Research**, v. 15, n. 2, p. 425–430, 2009.
- ALI, M. et al. Essential Role of IL-12 in Angiogenesis in Type 2 Diabetes. **American Journal of Pathology**, v. 187, n. 11, p. 2590-2601, 2017.
- ALMEIDA, M. M. B. et al. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. **Food Research International**, v. 44, n. 7, p. 2155–2159, 1 ago. 2011.
- ALVARADO, S. et al. Peripheral nerve injury is accompanied by chronic transcriptome-wide changes in the mouse prefrontal cortex. **Molecular pain**, v. 9, n. 1, p. 2-12, 2013.
- ALVES, A. M. et al. Ascorbic acid and phenolic contents, antioxidant capacity and flavonoids composition of Brazilian Savannah native fruits. **Food Science and Technology**, v. 37, n. 4, p. 564–569, dez. 2017.
- AMIOT, M. J.; RIVA, C.; VINET, A. Effects of dietary polyphenols on metabolic syndrome features in humans: a systematic review. **Obesity Reviews**, v. 17, n. 7, p. 573-586, 2016.
- ANN, J.; EO, H.; LIM, Y. Mulberry leaves (*Morus alba* L.) ameliorate obesity-induced hepatic lipogenesis, fibrosis, and oxidative stress in high-fat diet-fed mice. **Genes & Nutrition**, v. 10, n. 6, p. 1-13, 2015.
- ARAÚJO-DANTAS, J. et al. Valores de referência de alguns parâmetros fisiológicos de ratos do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá, Estado do Paraná. **Acta Scientiarum. Health Sciences**, v. 28, n. 2, p. 165-170, 2006.
- ARAÚJO, M. C. DE P. M. et al. Acute and sub chronic toxicity study of aqueous extract from the leaves and branches of *Campomanesia velutina* (Cambess) O. Berg. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 201, p. 17–25, 6 abr. 2017.
- ARON-WISNEWSKY, J. et al. Human adipose tissue macrophages: M1 and M2 cell surface markers in subcutaneous and omental depots and after weight loss. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 94, p. 4619-4623, 2009.
- ASGHAR, A.; SHEIKH, N. Role of immune cells in obesity induced low grade inflammation and insulin resistance. **Cellular Immunology**, v. 315, p. 18–26, 1 maio 2017.
- ASTRUP, A. et al. Nutrition transition and its relationship to the development of obesity and related chronic diseases. **Obesity Reviews**, v. 9, p. 48–52, 28 fev. 2008.

BALISTRERI, C. R.; CARUSO, C.; CANDORE, G. The Role of Adipose Tissue and Adipokines in Obesity-Related Inflammatory Diseases. **Mediators of Inflammation**, v. 2010, p. 1-19, 2010.

BAO, P.; LIU, G.; WEI, Y. Association between IL-6 and related risk factors of metabolic syndrome and cardiovascular disease in young rats. **International Journal of Clinical and Experimental Medicine**, v. 8, n. 8, p. 13491-134919, 2015.

BATISTA, A. G. et al. Jaboticaba berry peel intake increases short chain fatty acids production and prevent hepatic steatosis in mice fed high-fat diet. **Journal of Functional Foods**, V. 48, P. 266-274, 2018.

BECHARA, E.; TREVISAN, M. Fontes vegetais naturais de antioxidante. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 689–702, 2009.

BEHMER, O. A.; TOLOSA, E. M. C.; FREITAS-NETO, A. G. **Manual de técnicas para histologia normal e patológica**. São Paulo: Edart, 1976.

BIAVATTI, M. et al. Preliminary studies on *Campomanesia xanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) JF Macbr. aqueous extract: weight control and biochemical parameters. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 93, n. 2–3, p. 385–389, 2004.

BOAS, G. R. V. et al. Preclinical safety evaluation of the ethanolic extract from guavira fruits (*Campomanesia pubescens* (DC) O. BERG) in experimental models of acute and short-term toxicity in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v. 118, p. 1–12, 2018.

BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria* genus. **Food Chemistry**, v. 153, p. 224-233, 2014.

BRAND-MILLER, J. C. et al. Glycemic index and obesity. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 76, n. 1, p. 281S–5S, jul. 2002.

BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT - Food Science and Technology**, v. 28, n. 1, p. 25–30, 1 jan. 1995.

BUCKLEY, J. Availability of high-fat foods might drive the obesity epidemic. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 14, n. 10, p. 574–575, 2018.

CALABRO, P. et al. Release of C-Reactive Protein in Response to Inflammatory Cytokines by Human Adipocytes: Linking Obesity to Vascular Inflammation. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 46, n. 6, p. 1112–1113, 20 set. 2005.

CAMERON, A. et al. **The World Medicines Situation**. Geneva, 2011.

CARDOZO, C. et al. Therapeutic Potential of Brazilian Cerrado *Campomanesia* Species on Metabolic Dysfunctions. **Molecules**, v. 23, n. 9, p. 1-17, 13 set. 2018.

CAREY, R. N.; FELBRUEGGE, C.; WESTGARD, J. O. Evaluation of the adaptation of the glucose oxidase/peroxidase-3-methyl-2-benzothiazoline hydrazone-N, N-dimethylaniline

procedure to the technicon SMA 12/60 and comparison with other automated methods for glucose. **Clinical Medicine**, v. 20, p. 595-602, 1974.

CATELAN, T. B. S. et al. Evaluation of the toxicity and anti-inflammatory activities of the infusion of leaves of *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 226, p. 132–142, 15 nov. 2018.

CHALASANI, N. et al. The Diagnosis and Management of Non-alcoholic Fatty Liver Disease: Practice Guideline by the American Gastroenterological Association, American Association for the Study of Liver Diseases, and American College of Gastroenterology. **Hepatology**, v. 55, n. 6, p. 2005-2023, 2012.

CICERO, A. F. G.; COLLETTI, A. Food and plant bioactives for reducing cardiometabolic disease: How does the evidence stack up? **Trends in Food Science & Technology**. v. 69, p. 192–202, 1 nov. 2017.

CINKAJZLOVÁ, A.; MRÁZ, M.; HALUZÍK, M. Lymphocytes and macrophages in adipose tissue in obesity: markers or makers of subclinical inflammation? *Protoplasma*, v. 254, n. 3, p. 1219–1232, 2017.

COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal). **Princípios éticos na experimentação animal**. São Paulo, 1991.

CORREIA, A. F. et al. Activity of crude extracts from Brazilian cerrado plants against clinically relevant *Candida* species. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 16, p. 1-9, 2016.

COSTA, G. et al. Flavan hetero-dimers in the *Cymbopogon citratus* infusion tannin fraction and their contribution to the antioxidant activity. **Food & Function**, v. 6, n. 3, p. 932–937, 11 mar. 2015.

COUSSENS, L. M.; WERB, Z. Inflammation and cancer. **Nature**, v. 420, n. 6917, p. 860-867, 2002.

COUTINHO, I. D. et al. Determination of phenolic compounds and evaluation of antioxidant capacity of *Campomanesia adamantium* leaves. **Eclética Química**, v. 33, n. 4, p. 53–60, dez. 2008.

COUTINHO, I. D. et al. Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS) and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg (Guavira). **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, n. 4, p. 767–776, 2009.

COUTINHO, I. D. et al. Influência da variação sazonal nos teores de flavonóides e atividade antioxidante das folhas de *Campomanesia adamantium* (Cambess.) O. Berg, Myrtaceae. **Rev. Bras. Farmacogn**, v. 20, n. 3, p. 322–327, 2010.

CZEMPLIK, M. et al. Therapeutic strategies of plant-derived compounds for diabetes via regulation of monocyte chemoattractant protein-1. **Current medicinal chemistry**, v. 24, n. 14, p. 1453–1468, 2017.

DANDONA, P. et al. Metabolic Syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. **Circulation**, v. 111, n. 11, p. 1448-1454, 22 mar. 2005.

DECLEVES, A.; SHARMA, K. Obesity and kidney disease: differential effects of obesity on adipose tissue and kidney inflammation and fibrosis. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, v. 24, n. 1, p. 28-36, 2015.

DESSIMONI-PINTO, N. A. V. et al. Jaboticaba peel for jelly preparation: an alternative technology. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 31, n. 4, p. 864-869, 2011.

DE-OLIVEIRA-FERNANDES, T. et al. Campomanesia adamantium (Myrtaceae) fruits protect HEPG2 cells against carbon tetrachloride-induced toxicity. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 184–193, 16 dez. 2014.

DINIZ, M. F. F. M. et al. Haematological and biochemical parameter standardization of swiss mice and wistar rats. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, v. 10, n. 2, p. 171-176, 2006.

DODSON, M.; DARLEY-USMAR, V.; ZHANG, J. Cellular Metabolic and Autophagic Pathways: Traffic Control by Redox Signaling. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 63, p. 207-221, 2013.

DONADO-PESTANA, C. M.; BELCHIOR, T.; GENOVESE, M.I. Phenolic compounds from cagaita (*Eugenia dysenterica* DC.) fruit prevent body weight and fat mass gain induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 77, p. 177-185, 2015.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. Cagaita fruit (*Eugenia dysenterica* DC.) and obesity: Role of polyphenols on already established obesity. **Food Research International**, v. 103, p. 40-47, 2018a.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. Phenolic compounds from cambuci (*Campomanesia phaea* O. Berg) fruit attenuate glucose intolerance and adipose tissue inflammation induced by a high-fat, high-sucrose diet. **Food Research International**, v. 69, p. 170-178, 2015.

DONADO-PESTANA, C. M. et al. Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. **Current Opinion in Food Science**, v. 19, p. 42-49, 2018b.

ŘURAČKOVÁ, Z. Some current insights into oxidative stress. **Physiological Research**, v. 59, n. 4, p. 459-469, 2010.

DURANTE, M. et al. Seeds of pomegranate, tomato and grapes: An underestimated source of natural bioactive molecules and antioxidants from agri-food by-products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 63, p. 65–72, 1 out. 2017.

DURIGAN, G. **Plantas do cerrado paulista: imagens de uma paisagem ameaçada**. [s.l.] Páginas & Letras Editora e Gráfica, 2004.

EL-KASHAK, W. A. et al. Phenolic metabolites, biological activities, and isolated compounds of *Terminalia muelleri* extract. **Pharmaceutical Biology**, v. 55, n. 1, p. 2277-2284, 2017.

ERHARDT, J. G. et al. Combined Measurement of Ferritin, Soluble Transferrin Receptor, Retinol Binding Protein, and C-Reactive Protein by an Inexpensive, Sensitive, and Simple Sandwich Enzyme-Linked Immunosorbent Assay Technique. **The Journal of Nutrition**, v. 134, n. 11, p. 3127-3132, 2004.

ESPINDOLA, P. P. DE T. et al. Antioxidant and Antihyperlipidemic Effects of *Campomanesia adamantium* O. Berg Root. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-8, 2016.

ESSER, N. et al. Inflammation as a link between obesity, metabolic syndrome and type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 105, n. 2, p. 141-150, 2014.

FAHMY, N. M. et al. Protective effect of *Terminalia muelleri* against carbon tetrachloride-induced hepato and nephro-toxicity in mice and characterization of its bioactive constituents. **Pharmaceutical Biology**, v. 54, n. 2, p. 303–313, 1 fev. 2016.

FARIA, A. F.; MARQUES, M. C.; MERCADANTE, A. Z. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1571–1578, 15 jun. 2011.

FEDERICO, A. et al. Chronic inflammation and oxidative stress in human carcinogenesis. **International Journal of Cancer**, v. 121, n. 11, p. 2381–2386, 2007.

FENG, R. et al. High carbohydrate intake from starchy foods is positively associated with metabolic disorders: a Cohort Study from a Chinese population. **Scientific Reports**, v. 5, p. 1-8, 19 nov. 2015.

FERIANI, A. et al. Protective effect of *Globularia alypum* leaves against deltamethrin-induced nephrotoxicity in rats and determination of its bioactive compounds using high-performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem quadrupole–time-of-flight mass spectrometry. **Journal of Functional Foods**, v. 32, p. 139–148, 1 maio 2017.

FERNANDEZ-PANCHON, M. S. et al. Antioxidant activity of phenolic compounds: from in vitro results to in vivo evidence. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 48, n. 7, p. 649–671, ago. 2008.

FERREIRA, L. C. et al. Anti-inflammatory and antinociceptive activities of *Campomanesia adamantium*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 145, n. 1, p. 100–108, 9 jan. 2013.

FINAUD, J.; LAC, G.; FILAIRE, E. Oxidative stress. **Sports medicine**, v. 36, n. 4, p. 327–358, 2006.

FLEG, H. M. An investigation of the determination of serum cholesterol by an enzymatic method. **Clinical Biochemistry**, v. 10, p. 79-84, 1973

FLEMING, B. D. et al. The generation of macrophages with anti-inflammatory activity in the absence of STAT6 signaling. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 98, n. 3, p. 395-407, 2015.

FONSECA-ALANIZ, M. H. et al. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 216–229, abr. 2006.

FRANÇOZO, R. D. et al. Habitat loss and the effectiveness of protected areas in the Cerrado Biodiversity Hotspot. **Brazilian Journal of Nature Conservation**, v. 13, p. 35-40, 2015.

FRESNO, M.; ALVAREZ, R.; CUESTA, N. Toll-like receptors, inflammation, metabolism and obesity. **Archives Of Physiology And Biochemistry**, v. 117, n. 3, p. 151–164, jul. 2011.

FRIED, S. K.; BUNKIN, D. A.; GREENBERG, A. S. Omental and subcutaneous adipose tissues of obese subjects release interleukin-6: Depot difference and regulation by glucocorticoid. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 83, n. 3, p. 847–850, 1998.

FRÜHBECK, G. et al. The adipocyte: a model for integration of endocrine and metabolic signaling in energy metabolism regulation. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, v. 280, n. 6, p. E827-847, jun. 2001.

GOLDNER, J. A modification of the masson trichrome technique for routine laboratory purposes. **The American Journal of Pathology**, v. 14, n. 2, p. 237-243, 1938.

GUTTERIDGE, J. M. C.; HALLIWELL, B. Antioxidants: Molecules, medicines, and myths. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 393, n. 4, p. 561–564, 19 mar. 2010.

HAGEN, J. H.; HAGEN, P. B. An enzymatic method for the estimation of glicerol in blood and its use to determine the effect of noradrenaline on the concentration of glycerol in blood. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 40, p. 1129-39, 1962.

HAGITA, S. et al. Adipose Inflammation Initiates Recruitment of Leukocytes to Mouse Femoral Artery: Role of Adipo-Vascular Axis in Chronic Inflammation. **Plos One**, v. 6, n. 5, p. 1-11, 2011.

HALLIWELL, B. Free radicals and antioxidants—quo vadis? **Trends in pharmacological sciences**, v. 32, n. 3, p. 125–130, 2011.

HIDEBRAND et al. Animal models in the evaluation of inflammation caused by carbohydrate-rich diets: brief scientific literature review. **International Journal of Development Research (IJDR)**, v. 7, set. 2017.

HOLDSWORTH, S. R.; GAN, P. Cytokines: names and numbers you should care about. **Clinical Journal of the American Society of Nephrology**, v. 10, n. 12, p. 2243-2254, 2015.

HOSHINO, T.; WILTROUT, R. H.; YOUNG, H. A. IL-18 is a potent coinducer of IL-13 in NK and T cells: a new potential role for IL-18 in modulating the immune response. **Journal of Immunology**, v. 162, n. 9, p. 5070–5077, 1999.

HU, X. et al. IFN-gamma suppresses IL-10 production and synergizes with TLR2 by regulating GSK3 and CREB/AP-1 proteins. **Immunity**, v. 24, n. 5, p. 563-574, 2006.

HUANG, C. Z. et al. The hepatoprotective effect of *Phyllanthus emblica* L. fruit on high fat diet-induced non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in SD rats. **Food & Function**, v. 8, n. 2, p. 842-850, 2017.

HUNTER, C. A.; JONES, S. A. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. **Nature Immunology**, v. 16, n. 5, p. 448-457, 2015.

HUSSAIN, T. et al. Oxidative Stress and Inflammation: What Polyphenols Can Do for Us? **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-9, 2016

IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, v. 126, n. 4, p. 1821–1835, 15 jun. 2011.

GONÇALVES, A. E. S. S.; LAJOLO, F. M.; GENOVESE, M. Chemical composition and antioxidant/antidiabetic potential of brazilian native fruits and commercial frozen pulps. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, p. 4666-4674, 2010.

JACOBO-VELÁZQUEZ, D. A.; CISNEROS-ZEVALLOS, L. Correlations of Antioxidant Activity against Phenolic Content Revisited: A New Approach in Data Analysis for Food and Medicinal Plants. **Journal of Food Science**, v. 74, n. 9, p. R107–R113, 1 nov. 2009.

JAMES, W. P. T. The epidemiology of obesity: the size of the problem. **Journal of Internal Medicine**, v. 263, n. 4, p. 336–352, abr. 2008.

JIN, J.; HAN, X.; YU, Q. Interleukin-6 induces the generation of IL-10-Producing Tr1 cells and suppresses autoimmune tissue inflammation. **Journal of Autoimmunity**, v. 40, p. 28-44, 2013.

JURDAK, N.; LICHTENSTEIN, A. H.; KANAREK, R. B. Diet-induced obesity and spatial cognition in young male rats. **Nutritional Neuroscience**, v. 11, n. 2, p. 48–54, abr. 2008.

KAMAL, S. et al. Beneficial effects of Statins on the rates of hepatic fibrosis, hepatic decompensation, and mortality in chronic liver disease: a systematic review and meta-analysis. **The American Journal of Gastroenterology**, v. 112, n. 10, p. 1495-1505, 2017.

KANDA, H. et al. MCP-1 contributes to macrophage infiltration into adipose tissue, insulin resistance, and hepatic steatosis in obesity. **Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 6, p. 494-505, 2006.

KAPLANSKI, G. et al. IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. **TRENDS in Immunology**, v. 24, n. 1, p. 25-29, 2003.

KASOTE, D. Flaxseed phenolics as natural antioxidants. **International Food Research Journal**, v. 20, n. 1, p. 27-34, 2013.

KAUR, J. A comprehensive review on metabolic syndrome. **Cardiology Research and Practice**, v. 2014, p. 1-21, mar. 2014.

KIRSCH, R. et al. Rodent nutritional model of non-alcoholic steatohepatitis: Species, strain and sex difference studies. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 18, n. 11, p. 1272-1282, 2003.

KLAFKE, J. Z. et al. Antiplatelet, Antithrombotic, and Fibrinolytic Activities of *Campomanesia xanthocarpa*. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2012, p. 1-8, 2012.

KLAFKE, J. Z. et al. Effects of *Campomanesia xanthocarpa* on biochemical, hematological and oxidative stress parameters in hypercholesterolemic patients. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 127, n. 2, p. 299–305, fev. 2010.

KLAFKE, J. Z. et al. Study of oxidative and inflammatory parameters in ldlr-ko mice treated with a hypercholesterolemic diet: Comparison between the use of *Campomanesia xanthocarpa* and acetylsalicylic acid. **Phytomedicine**, v. 23, n. 11, p. 1227-1234, 2015.

KLEINER, D. E. et al. Design and Validation of a Histological Scoring System for Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Hepatology**, v. 41, n. 6, p. 1313-1321, 2005.

KOLB, H.; MANDRUP-POULSEN, T. The global diabetes epidemic as a consequence of lifestyle-induced low-grade inflammation. **Diabetologia**, v. 53, n. 1, p. 10–20, 1 jan. 2010.

KUMAR, E. K.; HAQUE, N.; PRABHU, N. P. Kinetics of Protein Fibril Formation: Methods and Mechanisms. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 100, p. 3-10, 2016.

LACERDA, D. S.; BOCK, P. M.; FUNCHAL, C. Consumo exacerbado de lipídeos provoca dano celular em algumas doenças metabólicas e cardiovasculares. **Nutrire**, v. 40, n. 2, p. 200–213, 2015.

LEE, Y.-M. et al. Dietary Anthocyanins against Obesity and Inflammation. **Nutrients**, v. 9, n. 10, p. 1089, out. 2017.

LEITE-LEGATTI, A. V. et al. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49, p. 596-603, 2012.

LESCANO, C. H. et al. Effect of Polyphenols From *Campomanesia adamantium* on Platelet Aggregation and Inhibition of Cyclooxygenases: Molecular Docking and in Vitro Analysis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, p. 1-13, 12 jun. 2018.

LENUCCI, M. S. et al. Enzyme-aided extraction of lycopene from high-pigment tomato cultivars by supercritical carbon dioxide. **Food chemistry**, v. 170, p. 193–202, 2015.

LIN, W.-W.; KARIN, M. A cytokine-mediated link between innate immunity, inflammation, and cancer. **The Journal of clinical investigation**, v. 117, n. 5, p. 1175–1183, 2007.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil. **Nova Odessa: Editora Plantarum 352p.-col. illus.. Por Geog**, v. 4, 1992.

LUDWIG, D. S. et al. High glycemic index foods, overeating, and obesity. **Pediatrics**, v. 103, n. 3, p. 1-6, mar. 1999.

LUNA, L. G. **Manual of the histologic staining methods of the armed forces institute of pathology**. 3. ed. New York: McGraw Hill, 1968.

MALTA, L. G. et al. In vivo analysis of antigenotoxic and antimutagenic properties of two Brazilian Cerrado fruits and the identification of phenolic phytochemicals. **Food Research International**, v. 49, p. 604-611, 2012.

MAREEDU, R.; MIGRINO, R. Q. **Um Guia sobre Amiloidose AL (de cadeias leves)**. 2016. Disponível em: <http://www.amyloidosis.org/wp-content/uploads/2017/03/Physicians-Guide-AL-2016_Port.pdf>. Acesso em: 15 fev 2019.

MARQUES-LOPES, I.; MARTI, A.; MORENO-ALIAGA, M. J.; MARTÍNEZ, A. Aspectos genéticos da obesidade. *Revista de Nutrição*, v. 17, n. 3, p. 327-338, 2004.

MARTIN, C. K. et al. Change in food cravings, food preferences, and appetite during a low-carbohydrate and low-fat diet. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, v. 19, n. 10, p. 1963–1970, out. 2011.

MARTÍN, R. et al. *Faecalibacterium prausnitzii* prevents physiological damages in a chronic low-grade inflammation murine model. *BMC Microbiology*, v. 15, p. 1-12, 2015.

MASI, L. N. et al. Combination of a high-fat diet with sweetened condensed milk exacerbates inflammation and insulin resistance induced by each separately in mice. **Scientific Reports**, v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017.

MCCRACKEN, E.; MONAGHAN, M.; SREENIVASAN, S. Pathophysiology of the metabolic syndrome. **Clinics in Dermatology**, v. 36, n. 1, p. 14-20, 2018.

MENDONÇA, L. M. V. L. et al. Caracterização da composição química e do rendimento dos resíduos industriais do limão Tahiti (*Citrus latifolia* Tanaka. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 4, p. 870-874, 2006.

MICHELIN, D. C. et al. Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos vegetais. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 15, n. 4, p. 316-320, 2005.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, v. 130, n. 4, p. 1036–1043, 15 fev. 2012.

MOGHADAM, A. R. et al. Pre-administration of turmeric prevents methotrexate-induced liver toxicity and oxidative stress. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 15, p. 1-13, 2015.

MOGHADDAM, A. S. et al. Macrophage plasticity, polarization and function in health and disease. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, n. 9, p. 6425-6440, 2018.

MORI, J. et al. Angiotensin 1-7 mediates renoprotection against diabetic nephropathy by reducing oxidative stress, inflammation, and lipotoxicity. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 306, n. 8, p. 812-821, 2014.

MOSSER, D. M.; ZHANG, X. Interleukin-10: new perspectives on an old cytokine. **Immunological Reviews**, v. 226, p. 205-218, 2008.

MYERS, J. L.; ALLEN, J. C. Nutrition and Inflammation: Insights on Dietary Pattern, Obesity, and Asthma. **American Journal of Lifestyle Medicine**, v. 6, n. 1, p. 14-17, 1 jan. 2012.

NASCIMENTO, O. V. et al. Effects of diet supplementation with Camu-camu (*Myrciaria dubia* HBK McVaugh) fruit in a rat model of diet induced obesity. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 85, p. 355-363, 2013.

NATAL, D. I. G. et al. *Ubá* mango juice intake decreases adiposity and inflammation in high-fat diet-induced obese Wistar rats. **Nutrition**, v. 32, n. 9, p. 1011-1018, 2016.

NAVARRO, V. J. et al. Liver injury from herbal and dietary supplements. **Hepatology**, v. 65, n. 1, p. 363–373, 1 jan. 2017.

NAVES, M. M. V. et al. Ascorbic Acid Content, Phenolic Compounds and Antioxidant Capacity of Brazilian Savannah Native Fruits. **The FASEB Journal**, v. 30, n. 1_supplement, p. 1176.5-1176.5, 1 abr. 2016.

NETO, G. G.; MORAIS, R. DE. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, n. 4, p. 561–584, 2003.

NOURSHARGH, S.; ALON, R. Leukocyte migration into inflamed tissues. **Immunity**, v. 41, n. 5, p. 694–707, 2014.

NATIONAL RESEARCH COUNCIL - NRC. **Nutrient requirements of beef cattle**. 7.ed. Washington, D.C.: National Academy Press, 1996. 242p

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DE SAÚDE/UNITED NATIONS CHILDREN'S FOUNDATION (OMS/UNICEF). **Cuidados Primários de Saúde**: relatório da Conferência Internacional sobre Cuidados Primários da Saúde, Alma-Ata, URSS, 6 a 12 de setembro de 1978. Brasília: Ministério da Saúde, 1979.

OZCAN, A.; OGUN, M. Basic Principles and Clinical Significance of Oxidative Stress. In: GOWDER, S. J. T. (Ed.). **Biochemistry of Reactive Oxygen and Nitrogen Species**. 2015. Cap. 3, pp. 37-58.

PARK, S. et al. Bariatric surgery can reduce albuminuria in patients with severe obesity and normal kidney function by reducing systemic inflammation. **Obesity surgery**, v. 28, n. 3, p. 831–837, 2018.

PEREIRA, M. C. et al. Characterization and Antioxidant Potential of Brazilian Fruits from the Myrtaceae Family. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 3061-3067, 2012.

PEREIRA, S. S.; ALVAREZ-LEITE, J. I. Low-Grade Inflammation, Obesity, and Diabetes. **Current Obesity Reports**, v. 3, p. 422-431, 2014.

PERWEZ HUSSAIN, S.; HARRIS, C. C. Inflammation and cancer: an ancient link with novel potentials. **International journal of cancer**, v. 121, n. 11, p. 2373–2380, 2007.

PETERSEN, K. F.; SHULMAN, G. I. Etiology of Insulin Resistance. **The American Journal of Medicine**, v. 119, n. 5, Supplement 1, p. S10–S16, 1 maio 2006.

POLACOW, V. O.; JUNIOR, L.; H, A. Dietas hiperglicídicas: efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, n. 3, p. 389–400, abr. 2007.

POYTON, R. O.; BALL, K. A.; CASTELLO, P. R. Mitochondrial generation of free radicals and hypoxic signaling. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, v. 20, n. 7, p. 332–340, set. 2009.

QUIJANO, C. et al. Interplay between oxidant species and energy metabolism. **Redox Biology**, v. 8, p. 28–42, 2016.

RAHAL, A. et al. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1–19, 2014.

RAUCH, I.; MULLER, M.; DECKER, T. The regulation of inflammation by interferons and their STATs. **JAK-STAT**, v. 2, n. 1, p. 1–13, 2013.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; CURTIS, H. **Biologia Vegetal**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2007.

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

REUTER, S. et al. Oxidative stress, inflammation, and cancer: how are they linked? **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, n. 11, p. 1603–1616, 1 dez. 2010.

RIBEIRO, V. P. et al. Brazilian medicinal plants with corroborated anti-inflammatory activities: a review. **Pharmaceutical Biology**, v. 56, n. 1, p. 253–268, 2018.

RIDKER, P. M. et al. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. **New England journal of medicine**, v. 347, n. 20, p. 1557–1565, 2002.

ROSA, D. D. et al. Kefir reduces insulin resistance and inflammatory cytokine expression 1 in animal model of the metabolic syndrome. **Food & Function**, v. 7, n. 8, p. 3390–3401, 2016.

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

SÁNCHEZ-TAINTA, A. et al. Nutritional adequacy according to carbohydrates and fat quality. **European Journal of Nutrition**, v. 55, n. 1, p. 93–106, fev. 2016.

SCHELLER, J. et al. The pro- and anti-inflammatory properties of the cytokine interleukin-6. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 1813, n. 5, p. 878–88, 2011.

SCHETTER, A. J.; HEEGAARD, N. H.; HARRIS, C. C. Inflammation and cancer: interweaving microRNA, free radical, cytokine and p53 pathways. **Carcinogenesis**, v. 31, n. 1, p. 37–49, 2009.

SCHOTT, H. C.; METRE, D. C.; DIVERS, T. J. Doenças do sistema renal. IN: SMITH, B. P. **Medicina interna de grandes animais**. 3. ed. São Paulo: Editora Manole, 2006. pp. 824-872.

SERHAN, C. N.; CHIANG, N.; DALLI, J. The resolution code of acute inflammation: novel pro-resolving lipid mediators in resolution. **Seminars in immunology**, v. 27, n. 3, p. 200-215, 2015

SHARMA, H.; KUMAR, A. Ethnobotanical studies on medicinal plants of Rajasthan (India): A review. **Journal of Medicinal Plants Research**, v. 5, n. 7, p. 1107-1112, 2011.

SHAW, O. W. et al. The effect of diet-induced obesity on the inflammatory phenotype of non-adipose-resident macrophages in an in vivo model of gout. **Rheumatology**, v. 53, p. 1901-1905, 2014.

SHIN, S. M.; YANG, J. H.; KI, S. H. Role of the Nrf2-ARE pathway in liver diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2013, p. 763257, 2013.

SHOELSON, S. E.; LEE, J.; GOLDFINE, A. B. Inflammation and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 116, n. 7, p. 1793–1801, 3 jul. 2006.

SILVA-FIGUEIREDO, P. et al. An Overview of Novel Dietary Supplements and Food Ingredients in Patients with Metabolic Syndrome and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **Molecules**, v. 23, n. 4, p. 1-31, 11 abr. 2018.

SIRI-TARINO, P. W. et al. Saturated fat, carbohydrate, and cardiovascular disease. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v. 91, n. 3, p. 502–509, mar. 2010.

SMERIGLIO, A. et al. Proanthocyanidins and hydrolysable tannins: occurrence, dietary intake and pharmacological effects. **British Journal of Pharmacology**, v. 174, n. 11, p. 1244-1262, 2017.

SOMANI, S. M.; HUSAIN, K.; SCHLORFF, E. C. Response of antioxidant system to physical and chemical stress. In: BASKIN, S.; SALEM, H. (Eds.). **Oxidants, antioxidants and free radicals**. [s.l.] Routledge, 2017. p. 125–141.

SOUZA, J. C. DE et al. Toxicological analysis and antihyperalgesic, antidepressant, and anti-inflammatory effects of *Campomanesia adamantium* fruit barks. **Nutritional Neuroscience**, v. 20, n. 1, p. 23–31, 2 jan. 2017.

SPERETTA, G. F. F.; LEITE, R. D.; DUARTE, A. C. G. O. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF-alfa e IL-10 Obesity, inflammation and exercise: focus on TNF-alpha and IL-10. **Revista HUPE**, v. 13, n. 1, p. 61-69, 2014.

SRIKANTHAN, K. et al. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. **International Journal of Medical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 25-38, 2016.

STEMMER, K. et al. High-fat-diet-induced obesity causes an inflammatory and tumor-promoting microenvironment in the rat kidney. **Disease Models & Mechanisms**, v. 5, n. 5, p. 627-635, 2012.

STONE, K. D.; PRUSSIN, C.; METCALFE, D. D. IgE, mast cells, basophils, and eosinophils. **The Journal of Allergy and Clinical Immunology**, v. 125, suppl. 2, p. 73-80, 2010.

STRISSEL, K. J. et al. T Cell Recruitment and Th1 Polarization in Adipose Tissue During Diet-Induced Obesity in C57BL/6 mice. **Obesity (Silver Spring)**, v. 18, n. 10, p. 1918-1925, 2010.

SU, J. et al. Anti-hyperuricemic and nephroprotective effects of Rhizoma *Dioscoreae septemlobae* extracts and its main component dioscin via regulation of mOAT1, mURAT1 and mOCT2 in hypertensive mice. **Archives of Pharmacal Research**, v. 37, n. 10, p. 1336–1344, out. 2014.

SUÁREZ-ÁLVAREZ, K. et al. Serum IL-12 Is Increased in Mexican Obese Subjects and Associated with Low-Grade Inflammation and Obesity-Related Parameters. **Mediators of Inflammation**, v. 2013, p. 1-8, 2013.

TAKAYAMA, F. et al. Beneficial Effects of *Vitis coignetiae* Pulliat Leaves on Nonalcoholic Steatohepatitis in a Rat Model. **Acta Medica Okayama**, v. 63, n. 2, p. 105-111, 2009.

VALLILO, M. I. et al. Chemical composition of *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.Berg' fruits. **Food Science and Technology**, v. 26, n. 4, p. 805–810, dez. 2006.

VASKO, R. et al. Endothelial peroxisomal dysfunction and impaired pexophagy promotes oxidative damage in lipopolysaccharide-induced acute kidney injury. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 19, n. 3, p. 211-230, 2013.

VERRI, W. A. et al. Hypernociceptive role of cytokines and chemokines: Targets for analgesic drug development? **Pharmacology & Therapeutics**, v. 112, n. 1, p. 116-138, 2006.

VERRI, W. A. et al. Nociceptive effect of subcutaneously injected interleukin-12 is mediated by Endothelin acting on ETB receptors in rats. **Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics**, v. 315, n. 2, p. 609-615, 2005.

VISCARDI, D. Z. et al. Seed and peel essential oils obtained from *Campomanesia adamantium* fruit inhibit inflammatory and pain parameters in rodents. **PLOS ONE**, v. 12, n. 2, p. e0157107, 21 fev. 2017.

VOLP, A. C. P. et al. Inflammation biomarkers capacity in predicting the metabolic syndrome. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 52, n. 3, p. 537-549, 2008.

VON-RUESTEN, A. et al. Diet and risk of chronic diseases: results from the first 8 years of follow-up in the EPIC-Potsdam study. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 67, n. 4, p. 412–419, abr. 2013.

VORSTER, H. H.; NELL, T. A. Make starchy foods the basis of most meals. **South African Journal of Clinical Nutrition**, v. 14, n. 3, 17-24, 2001.

WATFORD, W. T. et al. Signaling by IL-12 and IL-23 and the immunoregulatory roles of STAT4. **Immunological Reviews**, v. 202, p. 139-156, 2004.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Adults that are overweight or obese, 2016. Disponível em: <<https://ourworldindata.org/obesity>>. Acesso em: 07 mar. 2020.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Obesity and overweight, 2020. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em: 07 mar. 2020.

WU, X.-H. et al. Riparoside B and timosaponin J, two steroidal glycosides from *Smilax riparia*, resist to hyperuricemia based on URAT1 in hyperuricemic mice. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, v. 21, n. 10, p. 1196–1201, 15 set. 2014.

XIE, S. R. et al. Effects and mechanism of adenovirus-mediated phosphatase and tension homologue deleted on chromosome ten gene on collagen deposition in rat liver fibrosis. **World Journal of Gastroenterology**, v. 23, n. 32, p. 5904-5912, 2017.

YUMUK, V. et al. European Guidelines for Obesity Management in Adults. **Obesity Facts**, v. 8, n. 6, p. 402–424, dez. 2015.

ZAPPI, D. C. et al. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v. 66, n. 4, p. 1085-1113, 2015.

ZARGAR, R. et al. Protective and ameliorative effect of sea buckthorn leaf extract supplementation on lead induced hemato-biochemical alterations in Wistar rats. **Veterinary World**, v. 9, n. 9, p. 929–934, set. 2016.

ZARZOUR, R. H. A. et al. *Phyllanthus Niruri* Standardized Extract Alleviates the Progression of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease and Decreases Atherosclerotic Risk in Sprague–Dawley Rats. **Nutrients**, v. 9, n. 766, p. 1-19, 2017.

ZHANG, H.; TSAO, R. Dietary polyphenols, oxidative stress and antioxidant and anti-inflammatory effects. **Food microbiology • Functional foods and nutrition**, v. 8, p. 33–42, 1 abr. 2016.

ZHONG, K. et al. Antioxidant and Cytoprotective Activities of Flavonoid Glycosides-rich Extract from the Leaves of *Zanthoxylum bungeanum*. **Journal of Food and Nutrition Research, Journal of Food and Nutrition Research**, v. 2, n. 7, p. 349–356, 23 jan. 2014.



ISSN: 2230-9926

Available online at <http://www.journalijdr.com>

IJDR

International Journal of Development Research
Vol. 09, Issue, 11, pp. 31560-31565, November, 2019



RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

ORAL SUPPLEMENTATION WITH *CAMPOMANESIA ADAMANTIUM* PEEL EXTRACT: EFFECT ON METABOLIC AND INFLAMMATORY PROFILES IN MICE

*¹Amariles D. Ramires, ¹Elisvânia F. Santos, ¹Cacilda R. Hildebrand, ¹Jessica A. I. Muller, ¹Adriana C. G. Menezes, ²Doroty M. Dourado, ¹Rodrigo J. Oliveira and ¹Andréia C. M. B. Antonioli-Silva

¹Federal University of Mato Grosso do Sul (UFMS); Av. Costa e Silva, s.n.; Mato Grosso do Sul, 79070-900, Brazil

²University for Development of State and Region of Pantanal (Uniderp); R. Alexandre Herculano, 1400; Mato Grosso do Sul, 79035-470, Brazil

ARTICLE INFO

Article History:

Received 17th August, 2019

Received in revised form

26th September, 2019

Accepted 03rd October, 2019

Published online 30th November, 2019

Key Words:

Cerrado biome; Fruit peel; Antioxidant; Metabolic syndrome; Inflammation.

ABSTRACT

Campomanesia adamantium ("guavira") fruits exhibit pronounced antioxidant activity and are popularly used in the control of metabolic comorbidities, but no studies have evaluated this antioxidant property in the fruit peel. We evaluated the effect of the hydroethanolic extract of *C. adamantium* peel (ExCa) on the metabolic and inflammatory profiles of mice. Antioxidant activity was evaluated *in vitro*. The animals, fed a diet containing 65% starch, were grouped ($n=8$ each group) as follows: ExCa 250 (extract supplementation, 250mg/kg), ExCa 500 (500mg/kg), and control (water supplementation). The experiment lasted 16 weeks. Supplementation was given by gavage for the final four weeks. Body weight and dietary intake were measured. Blood was evaluated for insulin, C-reactive protein, glucose, urea, creatinine, triglycerides, and inflammatory cytokines. Liver and kidneys were histologically examined. ExCa exhibited antioxidant potential, with high levels of phenolic compounds and tannins. Only supplementation with ExCa at 500 mg/kg reduced body weight, levels of glucose, triglycerides, total cholesterol, and hepatic steatosis, but this regimen promoted kidney and liver inflammation. Inflammatory cytokines were not affected by extract. Supplementation with ExCa showed potential utility as a nutritional strategy for the treatment of metabolic syndrome comorbidities.

Copyright © 2019, Amariles D. Ramires. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

Citation: Amariles D. Ramires, Elisvânia F. Santos, Cacilda R. Hildebrand et al. 2019. "Oral supplementation with *Campomanesia adamantium* peel extract: effect on metabolic and inflammatory profiles in mice", *International Journal of Development Research*, 09, (11), 31560-31565.

INTRODUCTION

Metabolic syndrome (MS) is a condition which has been directly associated with chronic low-grade inflammation (Kaur, 2014) and consequently the adipose tissue, muscles and liver can become dysfunctional, exhibiting leukocyte infiltration, fibrosis, dysregulation of glucose and lipid metabolism (Hotamisligil, 2006; Minihiene et al., 2015). Fruit trees native to the Cerrado biome have been increasingly investigated for the prevention and treatment of MS and chronic low-grade inflammation (Almeida et al., 2011). One of the promising fruits, is *Campomanesia adamantium* ("guavira") that is typically consumed fresh and as preserves, juices, and in ice-creams (Vallilo et al., 2006) and have been associated with reduced risk of obesity and associated processes (Donado-Pestana et al., 2018), including inflammation (Souza et al., 2017). Although typically discarded, plant parts such as peel, leaves, and seeds are not devoid of nutraceutical potential,

representing sources of carotenoids, phenols, and phytosterols, compounds with health-promoting effects (Durante et al., 2017). Supplementation with essential oils from guavira seeds and peel has anti-inflammatory and analgesic effects on rodents receiving normal diet (Viscardi et al., 2017) and also reduces inflammation and platelet aggregation *in vitro* (Lescano et al., 2018). The seeds and peel may exhibit the same pharmacological properties as those observed in the fruits (Mendonça et al., 2006). To investigate the potential health benefits of *C. adamantium* fruit peel, we evaluated the effect of a hydroethanolic extract of this plant part on the metabolic and inflammatory profiles of Swiss mice.

MATERIALS AND METHODS

Extract: Guavira fruits provided by the Agrarian Development and Rural Extension Agency (AGRAER) at Campo Grande, Mato Grosso do Sul state. Healthy fruits

were sanitized in water and manually pulped. The peels were dried in an air circulating oven (40 °C), powdered and sieved (40 mesh), yielding 25%. Percolation was performed for 72 h (20 drops/min) to obtain the hydroethanolic extract (30:70, v:v). The extract thus produced was rotary-evaporated, freeze-dried, and stored in at -18 °C. For *in vivo* assays, the freeze-dried extract was diluted in water to yield doses of 250 and 500 mg/kg (Souza *et al.*, 2017).

Antioxidant activity and quantification of total phenols and tannins: Antioxidant activity was evaluated by applying the DPPH (a stable free radical) sequestration method (Brand-Williams *et al.*, 1995) to extract concentrations ranging from 0 to 500 µM. Aliquots of 22 µL/well were transferred to 96-well plates containing 200 µL of DPPH (80% methanol solution) per well. The plates were covered, left in the dark at room temperature (22 °C) and read at 520 nm after 30, 180, and 360 min. Assays were performed in triplicate. IC₅₀ values, denoting the amount of extract required to decrease the initial DPPH concentration by 50%, were measured. Total phenol content was quantified using the Folin–Ciocalteu method, considering gallic acid as a standard. Tannins were quantified colorimetrically using Folin–Denis reagent, considering tannic acid as a standard. Readings were performed on a spectrophotometer at 760 nm. Ethanol was used as the blank and each point was determined in triplicate. Results were expressed as gallic acid equivalents (mgGAE/g) for total phenols and tannic acid equivalents (mgTAE/g) for tannins.

Sample: The experiment was performed on twenty-four 60-day-old male mice (*Mus musculus*) under controlled laboratory conditions, in accordance with standards set out in the National Research Council's *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. The study protocol was approved by the UFMS Ethics Committee on Animal Use (permit 848/2017). After 14-day acclimatization on a Nuvital standard diet, the animals were weighed and randomly assigned to three groups: ExCa 250 (diet supplemented with hydroethanolic extract of *C. adamantium* fruit peel at 250 mg/kg), ExCa 500 (extract supplementation at 500 mg/kg), and control (water supplementation). Except for supplementation, the same diets and water *ad libitum* were provided to all groups for 16 weeks. Supplementation (extract or water) was performed by gavage during the last four weeks of the experiment.

Experimental diet, weight gain and dietary intake measurements: The diet was prepared by Rhoster according to an experimental protocol of the American Institute of Nutrition (Table 1) and stored at 8 °C. The diet was selected to induce increased visceral fat, increased glycemic response, and damage to adipose and liver tissues (Hidebrand *et al.*, 2017). Body weight of animals was measured at baseline and weekly throughout the experiment on a semi-analytical balance. Dietary intake was measured as grams of food per day.

Euthanasia and analysis: Euthanasia, consisting of anesthesia with isoflurane overdose (3–5%) in an induction chamber, was followed by blood collection by posterior vena cava puncture. Blood serum was separated and total cholesterol, triglycerides, insulin, glucose, and urea were measured using a colorimetric-enzymatic method with commercial kits (LabTest) following the fabricant instructions. Creatinine and C-reactive protein were quantified using a colorimetric assay (Erhardt *et al.*, 2004). Inflammatory cytokines IL-6, IL-10, IL-12, TNF, IFN-γ, and MCP-1 were quantified using a cytometric bead assay kit

(BD Biosciences, lot 8171794) on a FACSCanto II flow cytometer.

Histopathological evaluation: Liver and kidney samples were processed and embedded in histological paraffin, and 5 µm-thick cross sections were obtained in rotary microtome (Microm, HM320). Sections were stained with hematoxylin-eosin (HE) and Masson's trichrome (TM). HE-stained liver and kidney slides were analyzed for tissue morphology. Liver slides were also examined (10 random fields) for the presence of steatosis and inflammatory foci. Steatosis and inflammatory scores were determined based on Kleiner *et al.*, 2005. To detect fibrosis, liver slides were TM-stained and observed for the presence of collagen fibers.

Statistical analysis: Data were analyzed using Sigma Stat (Systat) and GraphPad Prism 5 (GraphPad, USA) software, expressed as means ± standard error of the mean (SEM), and subjected to one-way ANOVA, followed by the Bonferroni test, with $p < 0.05$ indicating significant differences.

RESULTS AND DISCUSSION

Antioxidant activity and quantification of total phenols and tannins: *In vitro* antioxidant activity yielded an IC₅₀ value of 980 µg/mL, revealing an antioxidant potential lower than that of other extracts from different parts of the same plant species—e.g., an aqueous root extract with IC₅₀ = 37.3 µg/mL (Espindola *et al.*, 2016) and a methanolic extract from fruit peel with IC₅₀ = 163.70 µg/mL (Lescano *et al.*, 2018). Total phenol content was 26.49 mgGAE/g being considered an intermediate quantity (Rufino *et al.*, 2010) and higher than those reported for methanolic extracts from fruit peel, of 1.35 mgGAE/g (Lescano *et al.*, 2018) and pulp, of 12.22 mgGAE/g (Alves *et al.*, 2017). Tannin content was 3.70 mgTAE/g, higher than for fruits naturalized to the Cerradobiome, such as *Syzygium cumini* (0.39 mgTAE/g) (Faria *et al.*, 2011). Since phenolic compounds account for most of the antioxidant properties of plants (Jacobo-Velázquez and Cisneros-Zevallos, 2009), it can be inferred that the antioxidant activity is due to the phenols and tannins present in this plant part.

Table 1. Macronutrient composition of experimental diet.

Experimental diet	g/100 g
Protein	22
Lipid	5
Carbohydrate	65.00
Corn starch	55.00
Maltodextrin	10.00
Cellulose	5.00
Mineral mix	3.50
Vitamin mix	1.00
L-cystine	0.18
Choline bitartrate	0.25
Tert-butylhydroquinone	0.008
Total	101.94

***In vivo* assays:** Table 2 shows body weight and food intake values, and the ExCa 500 group reduced the body weight. Similar with our results, the leaves of other species in the genus, such as *C. xanthocarpa*, are popularly used for weight loss (Klafke *et al.*, 2012) and reduced control weight gain in rats fed a high-calorie diet (Biavatti *et al.*, 2004). But studies on the use of *Campomanesia* species for losing weight have yielded contradictory results, given that Catelan *et al.* (2018)

Table 2. Body weight gain, food intake, and biochemical measurements in mice fed an experimental diet for 16 weeks supplemented with a hydroethanolic extract of *Campomanesia adamantium* fruit peel during the final four weeks

Parameters	Control (n = 8)	ExCa 250 (n = 8)	ExCa 500 (n = 8)
<i>Weight and food</i>			
Starting weight (g)	36.87±3.16	36.87±2.87	36.25±1.87
Final weight (g)	46.00±3.75	48.62±5.28	42.87±3.37
Weight gain (g)	9.12±1.87	11.75±2.94	6.62±1.97*
Food intake (g)	4.40±0.67	4.60±0.52	4.3±0.36
<i>Biochemical parameters</i>			
Blood glucose (mg/dL)	465.6±25.11	480.8±36.55	363.8±75.10*
Triglycerides (mg/dL)	176.8±17.85	183.6±23.98	157.00±66.70
Total cholesterol (mg/dL)	174.2±26.56	192.0±13.62	119.0±36.93*
Urea (mg/dL)	57.70±8.20	65.90±20.51	46.78±7.86
Creatinine (mg/dL)	0.28±0.03	0.30±0.12	0.20±0.10
Uric acid (mg/dL)	7.90±2.11	7.60±1.77	7.26±1.43
CRP (mg/dL)	0.24±0.12	0.21±0.07	0.21±0.08
Insulin (mU/L)	0.20±0.00	0.20±0.00	0.20±0.00

ExCa 250 and ExCa 500: supplementation with extract at 250 and at 500 mg/kg, respectively. Results expressed as means ± SEM (n = 8). ANOVA followed by Bonferroni test. * indicates significant differences ($p < 0.05$) relative to control in the same row; ** indicates significant difference ($p < 0.01$) relative to ExCa 250.

Table 3. Inflammatory cytokines in mice. Quantification by flow cytometry

Group	Cytokine (pg/mL)					
	IL-6	IL-10	IL-12	TFN	IFN- γ	MCP-1
Control	126.3±82.68	667.6±442.90	1267.0±841.40	12.9±3.71	63.6±40.88	111.4±62.38
ExCa 250	3.0±1.39	17.9±13.41	31.1±18.34	7.2±0.56	0.3±0.16	21.6±7.45
ExCa 500	0.7±0.12	0.0±0.00	32.1±31.81	5.9±0.90	2.5±1.54	9.9±3.06

Campomanesia adamantium peel extract supplementation at 250 mg/kg (ExCa 250) and at 500 mg/kg (ExCa 500). ANOVA followed by Bonferroni test, with $p < 0.05$ indicating significant differences.

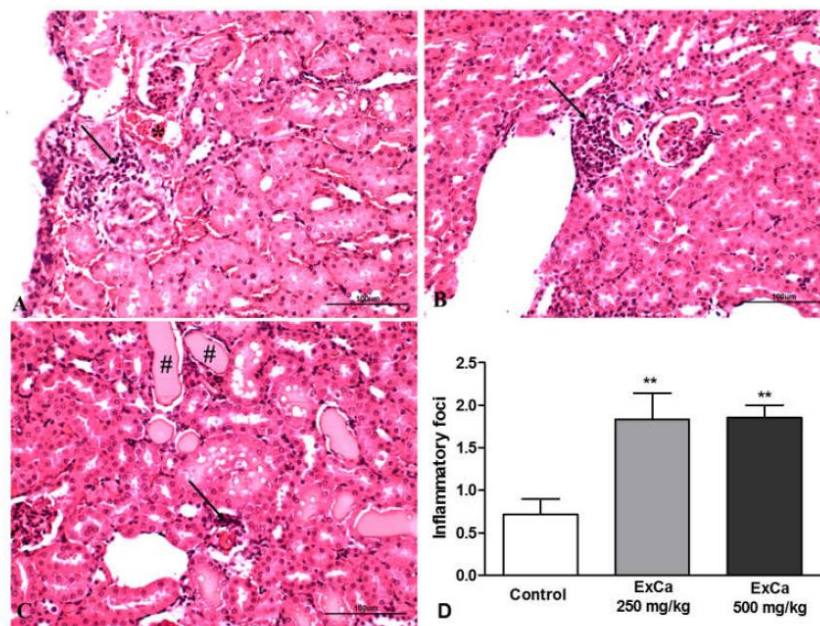


Figure 1. Inflammatory foci in mouse kidneys: control (A) and *Campomanesia adamantium* peel extract supplementation at 250 mg/kg (ExCa 250; B) and at 500 mg/kg (ExCa 500; C). Mononuclear inflammatory processes (arrows); hyperemia (*); proteinaceous deposition (#). Hematoxylin-eosin; 200 $\times$. Quantification of inflammatory foci (D). Results expressed as means ± SEM (n = 8); ANOVA followed by Bonferroni test, with $p < 0.05$ indicating significant differences. ** indicates $p < 0.01$ relative to control

and Boas *et al.* (2018), using leaf extract of *C. guazumifolia* and *C. pubescens*, respectively, did not found significant weight differences between non-treated and treated mice. Serum glucose and total cholesterol levels were significantly lower ($p < 0.05$) in the ExCa 500 group. No differences among the groups were observed for the other variables evaluated (Table 2). Therefore, our results suggest the utility of ExCa as an alternative approach for glycemic

control, crucial in the treatment of diabetes mellitus, another specie, *C. xanthocarpa* also demonstrated improvement in glycemia in rats (Biavatti *et al.*, 2004). Only ExCa 500 group exhibited reduced serum urea, showing levels similar with the referencerange of 45-53 mg/dL (Diniz *et al.*, 2006). The hyperuricemia observed in another groups can result from kidney disease that may be associated with several metabolic abnormalities linked with obesity, such as

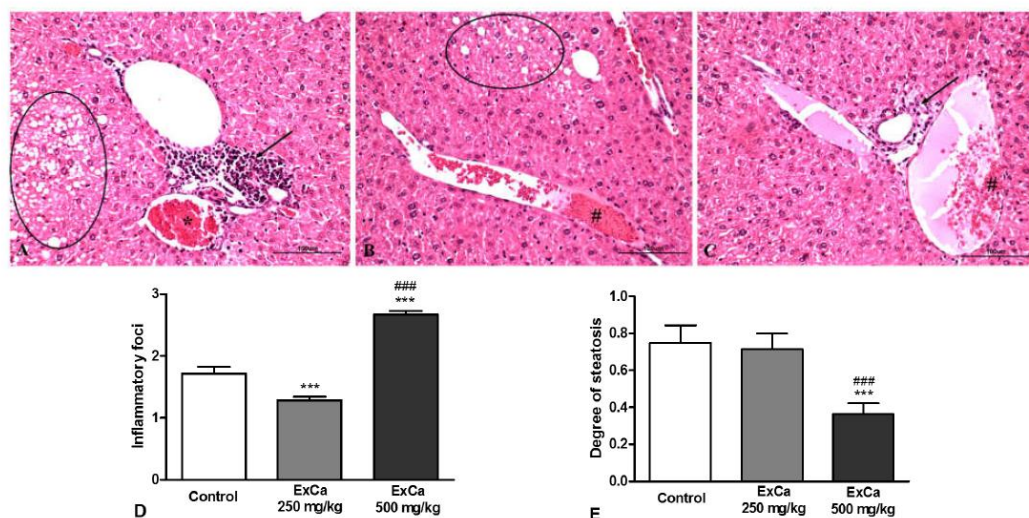


Figure 2. Inflammatory foci and steatosis in mouse livers: control (A) and *Campomanesia adamantium* peel extract supplementation at 250 mg/kg (ExCa 250; B) and at 500 mg/kg (ExCa 500; C). Mononuclear inflammatory processes (arrows); hyperemia (*); proteinaceous deposition (#), steatosis (circles). Hematoxylin-eosin; 200 $\times$. Quantification of inflammatory foci (D) and steatosis degree (E). Results expressed as means $\pm$ SEM ($n = 8$). ANOVA followed by Bonferroni test, with $p < 0.05$ indicating significant differences. *** indicates $p < 0.001$ relative to control; ### indicates $p < 0.001$ relative to ExCa 250

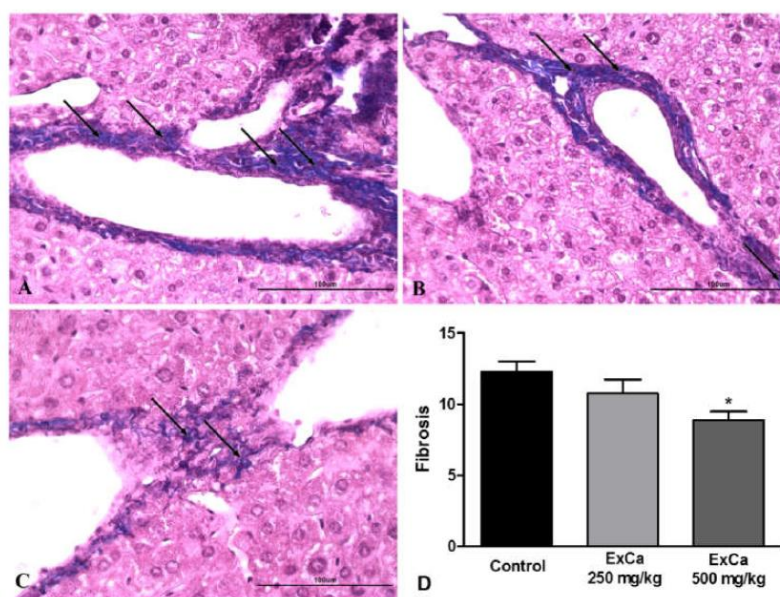


Figure 3. Fibrosis in mouse liver: control (A) and *Campomanesia adamantium* peel extract supplementation at 250 mg/kg (ExCa 250; B) and at 500 mg/kg (ExCa 500; C). Points of fibrosis (arrows). Masson's trichrome; 200 $\times$. Quantification of fibrosis (D). Results expressed as means $\pm$ SEM ($n = 8$). ANOVA followed by Bonferroni test with $p < 0.05$ indicating significant differences.

* indicates $p < 0.05$ relative to control

inflammation (Park *et al.*, 2018). Another metabolic dysfunction is the non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), characterized by the presence of inflammation, steatosis, and fibrosis (Chalasani *et al.*, 2012). Inflammation can also affect other organs, including the kidneys (Decleves and Sharma, 2015). The inflammatory process was observed in our study in all groups and had a marked presence of lymphocyte clusters.

The inflammation in kidney was more evident in the ExCa-supplemented groups, differing from control ($p < 0.01$) (Figure 1). In addition to inflammatory cells, hyperemia was detected in the control, while proteinaceous deposition was found in both ExCa groups. Proteinaceous deposition can cause cell and tissue damage and are correlated with inflammatory process (Mareedu and Migrino, 2016).

Despite the occurrence of proteinaceous deposition and inflammation, ExCa supplementation reduced hyperemia that is correlated with tissue damage (Moghadam *et al.*, 2015). Similar with our results, *C. velutinaw* was found to induce inflammation and hemorrhage in rats given doses greater than 300 mg/kg (Araujo *et al.*, 2017). However, Souza *et al.* (2017) observed no toxic effects on, or inflammation in, the kidneys of rats receiving normal diet and supplemented with guavira fruit peel extract. These findings indicate that diet or animal type may have interfered with extract activity, inducing inflammation in mice with metabolic syndrome predisposition. Liver inflammatory foci were more numerous in the ExCa 500 group. ExCa 250 animals and control did not differ for foci (Figure 2D). Hyperemia was observed only in control and proteinaceous deposition occurred in all groups. The steatosis was higher in control group and ExCa reduced hepatic steatosis levels, particularly the ExCa 500 group (Figure 2E). In addition to steatosis and inflammation, excess collagen (fibrosis) is also a characteristic feature of NAFLD (Xie *et al.*, 2017).

In the present study, fibrotic spots were visualized on TM-stained slides from all groups, but supplementation with ExCaat 500 mg/kg reduced fibrosis occurrence (Figure 3). Steatosis- and fibrosis-reducing activities have been reported for *Phyllanthus niruri* extract (Zarzour *et al.*, 2017), corroborating our results for ExCaat 500 mg/kg, although the anti-inflammatory effect found in the cited study was not observed in our assays. In a DPPH assay, *P. niruri* also exhibited antioxidant properties, reducing liver damage. Animal models of obesity and chronic low-grade inflammation have shown increased expression of pro-inflammatory cytokines and macrophage influx (Stemmer *et al.*, 2012; Mori *et al.*, 2014; Martin *et al.*, 2015). Although increased production of pro-inflammatory cytokines and decreased levels of anti-inflammatory cytokines have been observed elsewhere, no changes in IL-12, IL-10, IL-6, TNF, IFN- γ , or MCP-1 levels were detected in the present investigation (Table 3). So, these results indicated that the peels of guavira do not have activity in reduce mediators involved in inflammatory process induced by the experimental diet.

Conclusions

The hydroethanolic extract of *C. adamantium* fruit peel exhibited antioxidant potential. Used as dietary supplementation in mice, the extract reduced body weight, blood glucose, total cholesterol levels and liver steatosis, most markedly at 500 mg/kg—findings that warrant further investigation in animals with diabetes or coronary artery disease. However the peel extract does not showed anti-inflammatory activity.

REFERENCES

- Almeida, M. M. B., Sousa, P. H. M., Arriaga, A. M. C., Prado, G. M., Magalhães, E. C., Maia, G. A., and Lemos, T. L. G. 2011. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Res. Int.* 44(7):2155–2159.
- Alves, A. M., Dias, T., Hassimotto, N. M. A., and Naves, M. M. V. 2017. Ascorbic acid content, phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian savannah native fruits. *Food Sci. Technol.* 37(4):564–569.
- Araujo, M. C. P. M., Barcellos, N. M., Vieira, P. M., Gouveia, T. M., Guerra, M. O., Peters, V. M., and Saúde-Guimarães, D. A. 2017. Acute and sub chronic toxicity study of aqueous extract from the leaves and branches of *Campomanesia velutina* (Cambess) O. Berg. *J. Ethnopharmacol.* 201:17–25.
- Biavatti, M., Farias, C., Curtius, F., Brasil, L. M., Hort, S., Schuster, L., Leite, S. N., and Prado, S. R. 2004. Preliminary studies on *Campomanesia axanthocarpa* (Berg.) and *Cuphea carthagenensis* (Jacq.) JF Macbr. aqueous extract: Weight control and biochemical parameters. *J. Ethnopharmacol.* 93(2–3):385–389.
- Boas, G. R. V., Santos, A. C., Souza, R. I. C., Araujo, F. H. S., Traesel, G. K., Marcelino, J. M., Silveira, A. P. S., Farinelli, B. C. F., Cardoso, C. A. L., Lacerda, R. B., and Oesterreich, S. A. 2018. Preclinical safety evaluation of the ethanolic extract from guavira fruits (*Campomanesia pubescens* (DC) O. BERG) in experimental models of acute and short-term toxicity in rats. *Food Chem. Toxicol.* 118:1–12.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Food Sci. Technol.* 28(1):25–30.
- Catelan, T. B. S., Radai, J. A. S., Leitão, M. M., Branquinho, L. S., Vasconcelos, P. C. P., Heredia-Vieira, S. C., Kassava, C. A. L., and Cardoso, C. A. L. 2018. Evaluation of the toxicity and anti-inflammatory activities of the infusion of leaves of *Campomanesia guazumifolia* (Cambess.) O. Berg. *J. Ethnopharmacol.* 226:132–142.
- Chalasan, N., Younossi, Z., Lavine, J. E., Diehl, A. M., Brunt, E. M., Cusi, K., Chertton, M., and Sanval, A. J. 2012. The diagnosis and management of non-alcoholic fatty liver disease: Practice guideline by the American gastroenterological association, american association for the study of liver diseases, and American college of gastroenterology. *Hepatology.* 55(6):2005–2023.
- Decleves, A., and Sharma, K. (2015). Obesity and kidney disease: Differential effects of obesity on adipose tissue and kidney inflammation and fibrosis. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 24(1):28–36.
- Diniz, M. F. F. M., Medeiros, I. A., Santos, H. B., Oliveira, K. M., Vasconcelos, T. H. C., Aguiar, F. B., Toscano, M. G., and Ribeiro, E. A. N. 2006. Haematological and biochemical parameter standardization of Swiss mice and Wistar rats. *Rev. Bras. Ciênc. Saúde.* 10(2):171–176.
- Donado-Pestana, C. M., Moura, M. H. C., Araujo, R. L., Santiago, G. L., Barros, H. R. M., and Genovese, M. I. 2018. Polyphenols from Brazilian native Myrtaceae fruits and their potential health benefits against obesity and its associated complications. *Curr. Opin. Food Sci.* 19:42–49.
- Durante, M., Montefusco, A., Marrese, P. P., Soccio, M., Pastore, D., Piro, G., Mita, G., and Lenucci, M. S. 2017. Seeds of pomegranate, tomato and grapes: An underestimated source of natural bioactive molecules and antioxidants from agri-food by-products. *J. Food Compos. Anal.* 63:65–72.
- Erhardt, J. G., Estes, J. E., Pfeiffer, C. M., Biesalski, H. K., and Craft, N. E. 2004. Combined measurement of ferritin, soluble transferrin receptor, retinol binding protein, and C-reactive protein by an inexpensive, sensitive, and simple sandwich enzyme-linked immunosorbent assay technique. *J. Nutr.* 134(11):3127–3132.
- Espindola, P. P. T., Rocha, P. S., Carollo, C. A., Schmitz, W. O., Pereira, Z. V., Vieira, M. C., Santos, E. L., and Souza, K. P. 2016. Antioxidant and antihyperlipidemic effects of

- Campomanesia adamantium* O. Berg Root. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016:1-8.
- Faria, A. F., Marques, M. C., and Mercadante, A. Z. 2011. Identification of bioactive compounds from jambolão (*Syzygium cumini*) and antioxidant capacity evaluation in different pH conditions. *Food Chem.* 126(4):1571-1578.
- Hidebrand, C. R., Silva, A. C. M. B. A., Thomaz, D. M. C., Arakaki, D. G., Inada, A. C., Marcelino, G., Gonzaga, C. S. A. M., Figueiredo, P. S., Silva, G. T., Fernandes, M. R., Guimarães, R. C. A., Freitas, K. C., Nascimento, V. A. 2017. Animal models in the evaluation of inflammation caused by carbohydrate-rich diets: brief scientific literature review. *Int. J. Dev. Res.* 7:1-7.
- Hotamisligil, G. S. 2006. Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860-867.
- Jacobo Velázquez, D. A., and Cisneros Zevallos, L. 2009. Correlations of antioxidant activity against phenolic content revisited: A new approach in data analysis for food and medicinal plants. *J. Food Sci.* 74(9):R107-R113.
- Kaur, J. 2014. A comprehensive review on metabolic syndrome. *Cardiol. Res. Pract.* 2014:1-21.
- Klafke, J. Z., Silva, M. A., Rossato, M. F., Trevisan, G., Walker, C. I. B., Leal, C. A. M., Borges, D. O., Schetinger, M. R. C., Moresco, R. N., Duarte, M. M. M. F., Santos, A. R. S., Viegli, P. R. N., and Ferreira, J. 2012. Antiplatelet, antithrombotic, and fibrinolytic activities of *Campomanesia xanthocarpa*. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.* 2012:1-8.
- Kleiner, D. E., Brunt, E. M., Natta, M. V., Behling, C., Contos, M. J., Cummings, O. W., Ferrell, L. D., Liu, Y., Torbenson, M. S., Unalp-Arida, A., Yeh, M., McCullough, A. J., and Sanyal, A. J. 2005. Design and validation of a histological scoring system for nonalcoholic fatty liver disease. *Hepatology*. 41(6):1313-1321.
- Lescano, C. H., Lima, F. F., Mendes-Silveira, C. B., Justo, A. F. O., Baldívia, D. S., Vieira, C. P., Sanjinez-Argandona, E. J., Cardoso, C. A. L., Monica, F. Z., and Oliveira, I. P. 2018. Effect of polyphenols from *Campomanesia adamantium* on platelet aggregation and inhibition of cyclooxygenases: molecular docking and in vitro analysis. *Front. Pharmacol.* 9:1-13.
- Mareedu, R., and Migrino, R. Q. 2016. Um Guia sobre Amiloidose AL (de cadeias leves). Retrieved from http://www.amyloidosis.org/wp-content/uploads/2017/03/Physicians-Guide-AL-2016_Port.pdf
- Martín, R., Miguel, S., Chain, F., Natividad, J. M., Jury, J., Lu, J., Sokol, H., Theodorou, V., Bercik, P., Verdu, E. F., Langella, P., and Bermúdez-Humarán, L. G. 2015. *Faecalibacterium prausnitzii* prevents physiological damages in a chronic low-grade inflammation murine model. *BMC Microbiol.* 15:1-12.
- Mendonça, L. M. V. L., Conceição, A., Piedade, J., Carvalho, V. D. and Theodoro, V. C. A. 2006. Caracterização da composição química e do rendimento dos resíduos industriais do limão Tahiti (*Citrus latifolia*) Tanaka. *Food Sci. Technol.* 26(4):870-874.
- Minihane, A. M., Vinoy, S., Russell, W. R., Baka, A., Roche, H. M., Tuohy, K. M., Teeling, J. L., Blaak, E. E., Fenech, M., Vauzour, D., McArdle, H. J., Kremer, B. H., Sterkman, L., Vafeiadou, K., Benedetti, M. M., Williams, C. M., and Calder, P. C. 2015. Low-grade inflammation, diet composition and health: current research evidence and its translation. *Br. J. Nutr.* 114(7):999-1012.
- Moghadam, A. R., Tutunchi, S., Namvaran-Abbas-Abad, A., Yazdi, M., Bonvadi, F., Mohajeri, D., Mazani, M., Marzban, H., Los, M. J. and Ghavami, S. 2015. Pre-administration of turmeric prevents methotrexate-induced liver toxicity and oxidative stress. *BMC Complement. Altern. Med.* 15:1-13.
- Mori, J., Patel, V. B., Ramprasad, T., Alrob, O. A., DesAulniers, J., Scholey, J. W., Lopaschuk, G. D., and Oudit, G. Y. 2014. Angiotensin 1-7 mediates renoprotection against diabetic nephropathy by reducing oxidative stress, inflammation, and lipotoxicity. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 306(8):812-821.
- Park, S., Kim, Y. J., Choi, C. Y., Cho, N. J., Gil, H. W., and Lee, E. Y. 2018. Bariatric surgery can reduce albuminuria in patients with severe obesity and normal kidney function by reducing systemic inflammation. *Obes. Surg.* 28:831-837.
- Rufino, M. S. M., Alves, R. E., Brito, E. S., Perez-Jimenez, J., Saura-Calixto, F., and Mancini-Filho, J. 2010. Bioactive compounds and antioxidant capacities of 18 non-traditional tropical fruits from Brazil. *Food Chem.* 121(4):996-1002.
- Souza, J. C., Piccinelli, A. C., Aquino, D. F., Souza, V. V., Schmitz, W. O., Traesel, G. K., Cardoso, C. A., Kassuya, C. A., and Arena, A. C. 2017. Toxicological analysis and antihyperalgesic, antidepressant, and anti-inflammatory effects of *Campomanesia adamantium* fruit barks. *Nutr. Neurosci.* 20(1):23-31.
- Stemmer, K., Perez-Tilve, D., Ananthakrishnan, G., Bort, A., Seeley, R. J., Tschop, M. H., Dietrich, D. R., and Pfleger, P. T. 2012. High-fat-diet-induced obesity causes an inflammatory and tumor-promoting microenvironment in the rat kidney. *Dis. Model. Mech.* 5(5):627-635.
- Vallilo, M. I., Lamardo, L. C. A., Gaberlotti, M. L., Oliveira, E., and Moreno, P. R. H. 2006. Chemical composition of *Campomanesia adamantium* (Cambessédes) O.Berg' fruits. *Food Sci. Technol.* 26(4):805-810.
- Viscardi, D. Z., Arrigo, J. S., Correia, C. A. C., Kassuya, C. A. L., Cardoso, C. A. L., Maldonado, I. R., and Argandona, J. S. 2017. Seed and peel essential oils obtained from *Campomanesia adamantium* fruit inhibit inflammatory and pain parameters in rodents. *Plos One*, 12(2), 1-15.
- Xie, S. R., An, J. Y., Zheng, L. B., Huo, X. X., Guo, J., Shih, D., and Zhang, X. L. 2017. Effects and mechanism of adenovirus-mediated phosphatase and tension homologue deleted on chromosome ten gene on collagen deposition in rat liver fibrosis. *World J. Gastroenterol.* 23(32):5904-5912.
- Zarzour, R. H. A., Ahmad, M., Asmawi, M. Z., Kaur, G., Saeed, M. A. A., Al-Mansoub, M. A., Saghir, S. A. M., Usman, N. S., Al-Dulaimi, D. W., and Yam, M. F. 2017. *Phyllanthus Niruri* standardized extract alleviates the progression of non-alcoholic fatty liver disease and decreases atherosclerotic risk in Sprague-Dawley rats. *Nutrients*. 9(766):1-19.

ANEXO A - Ficha técnica da dieta RH19521B da empresa RHOSTER®

RHOSTER



Dieta Alto Amido

RH19521B

Perfil Calórico	%	% kcal
Proteína	20,31	22,21
Carboidrato	59,23	67,31
Gordura	5,30	13,04
Dieta 3,7kcal/g	****	****

*Dieta Purificada Alto Amido para experimentação com roedores de laboratório.

*Produzida em Pellet - Pacotes de 1kg

*Quantidade mínima 3kg

*Prazo de Entrega: 15 dias úteis

Ingredientes

Caseína Láctea, Amido Dextrinizado, Celulose, Amido de Milho, Sacarose, Óleo de Soja, L-Cistina, Mix Mineral RH9504**, Mix Vitamínico RH9503***, Bitartarato de Colina, TBHQ Sigma-Aldrich.

Mais Informações

**Mix Mineral AIN-93M

***Mix Vitamínico AIN-93

****Resultados calculados a partir da análise de um determinado lote fabricado.

RHOSTER INDÚSTRIA E COMÉRCIO LTDA.

Av.Ministro Antonino Vieira do Amaral, 1556 - Cx.P.46 - Jd.Salete - Araçoiaba da Serra/SP - CEP: 18190-000

Fones: (15) 3281-3037 / (15) 3281-4748 - CNPJ 00.984.204/0001-04 - Inscr.Estadual 178.070.220.114

Acesse o site para cadastro e orçamento: www.rhoster.com.br

ANEXO C - CEUA



Serviço Público Federal
Ministério da Educação
Fundação Universidade Federal de Mato Grosso do Sul



C E R T I F I C A D O

Certificamos que a proposta intitulada "Suplementação de *Campomanesia adamantium* (Guavira) sobre o perfil metabólico inflamatório e antioxidante em ratos Wistar", registrada com o nº 848/2017, sob a responsabilidade de **Andreia Conceição Milan Brochado Antoniolli Silva** - que envolve a utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS/CEUA DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE MATO GROSSO DO SUL/UFMS, na 5ª reunião ordinária do dia 19/06/2017.

FINALIDADE	() Ensino	(x) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	02/2017 a 02/2018	
Espécie/Linhagem/Raça	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar	
Nº de animais	64	
Peso/Idade	220 - 250g / 60dias	
Sexo	Macho	
Origem	Biotério Central/CCBS/UFMS	

Joice Steln

Coordenadora da CEUA/UFMS
Campo Grande, 20 de junho de 2017.

Comissão de Ética no Uso de Animais/CEUA
<http://www.propp.ufms.br/ceua>
ceua.2000@gmail.com
fone (67) 3345-7925