

**UNIVERSIDADE DO EXTREMO SUL CATARINENSE - UNESC
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

SCHÉROLIN DE OLIVEIRA MARQUES

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE
PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, COMPORTAMENTAIS E MARCADORES
INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CAMUNDONGOS OBESOS
INDUZIDOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA**

CRICIÚMA, SETEMBRO DE 2018.

SCHÉROLIN DE OLIVEIRA MARQUES

**EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE
PARÂMETROS FISIOLÓGICOS, COMPORTAMENTAIS E MARCADORES
INFLAMATÓRIOS E DE ESTRESSE OXIDATIVO EM CAMUNDONGOS OBESOS
INDUZIDOS POR DIETA HIPERLIPÍDICA**

Tese de doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Pastoris Muller.

CRICIÚMA, SETEMBRO DE 2018.

Folha informativa

A tese foi elaborada seguindo a Resolução N.07/2015 do Colegiado do PPGCS/UNESC, que aprova elementos mínimos a constar na versão final de teses de doutorado e dissertações de mestrado. Este trabalho foi realizado nas instalações do Laboratório de Biomedicina Translacional do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde (PPGCS) da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC).

A caracterização do óleo de abacate por cromatografia gasosa foi realizada nas instalações do Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Juíz de Fora, Minas Gerais.

A todos aqueles que acreditaram em mim, e aos meus pais,
que me apresentaram o caminho da honestidade e
persistência.

AGRADECIMENTOS

Enfim, é chegado o momento mais verdadeiro deste trabalho, o momento de ser grata!

Foram 10 anos de vida acadêmica, de pesquisa, de sonhos! Uma tese, apesar do processo solitário a que qualquer investigador está destinado, reúne contributos de inúmeras pessoas. Desde o início do doutoramento, pude contar com a confiança e o apoio de pessoas sem às quais, este trabalho não teria sido possível.

O principal agradecimento dedico ao Criador, pela minha vida e pela paz nos momentos em que me encontrei incapaz de prosseguir. Por ser meu guia e protetor em todos os meus passos!

Ao meu maior tesouro, minha família: meus pais, Erivaldo e Marta, minha irmã Najara e meu afilhado Lucca. Vocês são minhas paz, meu refúgio e meu lar! Esta vitória é nossa!

Ao Guilherme, pelo amor e apoio. Pela espera paciente nos momentos de ausência. Obrigada pelo presente de cada dia, pelo seu sorriso e por saber me fazer feliz.

Ao meu orientador professor Dr. Alexandre Pastoris Muller, toda a minha admiração e respeito! Muito obrigada por ter-me aceito em seu grupo de pesquisa. Obrigada por todo o tempo despendido em prol de minha formação. Agradeço pela confiança, amizade, conselhos, paciência, por sua competência teórica e seus ricos ensinamentos durante o doutorado.

Ao professor Dr. Cláudio Teodoro de Souza o meu reconhecimento e agradecimento eternos! Por ter me apresentado a este mundo encantador da pesquisa, por todo o seu saber e pela confiança que sempre depositou em mim. Ao olhar para trás, é impossível não perceber o quanto foste fundamental para a minha formação e para que este trabalho transpassasse o papel. Obrigada por ter sido meu primeiro grande mestre!

À professora Dra. Mirian Cnop e aos colegas de trabalho do Centro para Pesquisa em Diabetes da Université Libre de Bruxelles (Bruxelas, Bélgica), por me acolherem em seu grupo de pesquisa, onde vivenciei experiências únicas de conhecimento e vida. Em especial, ao amigo Reinaldo dos Santos, por todo o suporte e carinho durante os primeiros dias de minha chegada, e ao anjo que levarei para toda a vida, Flávia de Paula, que jamais deixou-me sentir sozinha durante os meses que em Bruxelas vivi.

A amiga e sempre companheira Thaís Fernandes, por ter caminhado ao meu lado durante toda a minha vida acadêmica e pela importância que tomou em minha vida pessoal. Juntas aprendemos e crescemos. Agradeço infinitamente pelos teus gestos solidários, pela alegria compartilhada, pela identidade de nossas histórias e pela intensidade dos nossos sentimentos. Contigo os longos dias de experimentos, seminários, escritas e a elaboração

deste trabalho ficaram mais leves. Contigo a caminhada foi mais fácil. Obrigada por acreditar em mim e por compartilhar de muitas das minhas angústias e conquistas. Não importa o caminho que tracemos, ou o tempo, nós sempre seremos uma dupla! Meu anjo, você é exemplo e admiração!

Ao Laboratório de Biomedicina Translacional e ao Laboratório de Fisiologia e Bioquímica do Exercício, sem os quais a realização desta tese não seria possível, em um processo que foi tudo, menos solitário. Agradeço em especial a Natália Tramontin, Kelen Simon, Paula Canteiro, Helen Soratto, Bruno Pieri, Mateus Caetano e Gabriel - Vocês foram essenciais em todas as etapas deste trabalho. Obrigada pela dedicação, pela prontidão em sempre ajudar, pelo carinho e acima de tudo, obrigada pela amizade. Vocês são verdadeiros anjos. Estendo meus agradecimentos aos sempre dispostos a ajudar Gustavo de Bem, Hemelin Farias, Bárbara Costa e Pauline Effeting. Aprendemos a trabalhar em grupo, a respeitar o próximo e, principalmente, que é muito mais fácil multiplicar quando sabemos dividir.

Ao eterno “LAFIBE”, onde descobri o mundo da ciência e pude conhecer pessoas incríveis, às quais jamais esquecerei. Meus sinceros agradecimentos aos amigos pesquisadores: Thaís Fernandes, Daniela Roxo de Souza, Bruno Luiz Pieri, Elvis Wisniewski, Janesca Guedes, Ana Lúcia Morsch, Alessandra Gonçalves, Vitor Comin, Hemelin Farias, Gabriela Mendonça, Júlia Fabrício, Matheus Rodrigues, Lara Belletini, Lígia Milanez, Gabriel e Mateus Caetano.

A todos os funcionários da Universidade do Extremo Sul Catarinense, que, com seus trabalhos cotidianos, tornaram possível a produção deste estudo. Em especial a secretária do PPG em Ciências da Saúde, Diana Ghisi, que com sua competência e sorriso esteve sempre disposta a ajudar e os amigos do centro de experimentação da Unesc, Heron Sangaletti e Deivid Borges pelo carinho e toda a ajuda no decorrer de todos os projetos e experimentos.

Ao “apê” 303, que durante estes quatro anos me acolheu com toda a sua alegria, amor e solidariedade. Às queridas Thaís Fernandes, Thaynara Cardoso, Fernanda Maia e Daniela Roxo de Souza, sentirei falta das nossas conversas, desabafos e risadas. Serei eternamente grata a vocês!

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelas bolsas de estudos concedidas durante a Iniciação Científica, Mestrado, Doutorado e Doutorado Sanduíche.

O meu profundo e sincero agradecimento a todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a concretização desta tese, estimulando-me intelectual e emocionalmente.

*“Acalente sonhos.
Seu futuro está em suas mãos”.*

Masaharu Taniguchi

RESUMO

A prevalência de sobrepeso e obesidade está aumentando rapidamente no mundo. Estima-se que, aproximadamente, 641 milhões de adultos em todo o mundo sejam obesos. O aumento da obesidade pode ser explicado pelas mudanças socioeconômicas e nos padrões alimentares associados a baixos níveis de atividade física. Indivíduos obesos são predispostos ao surgimento de complicações metabólicas, tais como resistência à insulina, inflamação crônica subclínica e estresse oxidativo. Sabe-se que a produção aumentada de citocinas derivadas dos adipócitos está relacionada ao comprometimento da ação da insulina e estresse oxidativo. Por outro lado, tem sido reportado que a ingestão de abacate acarreta em melhorias no controle glicêmico, perfil lipídico e estresse oxidativo. No entanto, os efeitos da suplementação com óleo de abacate na obesidade e a modulação de mediadores inflamatórios, estresse oxidativo e a sensibilidade a insulina não são conclusivos e carecem de maiores investigações. Neste contexto, o presente estudo avaliou os efeitos da suplementação de óleo de abacate sobre parâmetros fisiológicos, comportamentais e marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em camundongos C57BL/6J obesos induzidos por dieta hiperlipídica. Para tal, camundongos foram divididos em dois grupos: alimentados com dieta padrão e alimentados com dieta hiperlipídica durante 20 semanas. Após, foi realizado teste de tolerância à insulina para verificar a instalação da resistência à insulina. Após confirmação, os animais foram divididos em 4 grupos: Controle (Controle NS); Controle + óleo de abacate (Controle + OA); Obesos induzidos por dieta hiperlipídica (DIO NS); Obesos induzidos por dieta hiperlipídica + óleo de abacate (DIO + OA). Os grupos suplementados receberam óleo de abacate (4 mL / kg de peso corporal) via oral, uma vez ao dia, durante 90 dias. Uma semana antes do término do experimento foram realizados os testes de tolerância oral à glicose, campo aberto, reconhecimento de objeto e labirinto em cruz. Após o período de suplementação, os animais foram eutanasiados e o sangue, tecido adiposo epididimal, hepático, quadríceps e hipocampo foram removidos para análises histológicas, moleculares e bioquímicas. Os resultados demonstraram que a suplementação com óleo de abacate foi capaz de melhorar a sensibilidade a insulina, melhorar as memórias de curto e longo prazo, diminuir o acúmulo de gordura hepática e diminuir os triglicerídeos séricos nos animais obesos induzidos por dieta. Além disto, os níveis de DCF, nitrito e carbonilação de proteínas no tecido adiposo epididimal, quadríceps e fígado, bem como o conteúdo de carbonil no hipocampo foram significativamente diminuídos nos animais DIO + OA, concomitante ao aumento da atividade antioxidante endógena nestes animais. A suplementação nos animais obesos ainda induziu redução das citocinas pró-inflamatórias TNF α e IL-1 β no tecido adiposo epididimal e no quadríceps, e de IL-1 β no hipocampo. Tomados em conjunto, os resultados demonstraram que a obesidade induzida por dieta altera parâmetros metabólicos de maneira tecido dependente e que o óleo de abacate pode ser uma estratégia eficaz no tratamento das complicações associadas à obesidade, mesmo sem alterações no peso corporal.

Palavras chaves: obesidade; estresse oxidativo; inflamação; sensibilidade à insulina; função cognitiva; óleo de abacate.

ABSTRACT

The prevalence of overweight and obesity is increasing quickly in the world. It is estimated that approximately 641 million adults worldwide are obese. The increase in obesity can be explained by socioeconomic changes and dietary patterns associated with low levels of physical activity. Obese individuals are predisposing to the onset of metabolic complications, such as insulin resistance, subclinical chronic inflammation and oxidative stress. It is known that increased production of cytokines derived from adipocytes is related to impaired insulin action and oxidative stress. On the other hand, it has been reported that avocado intake leads to improvements in glycemic control, lipid profile and oxidative stress. However, the effects of avocado oil supplementation on obesity and the modulation of inflammatory mediators, oxidative stress and insulin sensitivity are not conclusive and require further investigation. In this context, the present study evaluated the effects of avocado oil supplementation on physiological and behavioral parameters and inflammatory and oxidative stress markers in C57BL/6J mice diet-induced obese. For this, mice were divided into two groups: fed standard diet and fed high fat diet for 20 weeks. Afterwards, an insulin tolerance test was performed to verify the installation of insulin resistance. After confirmation, the animals were divided into 4 groups: Control (Control NS); Control + avocado oil (Control + AO); Diet-induced obesity (DIO NS); Diet-induced obesity + avocado oil (DIO + OA). The supplemented groups received avocado oil (4 mL / kg body weight) orally once daily for 90 days. After that, glucose oral tolerance test, open field, object recognition and plus maze were performed. After supplementation, the animals were euthanized and the blood, epididymal adipose tissue, liver, quadriceps and hippocampus were removed for histological, molecular and biochemical analysis. The results demonstrated that supplementation with avocado oil was able to improve insulin sensitivity, improve short- and long-term memory, decrease hepatic fat accumulation and decrease serum triglycerides in diet-induced obese animals. In addition, levels of DCF, nitrite and carbonylation of proteins in the epididymal adipose tissue, quadriceps and liver, as well as the carbonyl content in the hippocampus were significantly decreased in DIO + AO animals, concomitant with the increase in endogenous antioxidant activity in these animals. Supplementation in obese animals further induced reduction of the proinflammatory cytokines TNF α and IL-1 β in epididymal adipose tissue and quadriceps, and IL-1 β in the hippocampus. Taken together, the results demonstrated that diet-induced obesity alters metabolic parameters in a tissue-dependent manner and that avocado oil may be an effective strategy in the treatment of obesity-related complications, even without changes in body weight.

Key words: obesity; oxidative stress; inflammation; insulin resistance; cognitive function; avocado oil.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Efeitos metabólicos da hipertrofia do tecido adiposo branco.	19
Figura 2. Efeitos fisiológicos e efeitos patológicos das espécies reativas de oxigênio.....	23
Figura 3. Sistema de defesa antioxidante enzimático.....	25
Figura 4. Condições geradoras de estresse oxidativo na patogênese da obesidade e o papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de riscos à saúde associados à obesidade	27
Figura 5. Desenho experimental.....	35
Figura 6. Caixa para realização do teste de campo aberto.	38
Figura 7. Aparelho para realização do teste de reconhecimento de objetos.....	39
Figura 8. Aparato labirinto em cruz elevada	39
Figura 9. Sensibilidade à insulina em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	46
Figura 10. Consumo energético e composição corporal em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate	47
Figura 11. Níveis de citocinas através de kit ELISA no tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate..	49
Figura 12. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.	50
Figura 13. Atividade de enzimas antioxidantes no tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	51
Figura 14. Níveis de citocinas através de kit ELISA no músculo quadríceps de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	52
Figura 15. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no músculo quadríceps de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate	53
Figura 16. Atividade de enzimas antioxidantes no músculo quadríceps de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	54
Figura 17. Níveis de citocinas através de kit ELISA no fígado de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.	55
Figura 18. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no fígado de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	56

Figura 19. Atividade de enzimas antioxidantes no fígado de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate	57
Figura 20. Fotomicrografias histológicas de tecido hepático coradas em hematoxilina e eosina de camundongos C57BL/6 suplementados ou não com óleo de abacate.....	58
Figura 21. Alterações cognitivas em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	60
Figura 22. Níveis de citocinas e neurotrofinas através de kit ELISA no hipocampo de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.	62
Figura 23. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no hipocampo de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	63
Figura 24. Atividade de enzimas antioxidantes no hipocampo de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	64
Figura 25. Efeitos da obesidade induzida por dieta no fígado, adiposo epididimal, músculo esquelético, corrente sanguínea e hipocampo.....	77
Figura 26. Efeitos da suplementação com óleo de abacate em animais obesos induzidos por dieta no fígado, adiposo epididimal, músculo esquelético, corrente sanguínea e hipocampo..	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição da dieta hiperlipídica da empresa PragSoluções	35
Tabela 2 - Metil ésteres majoritários presentes no óleo de abacate Pazze	45
Tabela 3 - Níveis de lipídeos séricos em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.....	48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- AGE - Produtos Finais de Glicação Avançada, do inglês *Advanced Glycation end Products*.
- AMPK - Proteína Quinase Ativada por AMP, do inglês *AMP-activated protein kinase*.
- BDNF - Fator Neurotrófico Derivado do Cérebro, do inglês *Brain-Derived Neurotrophic Factor*.
- CAT – Catalase.
- ChREBP - Proteína de Ligação ao Elemento Responsivo ao Carboidrato, do inglês *Carbohydrate-Responsive Element-Binding Protein*.
- DCF – Diclorofluoresceína.
- DHAP - Fosfato de Diidroxiacetona, do inglês *Dihydroxyacetone Phosphate*.
- DNA - Ácido Desoxirribonucleico, do inglês *Deoxyribonucleic Acid*.
- ERO – Espécies Reativas de Oxigênio.
- F4/80 - Receptor 1 de Hormônio semelhante à Mucina, Contendo Módulo Semelhante ao EGF, do inglês *EGF-like module-containing mucin-like hormone receptor-like 1*.
- FADH₂ – Flavina Adenina Dinucleotídeo, do inglês *Flavin Adenine Dinucleotide*.
- FFAR4 / GPR120 - Receptor de Ácido Graxo Livre 4 / Receptor Acoplado à Proteína 120, do inglês *FFAR4 Free Fatty Acid Receptor 4 / G-protein Coupled Receptor 120*.
- GAPDH - Gliceraldeído-3-Fosfato Desidrogenase, do inglês *Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase*.
- GPX - Glutaciona Peroxidase.
- GSH – Glutaciona Reduzida.
- GSSG – Glutaciona Dissulfeto.
- HDL – Lipoproteína de Alta Densidade, do inglês *High Density Lipoprotein*.
- IL-10 – Interleucina 10.
- IL-13 – Interleucina 13.
- IL-1 β – Interleucina 1 Beta.
- IL-33 – Interleucina 33.
- IL-4 – Interleucina 4.
- IL-6 – Interleucina 6.
- IMC – Índice de Massa Corporal.
- iNOS - Óxido Nítrico Sintase Induzível, do inglês *Nitric Oxide Synthase Inducible*.
- IR - Receptor de Insulina, do inglês *Insulin Receptor*.
- JNK - c-jun Quinase N-terminal, do inglês *c-Jun N-terminal Kinase*.

- K_{ITT} – Constante de Decaimento da Glicose.
- LDL – Lipoproteína de Baixa Densidade, do inglês *Low Density Lipoprotein*.
- LPS – Lipopolissacarídeo.
- LTB4 – Leucotrieno B4.
- MCP1 - Proteína Quimiotática de Macrófago 1, do inglês *Monocyte chemoattractant protein 1*.
- MUFA – Ácido Graxo Monoinsaturado, do inglês *Monounsaturated Fatty Acid*.
- NAD(P)H oxidase / NOX - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo Fosfato Oxidase, do inglês *Nicotinamide Adenine Dinucleotide Phosphate oxidase*.
- NADH - Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo, do inglês *Nicotinamide adenine dinucleotide*.
- NF κ B – Fator Nuclear do *Kappa B*, do inglês *Nuclear Factor Kappa B*.
- NLRP3 - Receptor do Inflamassoma do tipo NOD Contendo o Domínio Pirina 3, do inglês *Nod-Like Receptors Pyrin Domain-containing 3 Inflammasomes*.
- PKC – Proteína Quinase C, do inglês *Protein Kinase C*.
- PTEN - Fosfatase e Tensina Homóloga, do inglês *Phosphatase and Tensin Homolog*.
- PTP1B – Proteína Tirosina Fosfatase 1B, do inglês *Protein-Tyrosine Phosphatase 1B*.
- PUFA – Ácido Graxo Poli-insaturado, do inglês *Poliunsaturated Fatty Acid*.
- RBP4 – Proteína Ligante de Retinol A, do inglês *Retinol Binding Protein 4*.
- RI – Resistência à Insulina.
- SCD - Estearoil-CoA Dessaturase, do inglês *Stearoyl-CoA Desaturase*.
- SNC – Sistema Nervoso Central.
- SOD – Superóxido Dismutase, do inglês *Superoxide Dismutase*.
- STAT6- Transdutor de Sinal e Ativador de Transcrição 6, do inglês *Signal Transducer and Activator of Transcription 6*.
- TBARS - Substâncias Reativas ao Ácido Tiobarbitúrico, do inglês *Thiobarbituric Acid Reactive Substances*.
- TGF β - Fator de Crescimento Transformador Beta, do inglês *Transforming Growth Factor Beta*.
- TLR4 - Receptor Semelhante ao Toll 4, do inglês *Toll like receptors 4*.
- TNF α – Fator de Necrose Tumoral Alfa, do inglês *Tumor Necrosis Factor Alpha*.
- VLDL – Lipoproteína de Muito Baixa Densidade, do inglês *Very Low Density Lipoprotein*.
- β -NGF – Fator de Crescimento Nervoso Beta, do inglês *Nerve Growth Factor Beta*.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	17
1.1 OBESIDADE.....	17
1.1.1 Obesidade, inflamação e resistência à insulina.....	18
1.1.2 Estresse oxidativo na obesidade.....	22
1.1.3 Obesidade e função cognitiva.....	27
1.2 INTERVENÇÕES NUTRICIONAIS COMO TERAPÊUTICA DA OBESIDADE.....	29
1.2.1 Abacate e suas propriedades	29
1.2.2 Abacate e obesidade.....	30
2 OBJETIVOS	33
2.1 OBJETIVO GERAL.....	33
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	33
3 MATERIAL E MÉTODOS	34
3.1 ASPÉCTOS ÉTICOS	34
3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS E DIETA	34
3.2.1 Suplementação com óleo de abacate	35
3.2.1.1 Análise do óleo de abacate por cromatografia gasosa.....	36
3.2.1.1.1 <i>Preparo da amostra.....</i>	36
3.2.1.1.2 <i>Instrumentação.....</i>	36
3.2.1.1.3 <i>Identificação e quantificação dos metil ésteres de ácidos graxos.....</i>	36
3.2.2 Controle da ingestão alimentar.....	36
3.3 TESTE DE TOLERÂNCIA INTRAPERITONEAL À INSULINA.....	37
3.4 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE	37
3.5 TESTES COMPORTAMENTAIS	37
3.5.1 Teste comportamental de atividade exploratória: habituação ao campo aberto.....	37
3.5.2 Reconhecimento de objeto.....	38
3.5.3 Teste comportamental de ansiedade: teste de labirinto em cruz elevado.....	39
3.6 LIPÍDEOS SÉRICOS.....	40
3.7 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA.....	40
3.8 DOSAGENS DE CITOCINAS	40
3.9 DOSAGENS DE FATORES NEUROTRÓFICOS.....	41
3.10 PRODUÇÃO DE OXIDANTES	42
3.10.1 Espécies reativas por diacetato de difluoresceína (DCFH).....	42

3.10.2 Indicador de formação de óxido nítrico (NO)	42
3.11 MARCADORES DE DANOS OXIDATIVOS.....	42
3.11.1 Carbonil	43
3.12 DEFESAS ANTIOXIDANTES.....	43
3.12.1 Atividade SOD	43
3.12.2 Atividade da CAT	43
3.13 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS.....	44
3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	44
4 RESULTADOS	45
4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE PAZZE.....	45
4.2 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A SENSIBILIDADE À INSULINA.....	45
4.3 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE O CONSUMO ENERGÉTICO E A COMPOSIÇÃO CORPORAL.....	46
4.4 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE LIPÍDEOS SÉRICOS.....	48
4.5 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS NO TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL.....	48
4.6 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL.....	49
4.7 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL.....	50
4.8 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS NO MÚSCULO QUADRÍCEPS.....	51
4.9 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO MÚSCULO QUADRÍCEPS.....	52
4.10 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO MÚSCULO QUADRÍCEPS.....	53
4.11 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS NO FÍGADO.....	54
4.12 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO FÍGADO.....	55

4.13 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO FÍGADO.....	56
4.14 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A HISTOLOGIA DO TECIDO HEPÁTICO.....	57
4.15 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A COGNIÇÃO.....	58
4.16 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS E NEUROTROFINAS NO HIPOCAMPO.....	61
4.17 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO HIPOCAMPO.....	63
4.18 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO HIPOCAMPO.....	64
5 DISCUSSÃO.....	65
6 CONCLUSÃO.....	78
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	79
ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DA CEUA	109
ANEXO B - LAUDO ANALÍTICO DA DIETA HIPERLÍPIDICA.....	110

1 INTRODUÇÃO

1.1 OBESIDADE

A obesidade pode ser descrita como um acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal capaz de acarretar prejuízos à saúde (Moraes et al., 2013); caracterizada pelo desequilíbrio no balanço energético, em que as combinações de alta ingestão calórica juntamente com o estilo de vida sedentário levam ao aumento significativo de peso corporal (Santos e Rabinovich, 2011), seguido pelo aumento do tecido adiposo, menor longevidade e maior morbidade, com grandes propensões ao desenvolvimento de doenças como diabetes, hipertensão, doenças cardiovasculares, dislipidemias e aterosclerose (Rito e Breda, 2006; Pérez et al., 2013; Sasson et al., 2014).

A obesidade atinge proporções epidêmicas em grande parte do mundo e vem crescendo a cada década. Atualmente verifica-se que o aumento da obesidade se dá em escala global, afetando tanto os países desenvolvidos quanto os em processo de desenvolvimento, e ocorrendo principalmente no contexto urbano (NCD-RisC, 2016). No ano de 1975 a obesidade atingia 4 milhões de homens e 71 milhões de mulheres no mundo, enquanto que em 2014, aproximadamente 266 milhões de homens e 375 milhões de mulheres foram classificados como obesos. Destes, 58 milhões dos homens e 126 milhões das mulheres apresentam obesidade severa (NCD-RisC, 2016). No Brasil, nos últimos dez anos, a população com excesso de peso cresceu 26,3% e o número de indivíduos obesos aumentou 60% (Ministério da Saúde, 2017). Conforme os dados da Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (VIGITEL), 57,7% dos homens e 50,5% das mulheres possuem excesso de peso, 18,1% da população masculina e 19,6% das mulheres são obesas (Ministério da Saúde, 2017).

O aumento dos índices de obesidade se deve ao conjunto de modificações ambientais que impulsionam o indivíduo a ganhar peso através da criação de um padrão alimentar inadequado. A influência do meio externo contribui para o maior consumo de alimentos industrializados com alta densidade energética e poucos nutrientes, ao mesmo tempo em que há um aumento na inatividade física devido à natureza cada vez mais sedentária de muitas formas de trabalho, mudança de modos de transporte e aumento da urbanização (Malik et al., 2013; WHO, 2018). Além disso, a composição genética dos indivíduos mostra forte associação com a predisposição de se tornarem obesos (Bouchard et al., 2007; Farooqi, 2014). A substituição de frutas e verduras por alimentos processados, refinados, ricos em

carboidratos, gorduras e conservantes tem como desdobramento o aumento do peso corporal e vários outros desfechos desfavoráveis à saúde, que incluem resistência à insulina (RI) e síndrome metabólica (Ríos-Hoyo et al., 2014).

1.1.1 Obesidade, inflamação e resistência à insulina

As complicações decorrentes da obesidade estão associadas, em parte, com alterações no tecido adiposo. Inicialmente, o papel do tecido adiposo branco é armazenar a energia excedente no corpo, garantindo a homeostase energética através da mobilização dos estoques de triglicerídeos ou ácidos graxos, conforme as necessidades metabólicas (Maury e Brichard, 2010). No entanto, os adipócitos também atuam no sistema nervoso central (SNC) regulando indiretamente a ingestão alimentar, através da secreção de leptina (Zhang et al., 1994; Friedman, 2011). Além da leptina, os adipócitos produzem uma variedade de moléculas biologicamente ativas, denominadas adipocinas (como o fator de necrose tumoral alfa – TNF α e a interleucina 1 β – IL-1 β), demonstrando o potencial endócrino deste tecido (Jung e Choi, 2014; Alomar et al., 2015).

A rápida hipertrofia do tecido adiposo, decorrente do acúmulo excessivo de triglicerídeos em resposta à sobrecarga de nutrientes e a baixos níveis de atividade física, leva a sua remodelação, afetando todos os seus componentes celulares. A hipertrofia dos adipócitos é seguida pela infiltração de macrófagos e aumento da inflamação com produção exacerbada de adipocinas pró-inflamatórias, como TNF α , IL-1 β e interleucina 6 (IL-6) (Kintscher et al., 2008; Gaelic et al., 2010; Alomar et al., 2015), acompanhado por um aumento da liberação de ácidos graxos livres e desregulação da secreção de leptina (Gaelic et al., 2010) e adiponectina (Wree et al., 2012). Juntos, estes eventos levam ao desenvolvimento de um quadro de inflamação crônica subclínica (Gregor e Hotamisligil, 2011; Flehmig et al., 2014). Tais alterações culminam no aumento da ingestão alimentar, redução do gasto energético através de ações no hipotálamo e alterações na homeostase de tecidos como músculo e fígado, promovendo RI (Gaelic et al., 2010) (Figura 1).

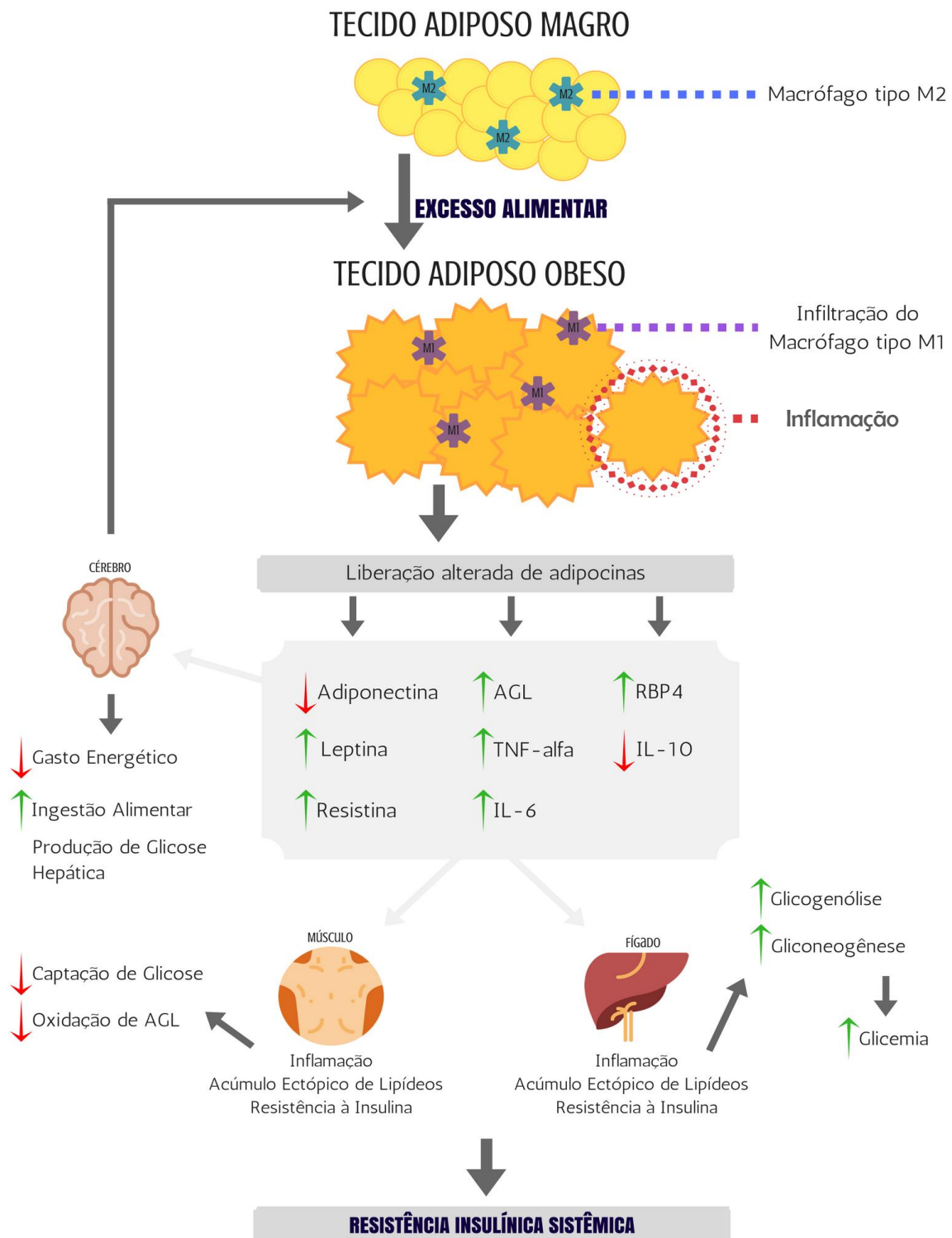


Figura 1. Efeitos metabólicos da hipertrofia do tecido adiposo branco. Hipertrofia do tecido adiposo induz a infiltração de macrófagos e alteração na secreção de adipocinas e liberação de ácidos graxos, levando à inflamação crônica de baixo grau. Como consequência, há aumento da ingestão alimentar, diminuição do gasto energético, desequilíbrio homeostático de tecidos periféricos (principalmente músculo e fígado), agravando o quadro inflamatório e promovendo RI. AGL = ácidos graxos livres. IL = interleucina. RBP4 = Proteína Ligante de Retinol A.

Fonte: Adaptada de Gaelic e colaboradores (2010).

A inflamação é uma característica comum que tem sido implicada na fisiopatologia de vários distúrbios associados à obesidade (Brestoff e Artis, 2015). Inúmeras citocinas secretadas pelo tecido adiposo em indivíduos obesos, tal como o TNF α , são capazes de modular a ação periférica da insulina (Osborn e Olefsky, 2012; Wensveen et al., 2015). O TNF α inibe a sinalização do receptor de insulina (IR) impedindo a propagação do seu sinal (Yamasaki et al., 2018), além de aumentar a lipólise nos adipócitos, com consequente liberação de ácidos graxos circulantes (Nakamura et al., 2014). Níveis elevados de ácidos graxos circulantes podem desencadear RI em diversos tecidos, como fígado e músculo (Sartipy e Loskutoff, 2003; Kraegen e Cooney, 2008; Barma et al., 2009; Zhang et al., 2011). Estudos têm demonstrado que a obesidade resulta da instalação de um processo inflamatório no hipotálamo, que além de levar a resistência a hormônios anorexígenos, como insulina e leptina, gera um defeito na regulação da ingestão alimentar e do gasto energético (De Souza et al., 2005; Zabolotny et al., 2008; Moraes et al., 2009; Myers et al., 2010; Berglund et al., 2012; Li et al., 2012).

Outro exemplo da relação entre desordens da obesidade e inflamação é a IL-1 β . Collins e colaboradores (2018) observaram significativa relação entre maior porcentagem de gordura corporal e aumento nos níveis séricos de IL-1 β em animais obesos induzidos por dieta rica em gorduras e açúcares (40% gordura e 45% açúcares). Estudos mostraram que o excesso de gordura corporal é um forte indutor de citocinas pró-inflamatórias (Manning et al., 2008; Calder et al., 2011; Dror et al., 2017). Recentemente, Dror e colaboradores (2017) demonstraram que os níveis de IL-1 β são maiores no período pós-prandial. Estes mesmos autores observaram que animais obesos induzidos por dieta rica em gordura (58% das calorias provenientes de gordura saturada) expressaram maiores níveis de IL-1 β em macrófagos, o que contribui para a RI e aumento do perfil inflamatório. Em contrapartida, estudos demonstraram que a redução de peso corporal e de gordura visceral, especificamente, podem aumentar os níveis de adipocinas anti-inflamatórias, como adiponectina e IL-10, e reduzir os níveis de adipocinas pró-inflamatórias, como TNF α e IL-1 β (Arslan et al., 2010; Gaelic et al., 2010; Dror et al., 2017).

Um dos maiores fatores que contribuem para a prevalência da obesidade e aumento da inflamação, é a escolha da dieta, destacando-se aqueles induzidos por alguns ácidos graxos. Krishnan e Cooper, demonstraram em 2014 que o tipo de gordura da dieta pode ter influência, uma vez que manifestações mais pronunciadas de obesidade, inflamação e RI são observadas quando a fonte de gordura contém quantidades substanciais de gordura saturada. Lancaster e colaboradores (2018) demonstraram que o excesso do ácido graxo saturado palmitato leva ao

aumento da fosforilação de JNK e da liberação de TNF α . Por outro lado, o ácido graxo insaturado palmitoleato é incapaz de induzir a liberação de TNF α ou a fosforilação da JNK. O palmitato ativa moléculas da via inflamatória e o excesso de ácidos graxos saturados de cadeia longa, ativam, indiretamente, os receptores semelhantes ao Toll 4 (TLR4), os quais desempenham uma conexão importante entre os sistemas imune inato / adaptativo e o sistema metabólico, regulando a inflamação induzida pela obesidade (Lancaster et al., 2018). Além disso, tem sido relatado o papel inflamatório desempenhado pela microbiota intestinal, que, conseqüentemente, leva à inflamação sistêmica (Sonnenburg e Backhed, 2016). Foi demonstrado que a obesidade e dietas ricas em gordura saturada alteram a composição da microbiota do intestino, aumentando a absorção intestinal de produtos microbianos derivados do intestino que levam a um aumento da concentração de lipopolissacarídeos (LPS) circulantes, um processo denominado endotoxemia metabólica (Cani et al., 2007; Sonnenburg e Backhed, 2016). Este processo, pode iniciar a inflamação do tecido adiposo e a ativação de macrófagos de maneira dependente da sinalização via TLR4 (Caesar et al., 2015). Uma vez recrutados para o tecido adiposo, os macrófagos, como resultado de uma reprogramação metabólica, tornam-se altamente sensíveis aos efeitos inflamatórios dos ácidos graxos saturados de cadeia longa, cujas concentrações estão elevadas no tecido adiposo obeso (Lancaster et al., 2018)

Em contrapartida, alguns estudos sugerem que dietas ricas em carboidratos causam maior acúmulo de gordura que dietas ricas em gordura. A ingestão de carboidratos estimula a secreção de insulina, facilitando o armazenamento de gordura no tecido adiposo e evitando a sua oxidação por tecidos metabolicamente ativos. Uma vez que a gordura dietética não estimula a secreção de insulina, estes estudos apontam que as dietas baixas em carboidratos, mas maiores em gordura, reduzem a secreção de insulina, promovendo a perda de gordura do tecido adiposo e tornando os ácidos graxos livres disponíveis para oxidação (Westman et al., 2007; Taubes, 2011; Ludwig e Friedman, 2014; Hall et al., 2017). No entanto, ainda existem controvérsias em relação ao efeito tanto dos carboidratos quanto das gorduras no processo de perda de peso. Hall e colaboradores (2017) encontraram que a redução seletiva de carboidratos na dieta resultou na diminuição da secreção de insulina, aumento da oxidação de gorduras e aumento da perda de gordura corporal em comparação com uma dieta normocalórica. Em contraste, a redução de gordura na dieta, apesar de não ter levado a mudanças significativas na secreção de insulina ou oxidação de gorduras em relação à dieta normocalórica, significativamente levou a maior perda de gordura corporal quando comparada a uma dieta restrita em carboidratos (Hall et al., 2017).

Apesar das discrepâncias encontradas na literatura em relação ao efeito dos macronutrientes no aumento de peso corporal, a literatura reporta que uma dieta rica em frutas, vegetais e grãos pode prevenir diversas doenças, tais como doenças cardiovasculares, diabetes e câncer (Fiedor e Burda, 2014; Mangge et al., 2014).

1.1.2 Estresse oxidativo na obesidade

O estresse oxidativo ocorre nas células como consequência de um desequilíbrio no sistema redox, devido ao excesso de radicais livres / espécies reativas, depleção de antioxidantes ou ambos (Birben et al., 2012; Schieber e Chandel, 2014). Espécies reativas de oxigênio (ERO) são átomos ou moléculas instáveis, altamente reativos, que possuem um ou mais elétrons não pareados ocupando orbitais externos. Na tentativa de recuperar sua estabilidade, estas moléculas ligam-se a compostos estáveis retirando elétrons a fim de adquirir constância, originando dezenas de ERO (Halliwell e Gutteridge, 2007; Birben et al., 2012). Produzidas em todos os sistemas biológicos e por diferentes vias, possuem meia vida extremamente curta, são altamente reativas e reagem facilmente com moléculas que se localizam em torno do seu sítio de formação (Roberts e Sindhu, 2009). As espécies reativas incluem os radicais livres ânion superóxido ($O_2^{\bullet -}$), radical hidroxila (OH^{\bullet}), óxido nítrico (NO), radicais orgânicos (R^{\bullet}), radicais peróxil (ROO^{\bullet}) e alcóxil (RO), radical tiol (RS), radical sulfonil (ROS^{\bullet}), radical peróxido tiol (RSOO) e dissulfetos (RSSR) e espécies não radicalares como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), o oxigênio *singlet* (1O_2), ozônio trioxigênio (O_3), hidróxidos orgânicos (ROOH), hipoclorito (HOCl), peroxinitrito (ONO-), ânion carbonato peroxinitroso ($O=NOOCO_2$), ânion nitrocarbonato ($O_2NOCO_2^-$), dióxido de nitrogênio (NO_2), a carbonila derivada de dióxido de nitrogênio (NO_2) e a carbonila derivada de hidratos de carbono ou lipídios altamente reativos (Liou e Storz, 2010; Oliveira e Schoffen, 2010; Xu et al., 2014). A formação de radicais livres e ERO se propaga rapidamente, acontecendo constantemente reações de óxido-redução (Mamede e Pastore, 2004; Choi et al., 2006).

O oxigênio é considerado o principal fornecedor de espécies reativas. Sob condições fisiológicas normais, grande parte das ERO é produzida na mitocôndria, através da cadeia respiratória, onde mais de 95% do oxigênio consumido é reduzido à água e o restante utilizado na formação de ERO (2 a 5%) (Hernansanz-Agustin et al., 2017; Miranda-Vizuet e Veal, 2017). O processo de redução do oxigênio a água requer quatro elétrons, formando assim duas moléculas de água. Porém, o oxigênio pode ser reduzido por um elétron por vez,

levando à produção de ERO. As primeiras ERO produzidas são o O_2^{\bullet} e o H_2O_2 , que são menos reativos e menos danosos. Porém, na presença de metais de transição como ferro e cobre eles são convertidos a OH^{\bullet} , que apresenta alta reatividade com a célula (Halliwell e Gutteridge, 1999; Dickinson e Chang, 2011). A produção excessiva de O_2^{\bullet} leva a formação de peroxinitrito ($ONOO^{\bullet}$), através da reação do O_2^{\bullet} com o NO, o que causa a redução da biodisponibilidade do NO e a nitrosilação de proteínas (Huertas et al., 2013). Contudo, estes compostos podem ser gerados em outros eventos bioquímicos; por células sanguíneas, em resposta a processos inflamatórios (Valko et al., 2007), pela auto-oxidação de catecolaminas e lipoxigenases, através das xantinas oxidases, citocromo P450-oxidase, nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato oxidase (NAD(P)H oxidase) (Barbosa et al., 2010) e por fatores externos tais como poluição, tabagismo e dieta inadequada (Scandalios, 2005).

As ERO estão envolvidas em processos importantes, tais como os produtores de energia, fagocitose, homeostase e equilíbrio do crescimento e da sinalização celular, síntese de compostos biológicos e defesa contra micro-organismos. No entanto, quando em excesso apresentam efeitos maléficos, ocasionando prejuízos como danos a membranas lipídicas, a proteínas e ao DNA (ácido desoxirribonucleico) (Cominetti et al., 2011; Talukder, 2011; Schieber e Chandel, 2014) (Figura 2). A regulação adaptativa dos sistemas de defesa pode proteger, parcialmente ou totalmente, a célula contra os danos oxidativos, mas pode também levar a danos teciduais e eventualmente a morte celular por necrose ou apoptose (Valko et al., 2007). Portanto, caso não haja mecanismos de defesa eficientes, como a ativação do sistema de defesa antioxidante, os danos oxidativos podem trazer prejuízos significativos à saúde (Barreiros et al., 2006).

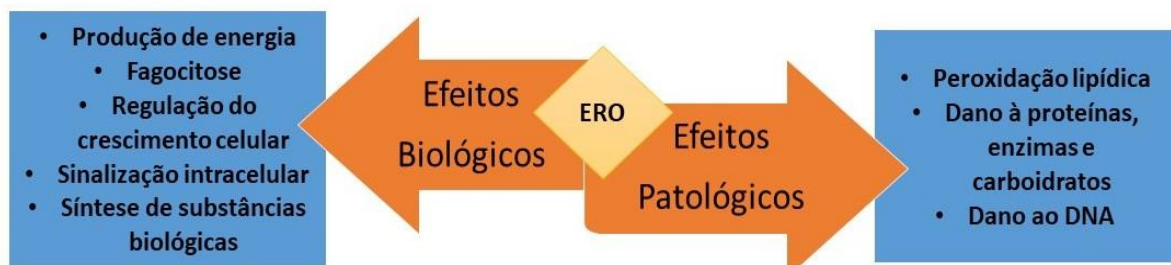


Figura 2. Efeitos fisiológicos e efeitos patológicos das espécies reativas de oxigênio.

É através do sistema de defesa antioxidante, que em condições fisiológicas normais o excesso de ERO e de seus produtos são transformados em substâncias inócuas ao organismo (Poljsak et al., 2013). Os antioxidantes são definidos como qualquer substância que, mesmo presente em baixas concentrações, quando comparada a do substrato oxidável, regenera o

substrato ou previne significativamente a oxidação do mesmo de maneira eficaz (Halliwell e Gutteridge, 2007; Poljsak et al., 2013). Este sistema de defesa constitui complexa organização bioquímica, e encontra-se distribuído nos compartimentos extra e intracelular, do qual participam enzimas e moléculas de origem endógena e exógena (Poljsak et al., 2013). Estas substâncias podem ser classificadas em enzimáticas, não enzimáticas e de membrana. Entre os antioxidantes de membrana encontra-se a vitamina E, que atenua os efeitos da peroxidação lipídica (Poljsak et al., 2013). Os não enzimáticos apresentam funções diferenciadas, dos quais se destacam: ácido úrico, albumina, vitamina C, bilirrubina e proteínas plasmáticas. A albumina liga-se a metais de transição e ao radical hidroxila, estabilizando-os (Roche et al., 2008). O ácido úrico reage com os oxidantes peroxila e hidroxila antes destes penetrarem na membrana, e quela metais de transição (Halliwell et al., 2000). A vitamina C é um potente antioxidante, atuando sobre os radicais superóxido, peróxido de hidrogênio, hidroxila e peroxila, assim como regenera a vitamina E evitando a peroxidação lipídica (Miller et al., 2013).

Os principais componentes do sistema antioxidante enzimático incluem a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT) e a glutathione peroxidase (GPX), que são ativadas normalmente durante o metabolismo celular. Porém, suas atividades podem aumentar em função da presença de ERO (Miller et al., 2013; Schieber e Chandel, 2014). A enzima SOD constitui a primeira linha de defesa enzimática contra a produção intracelular de radicais livres, catalisando a dismutação do ânion superóxido a peróxido de hidrogênio ($O_2^{\bullet-} + O_2^{\bullet-} + 2H^+ \rightarrow H_2O_2 + O_2$), através de sucessivas oxidações e reduções dos metais de transição que constituem seu centro ativo (Tamayo et al., 2016) (Figura 3). Existem três isoformas de SOD no organismo, onde SOD1 encontra-se no citoplasma e contém Cu^{2+} e Zn^{2+} como centro redox, não sendo sua atividade afetada pelo estresse oxidativo. A segunda isoforma, SOD2, é expressa em mitocôndrias, apresenta Mn^{2+} como centro redox e tem sua atividade aumentada na presença de estresse oxidativo. Por último, a SOD3 está presente no líquido extracelular apresentando Cu^{2+} e Zn^{2+} como centro redox (Tamayo et al., 2016).

A enzima CAT está localizada principalmente no peroxissoma, entretanto, outras organelas como as mitocôndrias podem apresentar pequena atividade de CAT. Tem como principal função catalisar a degradação do H_2O_2 (Walton e Pizzitelli, 2012), apresentando elevado *turnover* sob condições favoráveis, atingindo a capacidade máxima de 6 milhões de moléculas de H_2O_2 por minuto (Valko, 2006). Na reação, o H_2O_2 é oxidado a oxigênio molecular e reduzido à água ($2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$) (Walton e Pizzitelli, 2012) (Figura 3).

Descrita primariamente como protetora da degradação oxidativa de hemoglobinas no eritrócito (Mills, 1957), a GPX catalisa a redução do H_2O_2 ($\text{H}_2\text{O}_2 + 2\text{GSH}$ (glutationa) \rightarrow GSSG (glutationa dissulfeto) + H_2O) e hidroperóxidos orgânicos ($\text{ROOH} + 2\text{GSH} \rightarrow \text{ROH} + \text{GSSG} + \text{H}_2\text{O}$) para água e álcool, usando a glutatona como doador de elétrons (Halliwell e Gutteridge, 2007; Neto et al., 2012). Com cerca de cinco isoformas existentes em mamíferos, a GPX1 (citosol) é a principal redutora de H_2O_2 (Valko, 2006) (Figura 3).

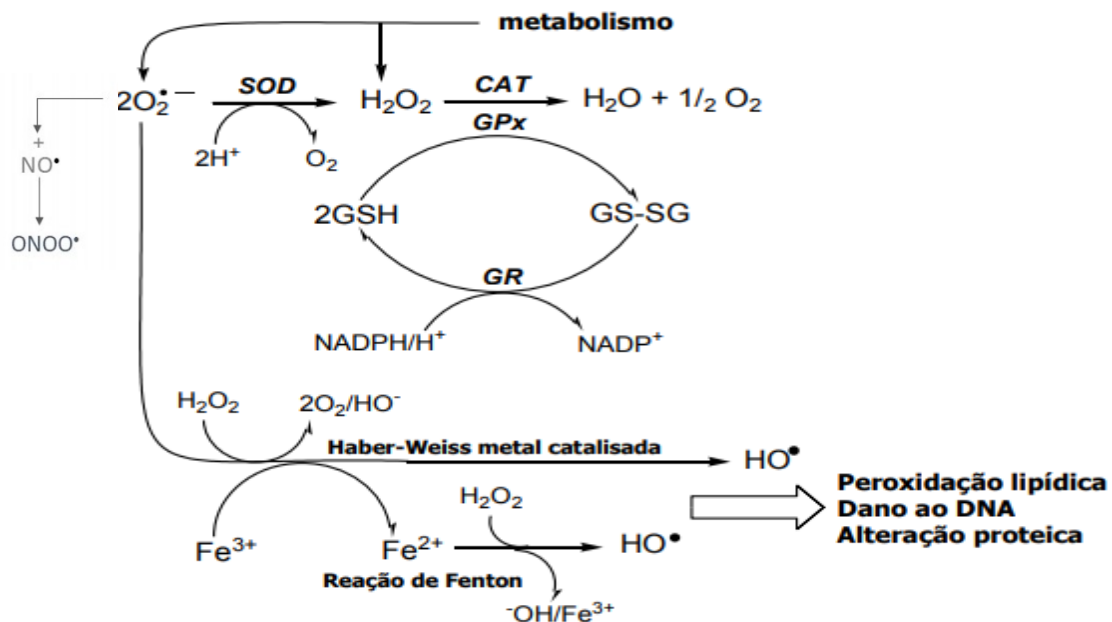


Figura 3. Sistema de defesa antioxidante enzimático. A espécie reativa ânion superóxido pode reagir com o NO^{\bullet} , gerando ONOO^{\bullet} ou a enzima SOD catalisa a dismutação do $\text{O}_2^{\bullet -}$ a H_2O_2 e O_2 . A enzima CAT oxida o H_2O_2 a H_2O e O_2 . A adição de ferro (Reação de Fenton) ao H_2O_2 produz OH^{\bullet} . Por fim, A GPX catalisa a redução do H_2O_2 a água e álcool, utilizando a GSH como doador de elétrons.

Fonte: Adaptada de Neto e colaboradores (2012).

Em indivíduos obesos, há uma relação inversa entre gordura corporal, obesidade visceral e marcadores de defesa antioxidante (Chrysohoou et al., 2007). O estresse oxidativo pode estimular a deposição de tecido adiposo branco, aumento na proliferação de pré-adipócitos, na diferenciação de adipócitos e no tamanho dos adipócitos maduros e alterar a ingestão de alimentos (Higuchi et al., 2013). As ERO estão envolvidas no controle do peso corporal exercendo diferentes efeitos sobre os neurônios hipotalâmicos, que controlam a saciedade e o comportamento da fome (Horvath et al., 2009). Evidências sobre o estresse oxidativo induzido pela obesidade são sustentadas a partir de estudos clínicos que estabelecem correlações de biomarcadores e/ou produtos finais do estresse oxidativo (peroxidação lipídica e carbonilação de proteínas) com o IMC (Vincent e Taylor, 2006;

Sankhla et al., 2012). Adipócitos hipertrofiados são fontes significativas de ERO, acarretando em disfunções no tecido adiposo (Manna e Jain, 2015). Indivíduos obesos apresentam aumento de ácidos graxos livres circulantes, bem como armazenamento excessivo de gordura no tecido adiposo branco. Níveis elevados de ácidos graxos livres no plasma promovem a geração de ânion superóxido na cadeia transportadora de elétrons (Egnatchik et al., 2014). Além disso, na obesidade, o aumento de ERO pode ocorrer devido a hiperglicemia (Aronson et al., 2002), deficiências de vitaminas e minerais (Ortega et al., 2012), inflamação crônica (Fernández-Sánchez et al., 2011), comprometimento da função mitocondrial (Pennathur e Heinecke, 2007), tipo de dieta (Khan et al., 2006), entre outros.

Roedores obesos possuem alto grau de peroxidação lipídica e produção de H_2O_2 no tecido adiposo, enquanto que tem a expressão e atividade de enzimas antioxidantes como SOD, GPX e CAT reduzidas (Furukawa et al., 2004). Além disso, o estresse oxidativo associado à obesidade também tem sido demonstrado por alterar a função de diversos outros tecidos (como o endotelial vascular, cardíaco e hepático), contribuindo para uma infinidade de desordens metabólicas relacionadas à obesidade, principalmente RI (Urakawa et al., 2003; Kanokwan et al., 2009; Jaiswal et al., 2015).

A sobrecarga intracelular de glicose, encontrada na obesidade, aumenta a via glicolítica e o ciclo do ácido tricarboxílico, levando à superprodução de NADH (nicotinamida adenina dinucleotídeo) e FADH₂ (flavina adenina dinucleotídeo). O aumento exacerbado dessas coenzimas causa vazamento de elétrons no complexo III da cadeia respiratória, levando à produção de superóxido. Esse radical livre inibe a gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH) e, portanto, redireciona os metabólitos para quatro vias alternativas (Pennathur e Heinecke, 2004): a) a glicose é deslocada para a via do poliol; b) a frutose-6-fosfato é direcionada para a via da hexosamina; c) os fosfatos de triose produzem metilglioal, o principal precursor dos produtos finais de glicação avançada (AGE); e d) o fosfato de diidroxiacetona (DHAP) é convertido em diacilglicol, o qual ativa a via PKC. A ativação dessas vias alternativas induz o estresse oxidativo / nitrosativo, aumentando a produção de radicais livres ou prejudicando as defesas antioxidantes. A formação de AGE e ativação de PKC, por exemplo, estimulam a produção de espécies reativas de oxigênio e nitrogênio ativando NOX e NF-κB (Diaz-Meco e Moscat, 2012; Piperi et al., 2012). Ativação de NF-κB impulsiona a transcrição de citocinas pró-inflamatórias (como o TNFα), da enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e microRNAs envolvidos na adipogênese, inflamação e estresse oxidativo (Bondia-Pons et al., 2012).

Algumas das condições geradoras de estresse oxidativo na obesidade e o papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de riscos à saúde associados à obesidade são descritos na Figura 4.

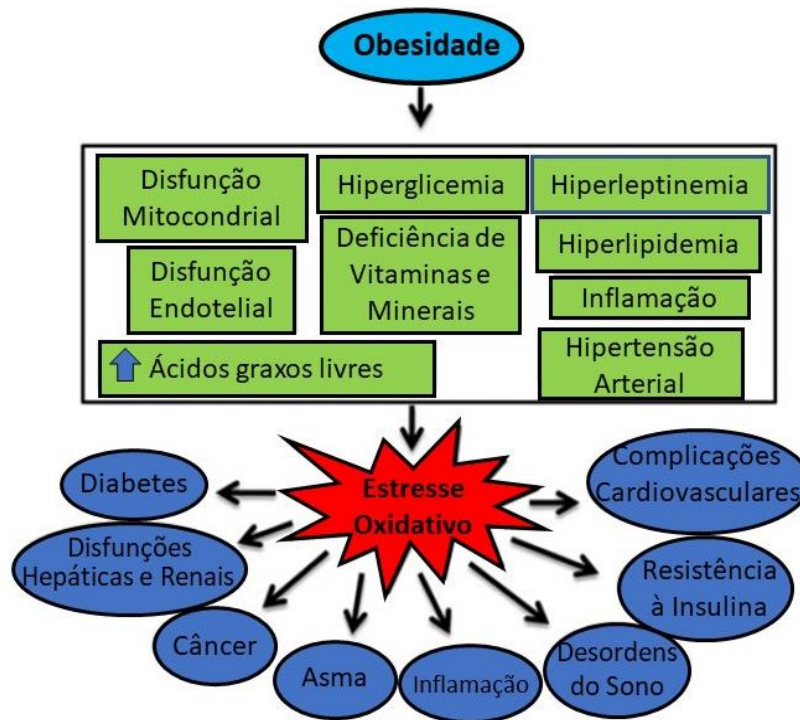


Figura 4. Condições geradoras de estresse oxidativo na patogênese da obesidade e o papel do estresse oxidativo no desenvolvimento de riscos à saúde associados à obesidade.

1.1.3 Obesidade e função cognitiva

Embora os sistemas nervoso central e periférico sejam bastante distintos em forma e função, ambos são suscetíveis à disfunção induzida pela obesidade, sugerindo que mecanismos comuns que contribuem para a progressão da doença podem ser perpetuados pela adiposidade visceral. Também é importante reconhecer que a obesidade controla outros componentes da síndrome metabólica que estão fortemente ligados a déficits neurológicos (por exemplo, existem fortes associações entre a RI e o declínio cognitivo) (O'Brien et al., 2017).

Evidências acumuladas demonstram que o SNC e a função cognitiva são adversamente afetados pela obesidade. Por exemplo, estudos de meta-análise mostraram uma forte associação entre obesidade e distúrbios neurológicos, como demência e doença de Alzheimer (Anstey et al., 2011; Pedditizi et al., 2016), e indicam que indivíduos obesos têm duas vezes mais chances de desenvolverem doença de Alzheimer comparados a indivíduos

eutróficos (Anstey et al., 2011). Além disso, um estudo *post-mortem* mostrou que pacientes idosos, obesos mórbidos, apresentaram níveis mais elevados de marcadores hipocampais associados à Doença de Alzheimer (proteína β -amilóide e proteína tau) em relação a indivíduos não obesos (Mrak, 2009).

Tem sido bem estabelecido que o comprometimento cognitivo leve ocorre antes da demência, e vários estudos prospectivos (Elias et al., 2005; Cournot et al., 2006; Sabia et al., 2009; Hassing et al., 2010) demonstraram que a obesidade confere risco aumentado de comprometimento cognitivo leve, e que isto é independente da idade. Embora haja controvérsias na relação entre obesidade e prejuízo cognitivo (Alhurani e colaboradores relataram, em 2016, que a perda de peso com o envelhecimento prediz o comprometimento cognitivo leve e Qizilbash e colaboradores, em 2015, não observaram relação entre aumento do risco de comprometimento cognitivo leve e IMC elevado), a maioria dos estudos indica que IMC elevado está associado a déficits de atenção, pouca função executiva, comprometimento da tomada de decisões e diminuição da aprendizagem verbal e de memória. Além disso, a alta ingestão de gordura dietética reduz a plasticidade sináptica no hipocampo e córtex cerebral de roedores (Molteni et al., 2002; Wu et al., 2003; Stranahan et al., 2008), e há evidências que suportam a hipótese do aumento de apoptose neuronal nas regiões do hipocampo e hipotálamo alterando a função cognitiva (Moraes et al., 2009; Rivera et al., 2013).

As alterações na função cognitiva desencadeadas pela obesidade e a síndrome metabólica podem estar associadas à diminuição do fator neurotrófico derivado do cérebro BDNF (Wu et al., 2004). O BDNF suporta a plasticidade sináptica e a excitabilidade neuronal (Jovanovic et al., 2000) e possui importante papel na manutenção da função de aprendizagem e memória (Kovalchuk et al., 2002). Pistell e colaboradores, em 2010, demonstraram associação do aumento de inflamação cerebral com níveis diminuídos do fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF). A ativação da microglia no hipocampo de ratos, via injeção local de LPS, causa aumento na produção de $IL-1\beta$ e $TNF\alpha$ e diminuição da expressão de BDNF (Tanaka et al., 2006).

Desta maneira, a complexa patogênese da obesidade indica a necessidade de diferentes estratégias interventivas para confrontar esse problema. Suplementos alimentares e terapias baseadas em dietas ou medicamentos para redução de peso estão entre as alternativas medicinais mais comuns (Barnes et al., 2002; Fiedor e Burda, 2014; Mangge et al., 2014). Como alternativa de tratamento da obesidade e suas complicações, uma variedade de plantas e frutos, quer como compostos puros ou como extratos, que exercem efeitos positivos no

metabolismo lipídico e da glicose, além de atividade anti-inflamatória, vêm sendo estudados, entre os quais, encontra-se o abacate (Hasani-Ranjbar et al., 2013).

1.2 INTERVENÇÕES NUTRICIONAIS COMO TERAPÊUTICA DA OBESIDADE

1.2.1 Abacate e suas propriedades

A alimentação é um fator que desempenha papel fundamental no estilo de vida, influenciando na saúde e qualidade de vida. Sabe-se que populações com alto consumo de carnes, laticínios e açúcares têm uma maior taxa de mortalidade do que aquelas que se alimentam principalmente de frutas, legumes, peixes e óleos insaturados (Gorinstein et al., 2011).

O abacate (*Persea americana*), pertencente a família Lauraceae, é um fruto nativo das Américas Central e do Sul. Crescentes evidências a cerca dos benefícios do abacate tem conduzido tanto para o aumento do consumo quanto para o incentivo à pesquisas sobre os seus benefícios à saúde. Em 2011, a produção mundial de abacate atingiu 4,4 milhões de toneladas, aumentando cerca de 20% de 2007 a 2011 (FAO, 2013).

A parte comestível do abacate é composta principalmente por óleos, tendo predomínio do ácido oleico (Bergh et al., 1992; Fulgoni et al., 2013; Duarte et al., 2016). Quanto aos hidratos de carbono, cerca de 60% são derivados de açúcares de sete carbonos, tais como D-manoseptulose e perseitol (Liu et al., 2002). Quando comparados a outros frutos/frutas, abacates são ricos em gordura (aproximadamente 15g a cada 100g), sendo estas, predominantemente ácidos graxos monoinsaturados (9,6g a cada 100g), que representam 62,8% a 63,6% do total dos ácidos graxos encontrados nos abacates (Langenhoven et al., 1991; Fulgoni et al., 2013). Além disso, contêm aproximadamente 5.2g de fibras a cada 100g (75% insolúveis e 25% solúveis) e fitonutrientes essenciais (Naveh et al., 2002; Fulgoni et al., 2013). Abacates são fonte de fitoquímicos e nutrientes tais como vitamina E, luteína, glutathione, β -sitosterol, folato, potássio, magnésio e fibras (Dreher e Davenport, 2013).

Nos últimos anos, tem crescido as investigações a cerca dos benefícios do consumo de abacate, principalmente na forma de óleo extravirgem. O óleo de abacate possui propriedades físico-químicas semelhantes às do óleo de oliva, principalmente pela composição de seus ácidos graxos, predominando em ambos o ácido oleico (Tango et al., 2004). O óleo extraído da polpa do fruto é rico em ácidos graxos poli-insaturados (PUFA): linoleico (6,1 - 22,9%) e linolênico (0,4 - 4%); e monoinsaturados (MUFA): oleico (31,8 - 69,6%). A composição dos

ácidos graxos do óleo de abacate varia conforme suas cultivares, estágio de maturação, região anatômica do fruto e localização geográfica do plantio (Tango et al., 2004).

O óleo de abacate possui elevados níveis de antioxidantes, que incluem polifenóis, proantocianidinas, tocoferóis e carotenóides, que têm mostrado resultados positivos para a saúde. Estudos em humanos e modelos animais mostraram que ele ajuda a controlar o peso, reduz o risco de diabetes (Lerman-Garber et al., 1994; Radika et al., 2013), normaliza os níveis sanguíneos de colesterol (Carvajal-Zarrabal et al., 2014) e está envolvido no metabolismo hepático (Werman et al., 1991; Brai et al., 2014).

1.2.2 Abacate e obesidade

Os efeitos anti-obesidade do abacate têm sido relatados tanto para as folhas quanto para o fruto. As folhas do abacateiro são tradicionalmente utilizadas como tratamento alternativo para doenças como hipertensão, diarreia, piorreia, hemorragia e dor de garganta (Brai et al., 2007). Brai e colaboradores (2007) relataram que o tratamento com solução aquosa e extratos metanólicos das folhas da *Persea Americana* (10 mg / kg) durante 8 semanas em ratos hipercolesterolêmicos (alimentados com dieta contendo 20% de óleo de amendoim, 0,5% de colesterol e 0,25% de ácido oleico) reduziu em 25% o ganho de peso corporal quando comparados ao controle. Padmanabhan e Arumugam (2014) observaram que a suplementação com extrato hidroalcoólico do fruto (100 mg / kg de peso corporal), durante 12 semanas, significativamente reduziu o ganho de peso (24,77%) e o IMC (17,92%) em ratos alimentados com dieta rica em gordura. Em ratos diabéticos, a administração de uma única dose de extrato aquoso do abacate (100-200 mg / kg) melhorou a concentração sanguínea de glicose após 12h (diminuição de 24, 22 e 32% com 100, 150, e 200 mg / kg, respectivamente) (Antia et al., 2005).

Algumas evidências apontam que o abacate possui ação hepatoprotetora. Estudo realizado com ratos intoxicados por CCL4 (estimulador de dano hepático) mostrou que o pré-tratamento com extrato aquoso de abacate (100 e 200mg / kg) por 7 dias protegeu os animais contra a toxicidade hepática induzida por CCL4, uma vez que reduziu a atividade das enzimas hepáticas aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase séricas, assim como bilirrubina sérica (Brai et al., 2014).

O sitosterol ácido oléico é o principal componente do óleo de abacate. Os fitoesteróides, como o sitosterol, campesterol e estigmasterol são esteróides de origem vegetal que possuem estrutura química análoga ao colesterol. O estudo destas substâncias e seus

efeitos hipolipemiantes são realizados visando a prevenção e controle de dislipidemias (Martins et al., 2004). O β -sitosterol regula os níveis de colesterol (Wu et al., 2014), diminui os riscos de formação de placas aterogênicas (Rosenblat et al., 2013) e controla a glicemia (Radika et al., 2013). Além disso, melhora no controle da glicemia, perfil lipídico e índice aterogênico tem sido observados em pacientes diabéticos que incluem o abacate em suas dietas (Carranza-Madrigal et al., 2008).

Colette e colaboradores (2003) investigaram os efeitos da dieta rica em MUFA na perda de peso, concentrações séricas de lipídeos e alguns fatores de risco cardiovasculares em indivíduos com sobrepeso durante 8 semanas. Os resultados do estudo mostraram que a diminuição da ingestão energética teve o mesmo efeito sobre a perda de peso corporal que a dieta rica em MUFA. Ainda, a dieta rica em MUFA (provenientes do azeite de oliva e do óleo de abacate) apresentou maior efeito sobre os triglicerídeos séricos quando comparada a dieta pobre em gorduras. MUFAs também diminuem os níveis de colesterol total quando comparado à ácidos graxos saturados (Kien et al., 2014). As altas concentrações de MUFAs no abacate sugerem que a dieta rica em abacate resulta em efeitos benéficos sobre os lipídeos sanguíneos (Mahmassani et al., 2018).

Carvajal-Zarrabal e colaboradores (2014) mostraram que a suplementação com óleo de abacate (7,5% da dieta) em animais alimentados com dieta a base de sacarose resultou em diminuição dos triglicerídeos séricos, LDL-c (lipoproteína de baixa densidade) e VLDL-c (lipoproteína de muito baixa densidade), quando comparados aos animais suplementados com óleo de canola (7,5% da dieta). Adicionalmente, animais suplementados com abacate apresentaram diminuição de inflamação (proteína C reativa). Estudos em humanos e modelos animais mostraram que o abacate ajuda a controlar o peso, reduz o risco de diabetes (Lerman-Garber et al., 1994; Del Toro-Equihua et al., 2016) e está envolvido no metabolismo hepático (Werman et al., 1991).

Seus efeitos sobre o sistema oxidante também tem sido relatados. Ortiz-Avila em 2015 demonstraram que a suplementação com óleo de abacate diminui os níveis de ERO e das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) nas mitocôndrias cerebrais de ratos diabéticos e por outro lado aumenta a razão GSH/GSSG. Quanto às alterações na função mitocondrial foi relatado que o óleo de abacate impede a disfunção renal mitocondrial em ratos com diabetes mellitus tipo 1 induzido por estreptozotocina por preservar a atividade do complexo III da cadeia de transporte de elétrons e atenuar a produção de ERO devido à proteção da integridade do citocromo *c* e *c1* (Ortiz-Avila et al., 2013).

No entanto, as pesquisas acerca dos efeitos do abacate são escassas, e pouco tem sido relatado sobre os efeitos do óleo de abacate na redução de mediadores inflamatórios, estresse oxidativo e consequente melhoria da sensibilidade à insulina. Adicionalmente, os componentes fitoquímicos do óleo de abacate são também relacionados à melhora do perfil metabólico (Carvajal-Zarrabal et al., 2014), de modo que, espera-se que as propriedades benéficas do óleo de abacate resultem em inúmeros efeitos benéficos para a saúde. Desta forma, o presente estudo buscou avaliar os efeitos da suplementação com óleo de abacate sobre o perfil metabólico, fisiológico, comportamental, inflamatório, e de estresse oxidativo sistêmico e central em camundongos obesos.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de abacate sobre parâmetros fisiológicos, comportamentais e marcadores inflamatórios e de estresse oxidativo em camundongos C57BL/6J obesos induzidos por dieta hiperlipídica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Avaliar os efeitos da suplementação de óleo de abacate em camundongos C57BL/6J obesos induzidos por dieta hiperlipídica sobre:

- peso corporal total, índice de adiposidade e ingestão energética;
- sensibilidade à insulina (K_{ITT});
- níveis séricos de triglicerídeos e colesterol total;
- função cognitiva, motora e ansiedade;
- níveis das citocinas $TNF\alpha$, $IL-1\beta$ e $IL-4$ no músculo quadríceps, tecido adiposo epididimal, fígado e hipocampo;
- níveis de fatores neurotróficos no hipocampo;
- produção de ERO, nitrito e carbonilação de proteínas no músculo quadríceps, tecido adiposo epididimal, fígado e hipocampo;
- atividade das enzimas antioxidantes SOD e CAT no músculo quadríceps, tecido adiposo epididimal, fígado e hipocampo;
- histologia do tecido hepático.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 ASPECTOS ÉTICOS

Este projeto foi avaliado e aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade do Extremo Sul Catarinense – UNESC (protocolo 007/2017-1 - ANEXO A). Todos os experimentos respeitaram estritamente os princípios éticos da experimentação animal.

3.2 CARACTERIZAÇÃO DOS ANIMAIS E DIETA

Foram utilizados 40 camundongos C57BL/6J machos, recebidos com quatro semanas de vida provenientes do Centro de Bioterismo da Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC), mantidos em ciclos de 12 horas claro e 12 horas escuro, ambiente com 70% de umidade e com temperatura entre 20°C e 22°C, alojados em gaiolas de poliuretano com cobertura metálica (cinco animais por caixa), alimentados com ração padrão para roedores e água *ad libitum* durante o período de adaptação.

Após período de adaptação, os camundongos foram inicialmente divididos em dois grupos: alimentados por 20 semanas com dieta padrão para roedores (22,0% de proteína; 53,0% de carboidrato; 4% de lipídeos – referente às calorias, o que corresponde a aproximadamente 2,9 kcal/g - Puro Lab 22PB, Porto Alegre, RS), denominado grupo Controle e alimentados por 20 semanas com dieta hiperlipídica (26% de carboidrato; 14,9% de proteína; 59% de gordura – referente às calorias, totalizando 5,35 kcal/g - PragSoluções Serviços e Comércio Ltda, Jaú, SP) (Tabela 1 e Anexo B), denominado grupo DIO.

Tabela 1: Composição da dieta hiperlipídica da empresa PragSoluções

	g/1000g	Kcal/1000g
Amido de milho	147,5	590
Caseína	200	800
Amido Dextrinizado	100	400
Sacarose	100	400
Óleo de soja	40	360
Celulose Microcristalizada	50	-
Mix Mineral AIN93G	35	-
Mix Vitaminas AIN93	10	-
L-cistina	3	-
Bitartarato de Colina	2,5	-
Banha de Porco	312	2808

Após instalação do quadro de resistência à ação da insulina (comprovada pelo teste de tolerância à insulina), os animais foram distribuídos randomicamente em quatro (4) grupos experimentais (n=10):

Grupo 1 – Dieta padrão, não suplementado (Controle NS);

Grupo 2 – Dieta padrão, suplementado com óleo de abacate (Controle + OA);

Grupo 3 – Obeso induzido por dieta, não suplementado (DIO NS);

Grupo 4 – Obeso induzido por dieta, suplementado com óleo de abacate (DIO + OA).

As etapas do trabalho encontram-se na figura 5.

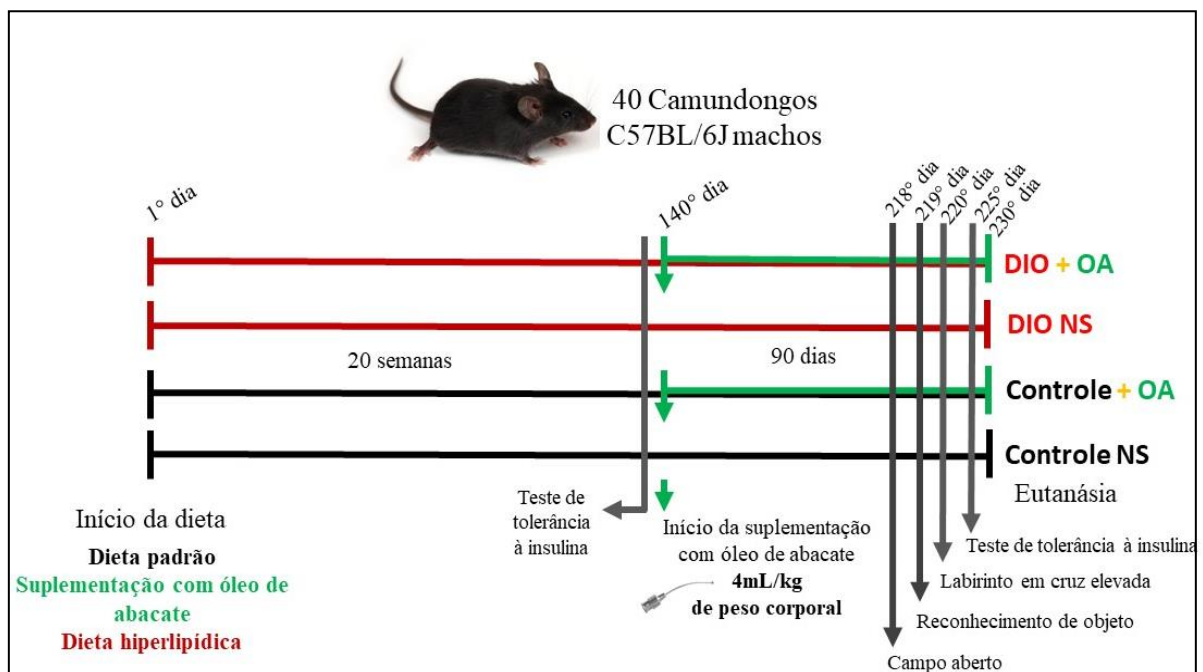


Figura 5. Desenho experimental.

DIO = Obesidade induzida por dieta; NS = Não suplementado; OA = Óleo de abacate.

3.2.1 Suplementação com óleo de abacate

Os animais submetidos à suplementação receberam óleo de abacate prensado à frio (4 mL / kg de peso corporal) via oral, uma vez ao dia, durante 90 dias (Ortiz-Avila et al., 2015). O óleo de abacate foi adquirido da empresa Pазze Indústria de alimentos LTDA (Panambi, Rio Grande do Sul, Brasil) apresentando 100% de pureza. Durante os 90 dias de suplementação, ambos os grupos continuaram a receber suas respectivas dietas.

3.2.1.1 Caracterização do óleo de abacate por cromatografia gasosa

3.2.1.1.1 *Preparo da amostra*

Uma massa de óleo de abacate de 301 mg foi transesterificada pelo método ISO 5509:1978 (ISO, 1978) para obtenção dos metis estéres de ácidos graxos. Em um tubo, adicionou-se a amostra e 5 mL de n-heptano. Submeteu-se o tubo a agitação em vortex por 1 min, então adicionou-se 1 mL de uma solução metanólica de NaOH 0,5 molL⁻¹ e agitou-se novamente em vortex por 1 min. Aguardou-se a separação de fases, coletou-se a fase orgânica superior em outro tubo, adicionou-se sulfato de sódio anidro para remoção de resíduos de água e filtrou-se a solução em um vial. Analisou-se a solução sem diluição.

3.2.1.1.2 *Instrumentação*

Os metis ésteres de ácidos graxos foram determinados em um cromatógrafo a gás Shimadzu (GC 2010-Plus, Shimadzu, Kyoto, Japão) com injetor tipo split-splitless, auto injetor AOC-i-20 e detecção por ionização em chama. Uma coluna capilar de sílica fundida foi usada (CP-SIL 88 for FAME; 100m x 0,25mm x 0,2µm, Agilent Technologies, Palo Alto, USA). As condições cromatográficas foram: volume de injeção de 1,0 µL no modo split 1:100; temperatura do injetor mantida a 250°C; temperatura do detector mantida a 260°C; temperatura do forno inicialmente programada à 100°C, mantida por 5 min, aumento de 4°C min⁻¹ até 200°C e espera de 30 min após alcançada a temperatura final. O gás de arraste utilizado foi o hidrogênio com razão de fluxo de 1,0 mL min⁻¹ e pressão de 140,3 kPa.

3.2.1.1.3 *Identificação e quantificação dos metis ésteres de ácidos graxos*

A quantificação dos metil ésteres de ácidos graxos na amostra de óleo de abacate foi feita por normalização de área e as concentrações foram expressas em g por 100 g de amostra (AOCS, 1996).

3.2.2 Controle da ingestão alimentar

Durante todo o período experimental foram avaliadas as variáveis consumo de ração (diariamente) e peso corporal total (semanalmente). O alimento ingerido foi calculado

diariamente a partir da subtração da quantidade ofertada pela quantidade restante de ração no comedouro dividida pelo número de animais na caixa (5 animais por caixa).

3.3 TESTE DE TOLERÂNCIA INTRAPERITONEAL À INSULINA

Realizou-se o teste de tolerância intraperitoneal à insulina no início e no final do período experimental. O alimento foi retirado durante o período de 10 horas, em seguida, o mesmo foi reintroduzido, permanecendo pelo período de 1 hora nas gaiolas. Após esse período, retirou-se o alimento, afim de garantir que todos os animais passariam pelo mesmo tempo de jejum. O teste foi realizado após quatro horas de jejum. A primeira coleta de sangue representa o tempo zero do teste. Em seguida, injetou-se a insulina Humulin NPH (1 U / Kg de peso corporal) intraperitonealmente e amostras do sangue foram coletadas pela cauda nos tempos 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos, para a determinação da glicose sanguínea através de glicosímetro. Calculou-se a velocidade constante do decaimento da glicose (k_{ITT}) através da fórmula $0,693/t_{1/2}$. O $t_{1/2}$ da glicose foi calculado a partir da curva da análise dos mínimos quadrados da concentração da glicose sérica durante a fase de decaimento linear. Esse teste foi realizado para comprovação da instalação da resistência à insulina nos camundongos obesos.

3.4 ÍNDICE DE ADIPOSIDADE

Após o período experimental, os animais foram submetidos à eutanásia por decapitação com guilhotina e realizou-se a extração e pesagem dos tecidos adiposos epididimal, mesentérico, perirenal e retroperitoneal em balança analítica (0,0001g), para o cálculo do índice de adiposidade (grama de gordura /grama de peso corporal total x 100), expresso como o percentual do peso corporal total.

3.5 TESTES COMPORTAMENTAIS

3.5.1 Teste comportamental de atividade exploratória: habituação ao campo aberto

O comportamento da atividade exploratória e locomotora dos camundongos foi avaliada no campo aberto. O aparelho consistiu em uma caixa de madeira medindo $40 \times 60 \times 50$ centímetros. O piso da arena foi dividido em quadrados iguais (Figura 6). O animal foi

suavemente colocado no lado direito do campo aberto e foram autorizados a explorar livremente a área durante 5 minutos. Dois parâmetros foram obtidos ao longo deste ensaio: locomoção (número de cruzamentos de um retângulo para o outro) e exploratória (número de vezes que os animais estavam apoiados em suas patas traseiras). Após cada teste, o aparelho foi higienizado com solução de etanol a 10%. A luz no interior do aparelho foi mantida no mínimo para evitar comportamentos relacionados à ansiedade.



Figura 6: Caixa para realização do teste de campo aberto.

3.5.2 Reconhecimento de objeto

O teste de reconhecimento de objeto foi realizado em caixa aberta (40 x 60 x 50 centímetros). No primeiro dia, antes de qualquer procedimento, considerado o dia da habituação, o animal foi colocado no canto superior esquerdo na caixa, e deixado por 5 minutos, sem nenhum objeto na caixa. Após 24 horas, na sessão treino, o animal foi recolocado na caixa, com dois objetos exatamente iguais A1 e A2 paralelos e deixados por 5 minutos para que os animais explorassem o ambiente livremente (Figura 7). O tempo de exploração de cada objeto foi cronometrado, para posterior análise através do índice de reconhecimento. Para testar a memória de longa duração o animal foi recolocado na caixa, 24 horas após a sessão treino, com dois objetos, um que o animal já estava familiarizado, A1, e um objeto totalmente distinto, C1, de cor, forma e tamanhos diferentes (Figura 7). O animal foi deixado na caixa pelo tempo de 5 minutos, afim de explorar o novo ambiente (Izquierdo et al., 2006). Para a análise dos resultados foi usado o índice de reconhecimento, onde o tempo total de reconhecimento de ambos os objetos foi considerado 100% e dividido pelo tempo em cada objeto.

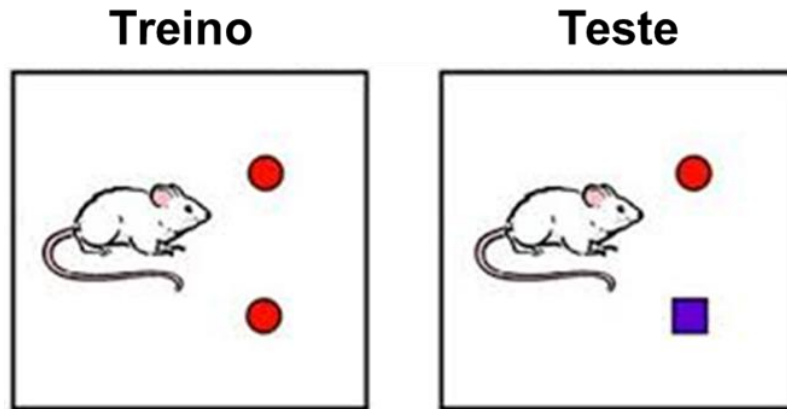


Figura 7: *Teste de reconhecimento de objetos.* Mostrando objetos iguais no treino e objetos diferentes no teste.

3.5.3 Teste comportamental de ansiedade: teste de labirinto em cruz elevado

O aparelho utilizado para este teste consiste em dois braços abertos (30 x 5 cm x 0,25 centímetros) e dois braços fechados (30 x 5 x 15 centímetros) dispostos de forma perpendicular formando uma plataforma central (5 x 5 centímetros), com 50 centímetros de altura do chão (Lister, 1987) (Figura 8). Os experimentos foram conduzidos em sala escura com luz vermelha posicionada a 30 centímetros de altura da plataforma central. Os parâmetros avaliados foram a frequência de entradas e o tempo gasto em cada tipo de braço. Os animais foram colocados na plataforma central e tiveram 5 minutos para explorar o aparelho (Pellow et al., 1985).

Considera-se a porcentagem da preferência (entradas e tempo gasto) pelos braços abertos e pelos fechados um índice fidedigno de ansiedade: quanto maiores os níveis de ansiedade, menor a porcentagem de entradas nos braços abertos e de tempo gasto nos mesmos (Handley e Mithani, 1984; Pellow e File, 1986).



Figura 8: *Aparato labirinto em cruz elevada.*

3.6 LIPÍDEOS SÉRICOS

Para realizar as análises séricas de lipídeos a comida dos animais foi retirada 8 horas antes da eutanásia. As amostras de sangue foram coletadas dos olhos dos animais, o soro foi separado através de centrifugação e armazenado a -20°C . Os níveis de colesterol total (Analisa, Palmitos, Santa Catarina) e triglicérides (Vida Biotecnologia, Belo Horizonte, Minas gerais) foram determinados no soro por ensaio colorimérico enzimático Trinder de acordo com especificações do fabricante.

3.7 AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Fragmentos do tecido hepático foram coletados e colocados em frasco contendo paraformaldeído tamponado à 4% por 24 horas. As amostras foram então processadas com álcool em diferentes concentrações (70%, 80%, 95% e 100%), xilol e parafina. Posteriormente, os tecidos foram incluídos em blocos de parafina, seccionados em cortes de $5\mu\text{m}$ para posteriores análises histológicas. As lâminas foram coradas com coloração de hematoxilina e eosina (HE) a fim de avaliar a histoarquitetura do tecido. A aquisição das imagens foi realizada através de microscópio óptico (Nikon Eclipse Ti-U).

3.8 DOSAGENS DE CITOCINAS

As dosagens das citocinas IL- 1β , IL-4 e TNF α foram realizadas através do método de ELISA, segundo as especificações do fabricante (R&D Systems), nos tecidos adiposo epididimal, quadríceps, fígado e hipocampo. As amostras foram homogeneizadas em tampão de lise (NaCl; MgCl $_2$; KCl; Tris 1,5M; triton; glicerol; ortovanato; aprotinina; pirofosfato; PMSF) e congeladas a -80°C até o dia da realização das análises.

Uma placa de 96 poços foi primeiramente recoberta com 100 μL de solução contendo anticorpo de captura anti-TNF α , anti-IL- 1β ou anti-IL-4, diluídos em tampão *Coating Buffer* (bicarbonato de sódio, carbonato de sódio e água deionizada). As placas foram incubadas *overnight*, na geladeira. Após sucessivas lavagens com 300 μL de *Wash buffer* (PBS e Tween 20 (0,05%)) foi adicionado 200 μL de *Assay Diluent* (PBS contendo 1% de albumina) para o bloqueio, e a placa foi incubada por 1 hora, à temperatura ambiente. As placas foram novamente lavadas e incubadas por 2 horas, à temperatura ambiente, com 100 μL de amostras (quadríceps, adiposo, fígado e hipocampo) e suas respectivas curvas padrões.

Decorrido o tempo de incubação, as placas foram lavadas e incubadas com os anticorpos de detecção anti-TNF α , anti-IL-1 β ou anti-IL-4 durante 1 hora, à temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram novamente lavadas e incubadas com avidina diluída 1:1000 em *Assay Diluent*, durante 30 minutos, à temperatura ambiente. As placas foram lavadas e reveladas com TMB *substrate solution* (Sigma-Aldrich®, St. Louis, EUA). A reação foi interrompida por adição de H₂SO₄ 2N. A leitura da absorbância foi realizada a 450 nm.

3.9 DOSAGENS DE FATORES NEUROTRÓFICOS

As dosagens dos fatores neurotróficos foram realizadas no hipocampo através do método de ELISA, segundo as especificações do fabricante (R&D systems). As amostras foram homogeneizadas em tampão de lise (NaCl; MgCl₂; KCl; Tris 1,5M; triton; glicerol; ortovanato; aprotinina; pirofosfato; PMSF) e congeladas a -80°C até o dia da realização das análises.

Uma placa de 96 poços foi primeiramente recoberta com 100 μ L de solução contendo anticorpo de captura anti-BDNF e anti- β -NGF em tampão *Coating Buffer* (bicarbonato de sódio, carbonato de sódio e água deionizada). As placas foram incubadas overnight, na geladeira. Após sucessivas lavagens com 300 μ L de *Wash buffer* (PBS e Tween 20 (0,05%)), foi adicionado 200 μ L de *Assay diluent* (PBS contendo 1% de albumina) para o bloqueio, e a placa foi incubada por 1 hora, à temperatura ambiente. As placas foram novamente lavadas e incubadas por 2 horas, à temperatura ambiente, com 100 μ L de amostras e suas respectivas curvas padrões.

Decorrido o tempo de incubação, as placas foram lavadas e incubadas com os anticorpos de detecção anti-BDNF e anti- β -NGF durante 1 hora, à temperatura ambiente. Posteriormente, as placas foram novamente lavadas e incubadas com avidina diluída 1:1000 em *Assay diluent*, durante 30 minutos, à temperatura ambiente. As placas foram lavadas e reveladas com TMB *substrate solution* (Sigma-Aldrich®, St. Louis, EUA). A reação foi interrompida por adição de H₂SO₄ 2N. A leitura da absorbância foi realizada em 450 nm.

3.10 PRODUÇÃO DE OXIDANTES

Os tecidos: adiposo epididimal, quadríceps, fígado e hipocampo foram homogeneizados em tampão PBS (5mg de tecido / 100µL de PBS) e congeladas a -80°C até o dia da realização das análises.

3.10.1 Espécies reativas por diacetato de difluoresceína (DCFH)

Os níveis de espécies reativas foram mensurados com base na oxidação da sonda 2',7'- diclorodihidrofluoresceína (DCF) acetato em um composto fluorescente 2',7'- diclorodihidrofluoresceína, como previamente descrito (Hempel et al., 1999). A amostra foi incubada com DCF-DA 80 mM a 37°C durante 15 minutos. A DCF-DA é desesterificada no interior das células por esterases endógenas para o ácido livre ionizado, DCFH. DCFH é oxidado em DCF pelas espécies reativas. A formação deste derivado oxidado fluorescente foi monitorada com os comprimentos de onda de excitação e emissão de 488 e 525 nm, respectivamente. A produção de espécies reativas foi quantificada utilizando uma curva padrão de DCF e os dados foram expressos como U fluoresceína/mg de proteína.

3.10.2 Indicador de formação de óxido nítrico (NO)

A produção de óxido nítrico foi avaliada espectrofotometricamente através do metabólito estável nitrito (NO₂). Para mensurar o conteúdo de nitrito, as amostras foram incubadas com reagente de Griess (1% de sulfanilamida em 0,1 mol/L de HCl e 0,1% de N-(1-naftil) etilenodiamina, dicloridrato) em temperatura ambiente por 10 min, seguido de leitura em 540 nm no espectrofotômetro. O conteúdo de nitrito foi calculado a partir da curva padrão de nitrito de sódio (NaNO₂) - 0 a 200 nM. Os resultados foram expressos em µmol nitrito/mg de proteína (Chae et al., 2004).

3.11 MARCADORES DE DANOS PROTEICOS

Os tecidos: adiposo epididimal, quadríceps, fígado e hipocampo foram homogeneizados em tampão PBS (5mg de tecido / 100µL de PBS) e congeladas a -80°C até o dia da realização das análises.

3.11.1 Carbonil

Os danos oxidativos em proteínas foram mensurados pela determinação de grupos carbonils baseado na reação com dinitrofenilhidrazina, conforme previamente descrito por Levine e colaboradores (1990). Para tal, as amostras foram precipitadas com 20% de ácido tricloroacético e as proteínas dissolvidas com dinitrofenilhidrazina. Após, as amostras foram redissolvidas em 6M-guanidina. O conteúdo de carbonil foi determinado espectrofotometricamente a 370 nm utilizando o coeficiente 22.000 M. Os resultados foram calculados como nmol/mg de proteína empregando o coeficiente de extinção molar de dinitrofenilhidrazonas de 22.000 M^l. cm^l.

3.12 DEFESAS ANTIOXIDANTES

Os tecidos: adiposo epididimal, quadríceps, fígado e hipocampo foram homogeneizados em tampão PBS (5mg de tecido / 100µL de PBS) e congeladas a -80°C até o dia da realização das análises.

3.12.1 Atividade da SOD

A atividade da enzima SOD foi estimada através da inibição da auto-oxidação da adrenalina e lida em um comprimento de onda de 480 nm (McCord e Fridovicj, 1969).

3.12.2 Atividade da CAT

Para a determinação da atividade de CAT as amostras do tecido foram colocadas em tampão fosfato de sódio (PBS) e centrifugadas a 3000rpm durante 10 minutos em centrífuga Eppendorf 5804R (Eppendorf AG, Hamburgo, Alemanha) e o sobrenadante utilizado para o ensaio da enzima. Foi utilizado um ponto zero para cada amostra com tampão fosfato de sódio (PBS), logo após foi adicionado PBS e peróxido de hidrogênio nas amostras. O decaimento avaliado por espectrofotômetro em tempo de um minuto, demonstrou a atividade da CAT em relação ao peróxido de hidrogênio presente. Este protocolo segue a metodologia descrita por Aebi (1984) com adaptações. Os resultados foram expressos em U/mg de proteína.

3.13 DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

O teor de proteína foi determinado usando albumina bovina do soro como padrão (Lowry et al., 1951). O conteúdo total de proteína foi mensurado utilizando o reagente folin-fenol (reagente fosfomolibdico-fosfotúngstico) adicionado para ligar a proteína. O reagente ligado foi lentamente reduzido e alterado de amarelo para azul. A absorbância de 750 nm foi utilizada.

3.14 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram testados quanto à normalidade através do teste de Kolmogorov–Smirnov. Todos os dados foram apresentados como média \pm erro padrão da média. As análises estatísticas foram desenvolvidas utilizando-se o teste de análise de variância de duas vias (*two-way ANOVA*), seguido pelo teste de *Bonferroni's post hoc*. Para a avaliação do teste de reconhecimento de objeto utilizou-se test *t Student* para amostras pareadas e para a análise da constante de decaimento da glicose pré-suplementação foi utilizado test *t Student* para amostras não pareadas. Em todos os experimentos adotou-se o nível de significância de $p < 0,05$. O programa GraphPad Prism versão 7.0 foi utilizado para a aplicação dos testes estatísticos.

4 RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DO ÓLEO DE ABACATE PAZZE

A tabela 2 mostra a concentração dos metil ésteres majoritários presentes no óleo de abacate da marca Pазze, onde pode-se observar predomínio do ácido oleico na composição do óleo de abacate.

Tabela 2: Metil ésteres majoritários presentes no óleo de abacate Pазze

IDENTIFICAÇÃO	CONCENTRAÇÃO (%)
C16:0 Metil palmitato	7.68
C18:0 Metil estearato	2.79
C18:1 (<i>cis</i> -9) Metil oleato	48.73
C18:2 (<i>cis</i> -9,12) Metil linoleato	37.10
C18:3 (<i>cis</i> -9,12,15) Metil linolenato	3.70

4.2 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A SENSIBILIDADE À INSULINA

Com a finalidade de avaliar a influência da dieta hiperlipídica e da suplementação com óleo de abacate na sensibilidade à insulina, realizou-se o teste de tolerância à insulina antes e após o período de suplementação. A eficácia do modelo experimental pode ser observada na Figura 9A. Animais DIO apresentaram menor constante de decaimento da glicose em relação aos animais Controle, indicando a menor sensibilidade a insulina induzida pela ingestão de dieta hiperlipídica. Após o período de suplementação com óleo de abacate os animais foram novamente submetidos ao teste de tolerância à insulina. Observou-se aumento nos níveis de glicemia de jejum nos grupos DIO NS e DIO + OA em relação aos grupos Controle NS e Controle + OA, respectivamente (Figura 9B). Após injeção intraperitoneal de insulina (Figura 9C), os animais DIO NS apresentaram maiores níveis de glicose em relação aos animais Controle NS. O grupo DIO + OA apresentou maiores níveis de glicose entre os tempos 0 e 15 minutos quando comparado aos animais Controle + OA, a partir de 20 minutos, porém, não se observou diferenças estatísticas entre a glicemia dos animais DIO + OA e Controle + OA. Entre os grupos DIO NS e DIO + OA não se obteve diferenças através dos testes estatísticos. No entanto, ao avaliar a constante de decaimento da glicose (KITT), observou-se menor

constante de decaimento no grupo DIO NS em relação aos animais Controle NS e aos animais DIO + OA (Figura 9D).

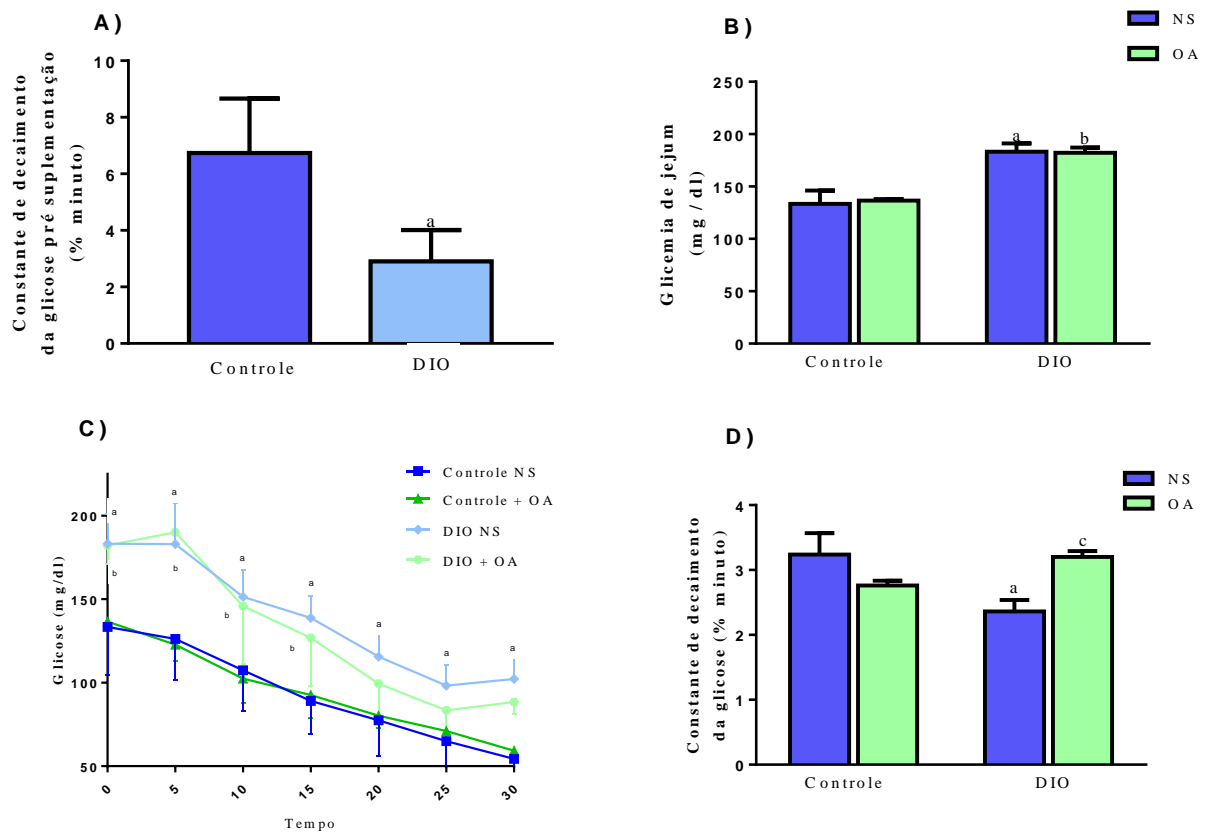


Figura 9. Sensibilidade à insulina em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) constante de decaimento da glicose pré-suplementação após injeção intraperitoneal de insulina, (B) glicemia de jejum, (C) teste de tolerância à insulina após injeção intraperitoneal e (D) constante de decaimento da glicose após injeção intraperitoneal de insulina. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle NS, ^b $p < 0,05$ versus grupo Controle + OA e ^c $p < 0,05$ versus grupo DIO NS (Teste *t* não pareado em A e *two-way* ANOVA, Bonferroni's *post hoc* test em B, C e D). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.3 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE O CONSUMO ENERGÉTICO E A COMPOSIÇÃO CORPORAL

A fim de avaliar os efeitos da suplementação com óleo de abacate sobre a ingestão alimentar e ganho de peso corporal dos animais DIO e Controles, as quantidades ingeridas de ração padrão e dieta hiperlipídica, bem como o peso corporal de cada animal foram controladas diariamente durante todo o período experimental. A figura 10A mostra o ganho de peso corporal total mensal pré e pós-suplementação com óleo de abacate. Foram

encontradas diferenças estatísticas significantes somente após 12 semanas de dieta hiperlipídica entre os grupos DIO e Controles. Os animais DIO permaneceram adquirindo peso corporal até o final do experimento, não sendo observadas diferenças significativas entre os grupos DIO NS e DIO + OA, e entre os grupos Controle NS e Controle + OA. A figura 10B representa a área sobre a curva do ganho de peso corporal total durante todo o período experimental, confirmando o maior ganho de peso nos grupos DIO NS e DIO + OA em relação aos grupos Controle NS e Controle + OA. Resultados similares foram encontrados para índice de adiposidade (Figura 10C). Os grupos DIO e DIO + OA apresentaram maior índice de adiposidade quando comparados aos grupos Controle NS e Controle + OA, respectivamente. Quando analisado o consumo energético diário dos animais, foi observado que os grupos DIO NS e DIO + OA apresentaram maior ingestão energética em relação aos animais Controle NS e Controle + OA. No entanto, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos DIO ou entre os grupos Controle (Figura 10D).

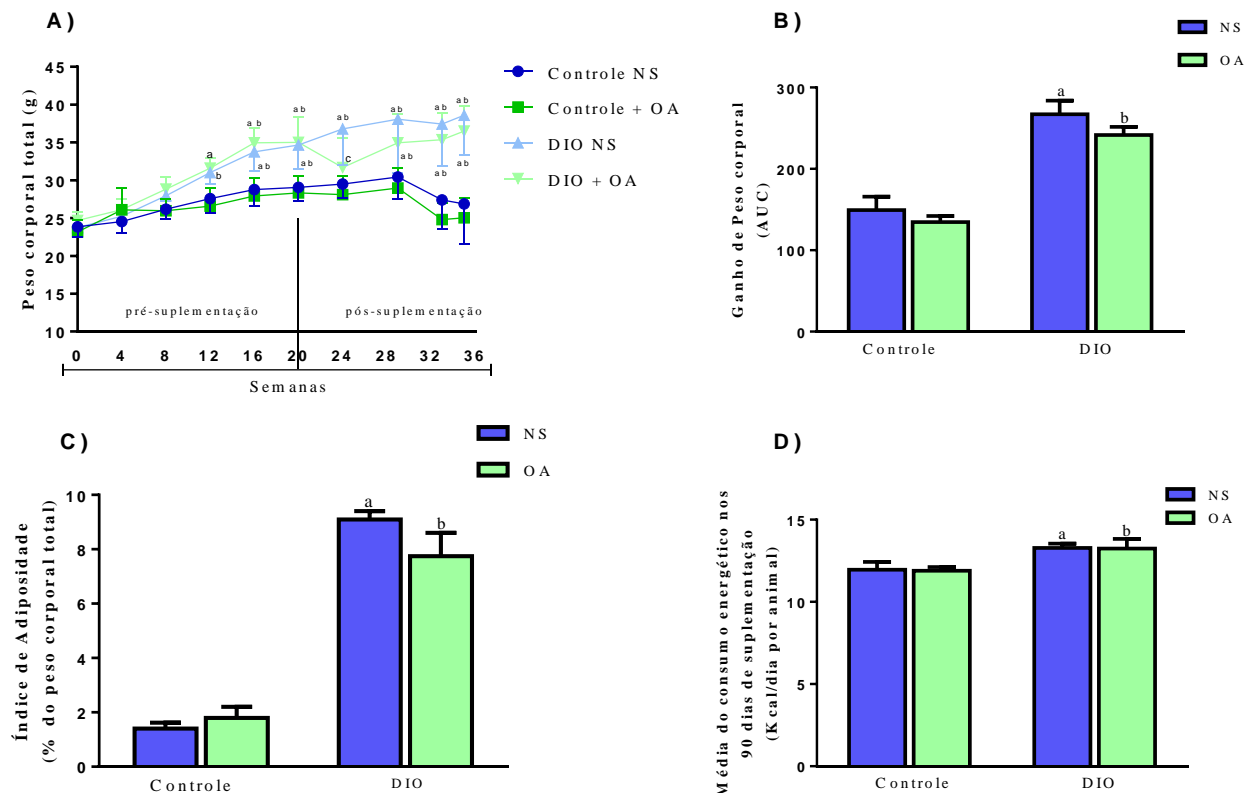


Figura 10. Consumo energético e composição corporal em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) ganho de peso corporal total, (B) área sob a curva do peso corporal total, (C) índice de adiposidade, (D) consumo energético diário. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle NS, ^b $p < 0,05$ versus grupo Controle + OA e ^c $p < 0,05$ versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.4 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE LIPÍDEOS SÉRICOS

O perfil lipídico dos animais pode ser observado na Tabela 3. Ao avaliar os efeitos da suplementação com óleo de abacate sobre o perfil lipídico, foram encontradas alterações positivas nos níveis de triglicerídeos. Os animais do grupo DIO apresentaram maiores níveis séricos de triglicerídeos em relação aos animais do grupo Controle NS. Por outro lado, a suplementação nos animais DIO (DIO + OA) foi eficaz em reduzir os níveis de triglicerídeos aumentados pela dieta hiperlipídica, retornando a níveis similares aos dos animais Controles. Entre os grupos Controle NS e Controle + OA não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas.

Quando avaliados os níveis séricos de colesterol total, observou-se aumento significativo dos níveis nos grupos DIO NS e DIO + OA quando comparados aos animais Controle NS e Controle + OA, respectivamente. No entanto, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas quando comparados os grupos DIO NS e DIO + OA.

Tabela 3. Níveis de lipídeos séricos em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate.

<i>Variáveis</i>	Controle NS	Controle + OA	DIO NS	DIO + OA
	<u>Médias</u>			
<i>Triglicerídeos (mg/dl)</i>	70,71 ± 14,21	75,73 ± 9,06	103,26 ± 8,6^a	77,5 ± 19,58^c
<i>Colesterol Total (mg/dl)</i>	70,25 ± 34,17	73,16 ± 34,47	139 ± 40,94^a	175,6 ± 18,24^b

Médias obtidas das amostras de soro de 5 animais por grupo. Dados são expressos como média ± erro padrão da média. ^ap<0,05 versus grupo Controle, ^bp<0,05 versus grupo Controle + OA e ^cp<0,05 versus grupo DIO (*two-way* ANOVA, Bonferroni's *post hoc* test). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.5 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS NO TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL

Uma vez que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica pode levar a alterações no perfil inflamatório do tecido adiposo, a concentração das citocinas pró-inflamatórias TNF α e IL-1 β e da citocina anti-inflamatória IL-4 foram avaliadas. No grupo DIO NS foi observado aumento nas concentrações de ambas as citocinas pró-inflamatórias, TNF α e IL-1 β , em relação aos animais Controle NS. Por outro lado, a suplementação foi eficaz em reverter esses

níveis nos animais DIO + OA (Figuras 11A e 11B, respectivamente). Resultados similares foram encontrados para a citocina anti-inflamatória IL-4, onde observou-se aumento dessa citocina no grupo DIO NS, seguido da sua diminuição após suplementação com óleo de abacate (DIO + OA). Não foram encontradas diferenças significativamente estatísticas nas concentrações de TNF α , IL-1 β e IL-4 entre os grupos Controle NS e Controle + OA (Figuras 11A, 11B e 11C, respectivamente).

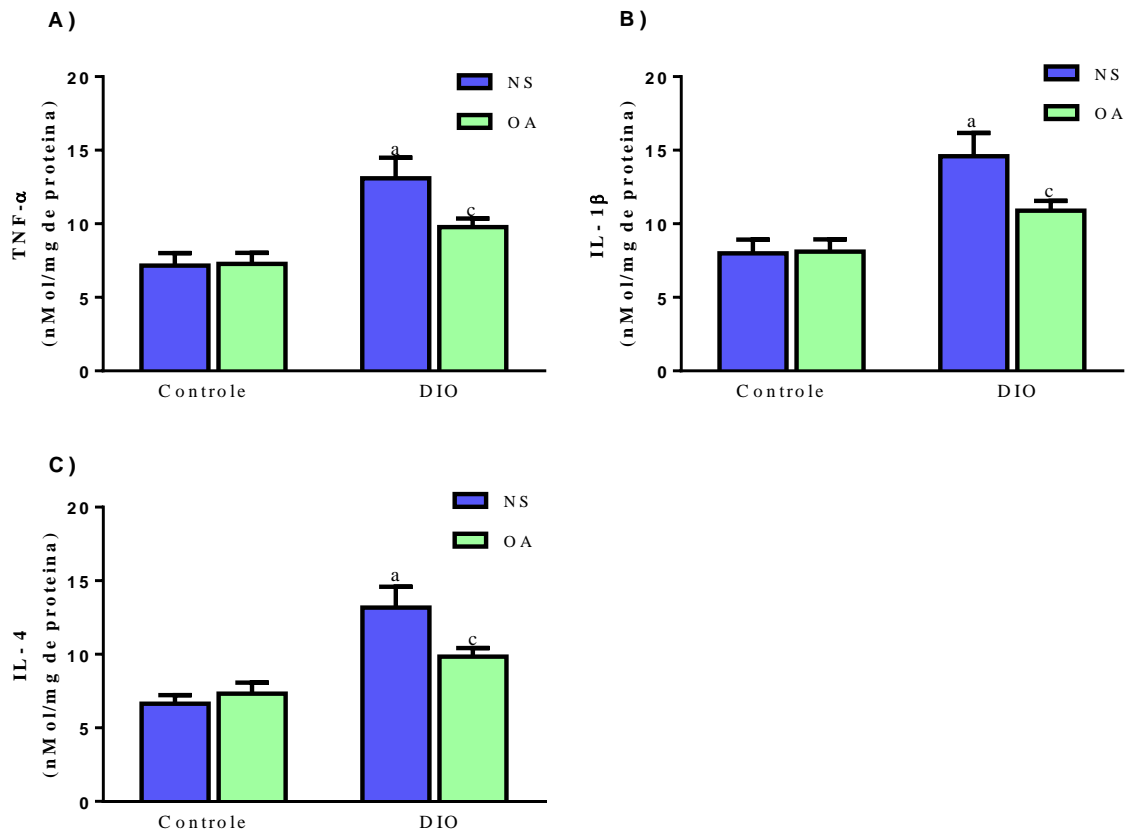


Figura 11. Níveis de citocinas através de kit ELISA no tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) níveis de TNF α , (B) níveis de IL-1 β e (C) níveis de IL-4. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^ap<0,05 versus grupo Controle NS e ^cp<0,05 versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA, Bonferroni's post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.6 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL

Para avaliar os efeitos do óleo de abacate sobre o estado redox e dano oxidativo nos animais Controles e DIO, foram analisadas a oxidação da DCFH, a concentração de nitrito e o conteúdo de carbonil no tecido adiposo epididimal dos camundongos.

A oxidação da DCFH (Figura 12A) e as concentrações de nitrito (Figura 12B) foram alteradas nos animais DIO NS, quando comparados ao grupo Controle NS. Por outro lado, a suplementação com óleo de abacate diminuiu a produção de DCF e de nitrito no grupo DIO + OA quando comparado ao DIO NS e ao Controle + OA. Os animais Controle + OA apresentaram maior concentração de nitrito em relação ao grupo Controle NS.

Quando avaliado o dano oxidativo em proteínas, observou-se que a obesidade induzida por dieta (DIO) aumentou o conteúdo de carbonil, e que, por outro lado, a suplementação com óleo de abacate (DIO + OA) foi eficaz em diminuir esses níveis (Figura 12C). Entre os grupos Controle NS e Controle + OA os testes estatísticos não obtiveram diferenças significativas.

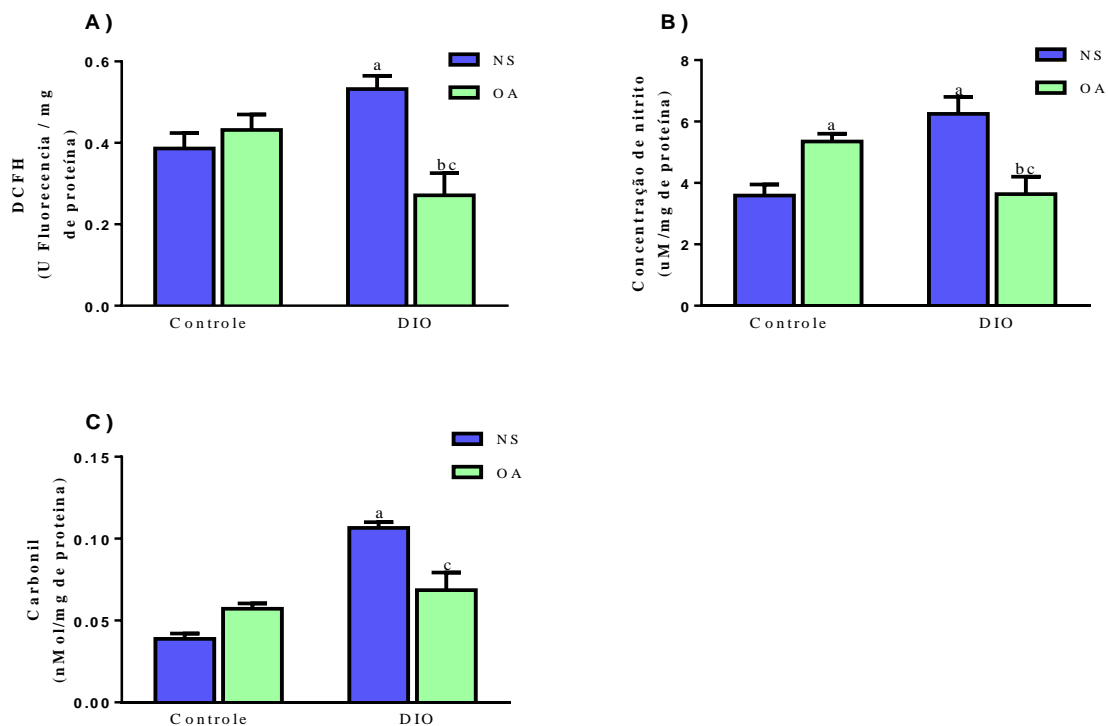


Figura 12. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) oxidação da DCFH, (B) concentrações de nitrito e (C) conteúdo de carbonil. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle NS, ^b $p < 0,05$ versus grupo Controle + OA e ^c $p < 0,01$ versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.7 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO TECIDO ADIPOSEO EPIDIDIMAL

Uma vez observado aumento dos parâmetros oxidativos nos animais DIO NS e diminuição dos mesmos após a suplementação, o sistema de defesa antioxidante foi avaliado através da atividade das enzimas Superóxido Dismutase e Catalase.

Não foram encontradas alterações significativas no grupo DIO NS quando comparado ao grupo Controle NS, na atividade de ambas as enzimas, SOD e CAT (Figura 13A e 13B, respectivamente). No entanto, o grupo DIO + OA aumentou a atividade das enzimas SOD (Figura 13A) e CAT (Figura 13B) em relação aos grupos DIO NS e Controle + OA. Entre os grupos Controles, a suplementação com óleo de abacate (Controle + OA) elevou a atividade da Catalase em relação ao Controle não suplementado (Controle NS).

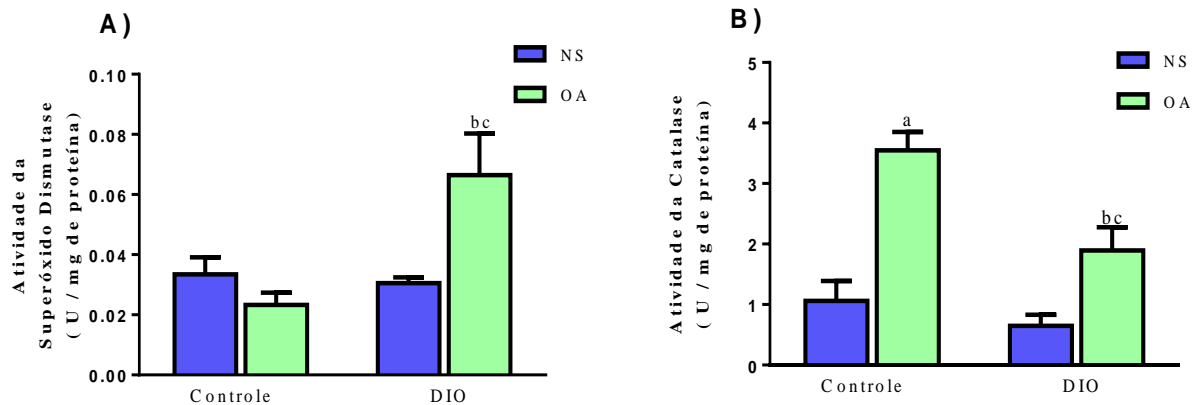


Figura 13. Atividade de enzimas antioxidantes no tecido adiposo epididimal de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) atividade da superóxido dismutase e (B) atividade da catalase. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^a $p < 0,0001$ versus grupo Controle NS, ^b $p < 0,05$ versus grupo Controle + OA e ^c $p < 0,05$ versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.8 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS NO MÚSCULO QUADRÍCEPS

No músculo quadríceps, a obesidade induzida por dieta (DIO NS) elevou os níveis das citocinas pró-inflamatórias TNF α (Figura 14A) e IL-1 β (Figura 14B) quando comparado ao grupo Controle não suplementado (Controle NS). Por outro lado, o grupo DIO + OA apresentou menores concentrações dessas citocinas em relação ao grupo DIO NS. Não foram encontradas diferenças entre os animais dos grupos Controle NS e Controle + OA.

Os níveis de IL-4 foram reduzidos no grupo DIO + OA quando comparado ao grupo DIO NS. Não se observou diferenças estatísticas entre os grupos DIO NS e Controle NS (Figura 14C).

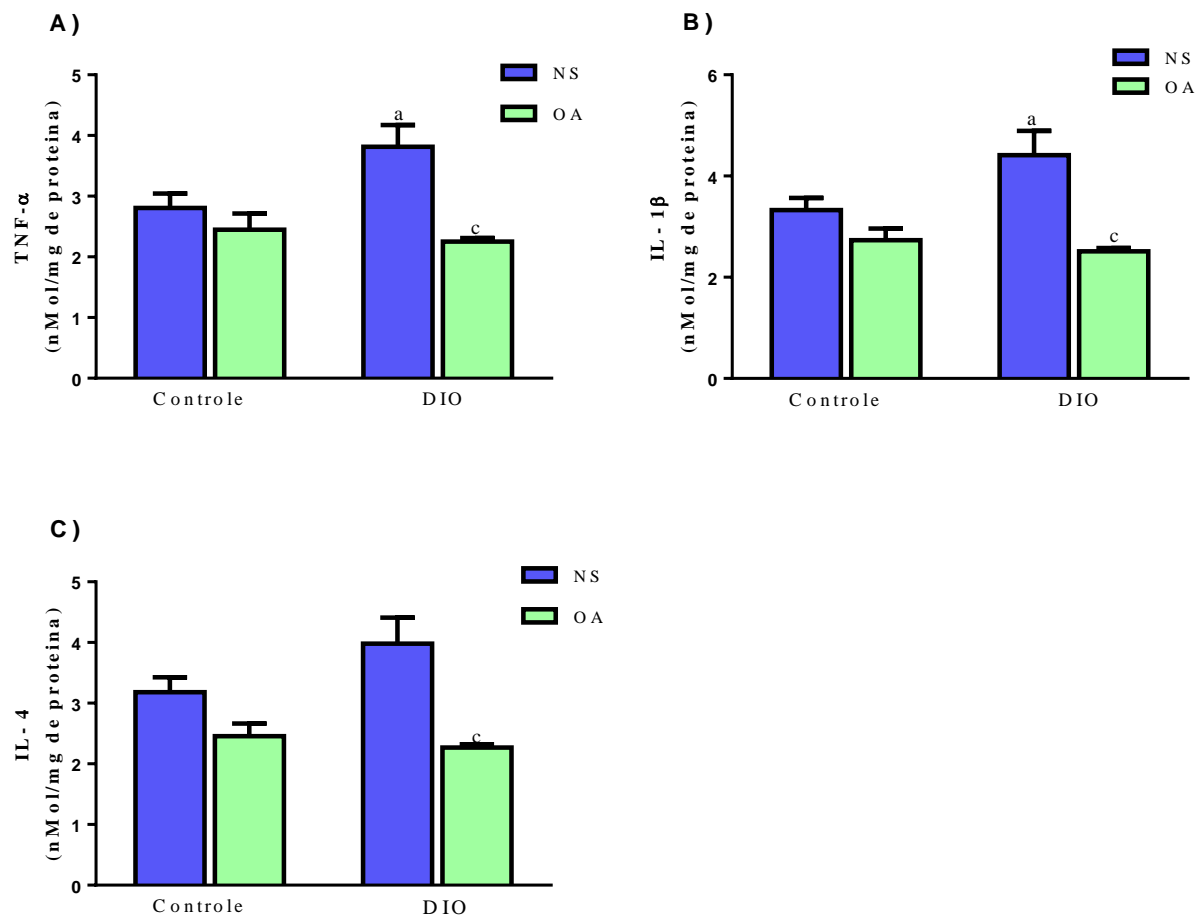


Figura 14. Níveis de citocinas através de kit ELISA no músculo quadríceps de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) níveis de TNF α , (B) níveis de IL-1 β e (C) níveis de IL-4. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^ap<0,05 versus grupo Controle NS e ^cp<0,001 versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.9 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO MÚSCULO QUADRÍCEPS

Ao avaliar a produção de oxidantes no músculo quadríceps, através da oxidação da DCFH (Figura 15A) e da concentração de nitrito (Figura 15B), pôde-se observar aumento destes dois parâmetros nos animais DIO NS em relação ao grupo Controle NS. Interessantemente, a suplementação com óleo de abacate nos animais DIO + OA reverteu este aumento.

O conteúdo de carbonil não diferiu entre os grupos DIO NS e Controle NS. Por outro lado, os animais DIO + OA apresentaram menor conteúdo de carbonil quando comparados ao grupo DIO NS e ao Controle + OA (Figura 15C).

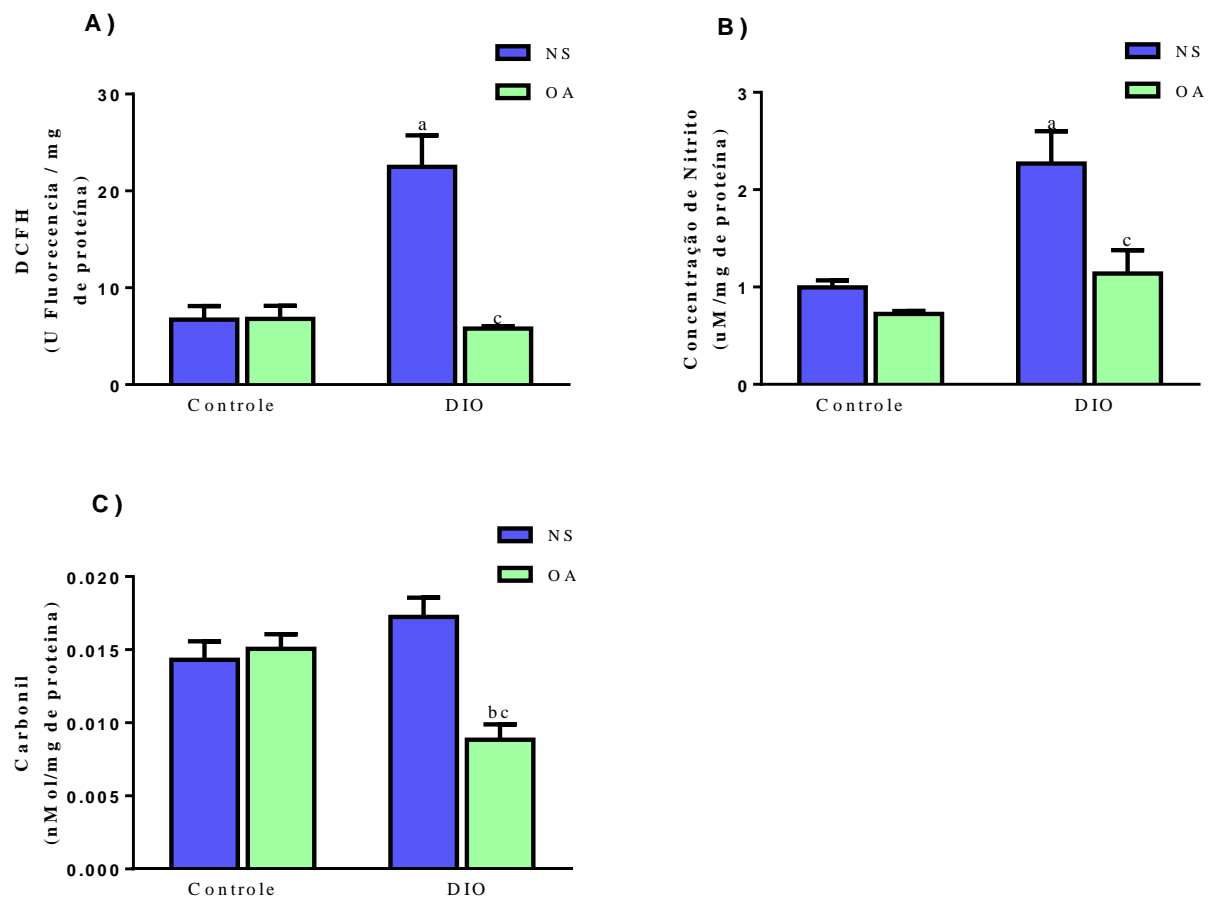


Figura 15. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no músculo quadríceps de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) oxidação da DCFH, (B) Concentração de Nitrito e (C) Conteúdo de carbonil. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^a $p < 0,001$ versus grupo Controle NS, ^b $p < 0,05$ versus grupo Controle + OA e ^c $p < 0,01$ versus grupo DIO NS (*two-way* ANOVA, Bonferroni's *post hoc* test). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.10 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO MÚSCULO QUADRÍCEPS

Para verificar o status antioxidante no músculo quadríceps, a atividade das enzimas Superóxido Dismutase (Figura 16A) e Catalase (Figura 16B) foram avaliadas. Através da figura 15 pode-se observar uma melhora do sistema de defesa antioxidante nos animais DIO + OA, quando comparados ao grupo DIO NS e ao grupo Controle + OA. Entre os demais grupos, não se observou diferenças significantes estatisticamente.

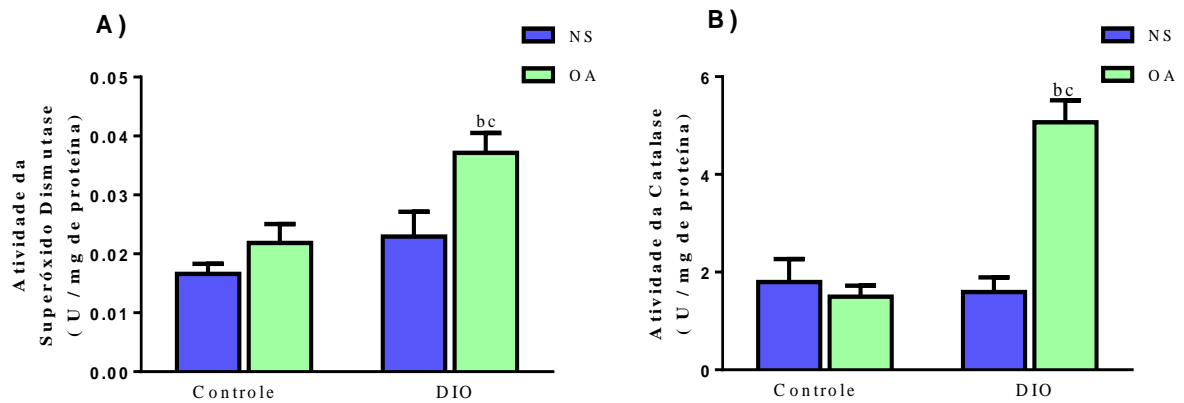


Figura 16. Atividade de enzimas antioxidantes no músculo quadríceps de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. **(A)** atividade da Superóxido Dismutase e **(B)** atividade da Catalase. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^b $p < 0,05$ versus grupo Controle + OA e ^c $p < 0,05$ versus grupo DIO NS (*two-way* ANOVA, Bonferroni's *post hoc* test). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.11 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS NO FÍGADO

Com o intuito de verificar o perfil inflamatório no tecido hepático, as concentrações das citocinas TNF α , IL-1 β e IL-4 foram dosadas. Não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas nas concentrações de TNF α (Figura 17A) e IL-1 β (Figura 17B) entre os grupos estudados. Em relação aos níveis da citocina anti-inflamatória IL-4 (Figura 17C), seus níveis estão diminuídos nos animais DIO NS em relação ao grupo Controle NS. No entanto, não foram observadas diferenças entre os animais DIO NS e DIO + OA.

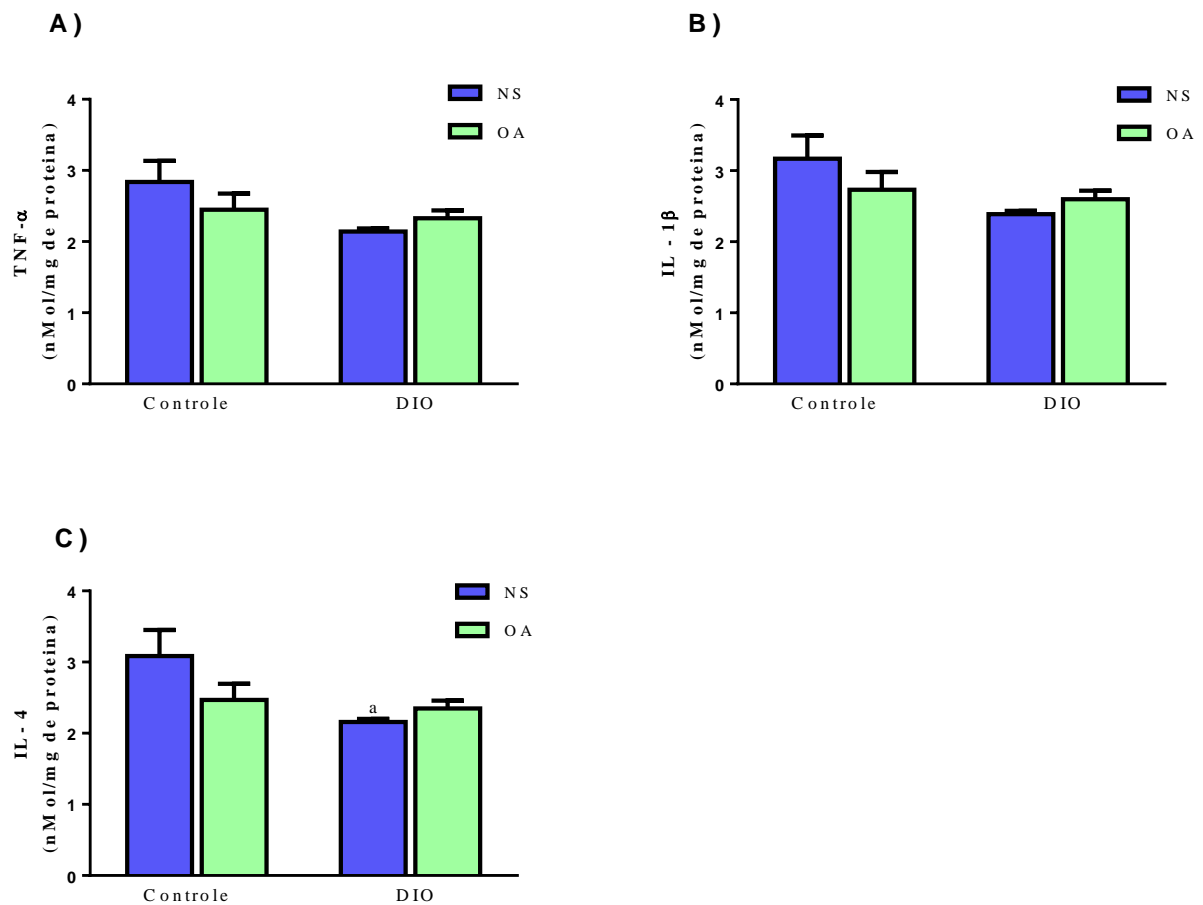


Figura 17. Níveis de citocinas através de kit ELISA no fígado de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) níveis de TNF α , (B) níveis de IL-1 β e (C) níveis de IL-4. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^ap<0,05 versus grupo Controle NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.12 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO FÍGADO

Ao avaliar a oxidação da DCFH no tecido hepático, não foram encontradas diferenças entre os grupos Controle NS e DIO NS, no entanto, os animais DIO + OA apresentaram menor oxidação da DCFH quando comparados aos animais DIO NS (Figura 18A). Em relação à concentração de nitrito (Figura 18B), os animais DIO NS apresentaram maiores níveis deste oxidante no fígado em relação ao Controle NS, bem como no grupo DIO + OA foram encontradas maiores concentrações de nitrito quando comparado ao Controle + OA. Por outro lado, a suplementação diminuiu os níveis de nitrito nos animais obesos induzidos por dieta (DIO + OA). Entre os grupos Controle NS e Controle + OA não foram observadas diferenças estatisticamente significativas. Ao analisar o dano a proteínas, através do conteúdo

de carbonil (Figura 18C), a obesidade induzida por dieta (DIO NS) aumentou este marcador e a suplementação com óleo de abacate (DIO + OA) reverteu estes níveis.

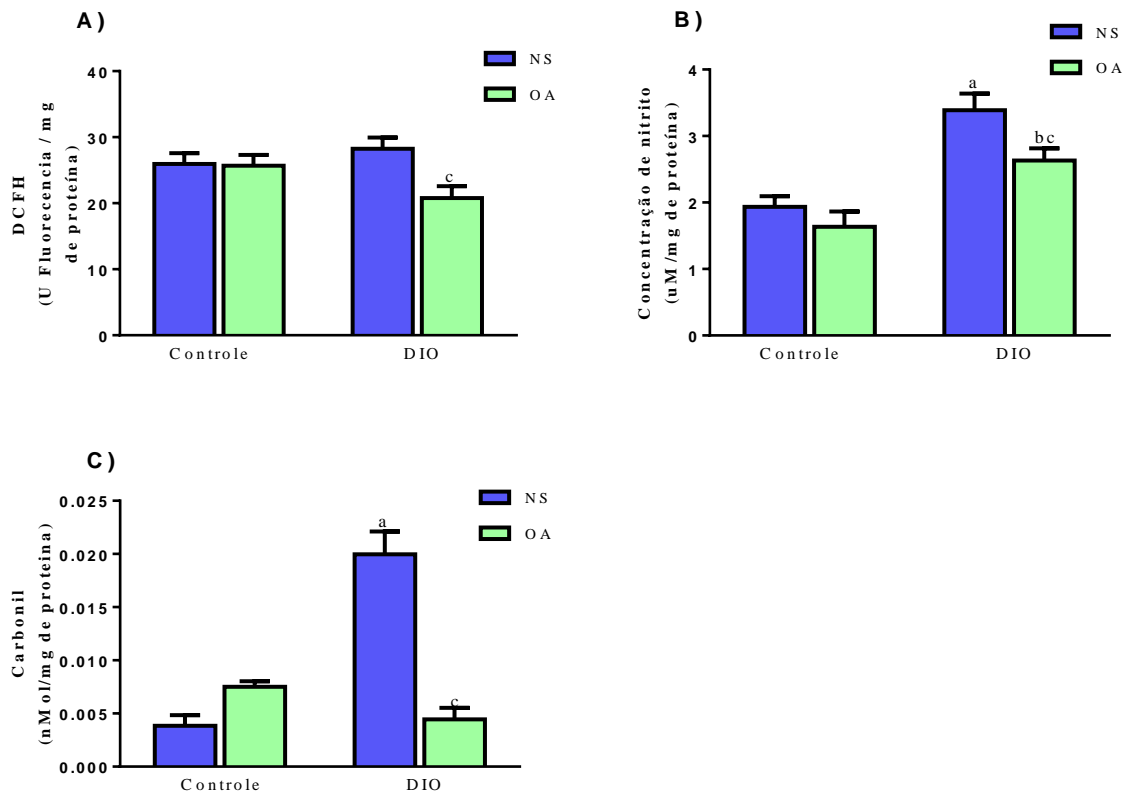


Figura 18. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no fígado de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) oxidação da DCFH, (B) níveis de nitrito e (C) conteúdo de carbonil. Dados são expressos como média ± erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^ap<0,05 versus grupo Controle NS, ^bp<0,05 versus grupo Controle + OA e ^cp<0,05 versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.13 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO FÍGADO

Foram analisadas a atividade da Superóxido Dismutase (19A) e da Catalase (19B) no tecido hepático. Não foram encontradas alterações nas enzimas SOD (Figura 19A) e CAT (Figura 19B) entre os grupos Controle NS e DIO NS. No entanto, quando comparados os grupos Controle NS versus Controle + OA, a suplementação aumentou a atividade de ambos no grupo Controle + OA. Nos animais DIO + OA observou-se aumento significativo nos níveis de CAT quando comparado aos animais DIO NS (Figura 19B)

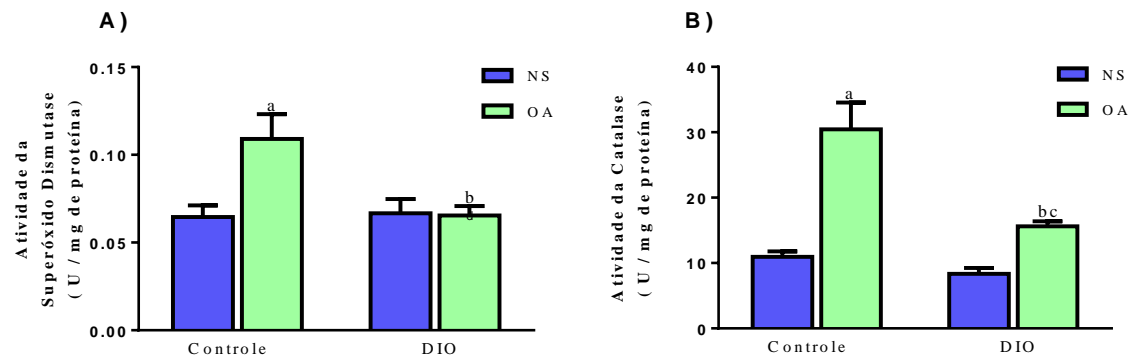


Figura 19. Atividade de enzimas antioxidantes no fígado de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) atividade da superóxido dismutase e (B) atividade da catalase. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle NS, ^b $p < 0,05$ versus grupo Controle + OA e ^c $p < 0,05$ versus grupo DIO + NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.14 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A HISTOLOGIA DO TECIDO HEPÁTICO

Ao observar as fotomicrografias histológicas do tecido hepático dos camundongos Controle NS (Figura 20A) e Controle + OA (Figura 20B) é demonstrado um tecido hepático normal, com presença de hepatócitos em formato poliédricos com núcleo fortemente corado e separados por tecido conjuntivo. Entretanto, nos animais DIO NS (Figura 20C) há aparecimento de infiltrados de células com morfologia de adipócitos, indicando aumento de gordura no fígado, um possível indicativo de esteatose hepática. Por outro lado, quando esses animais receberam suplementação com óleo de abacate por 90 dias (DIO + OA) houve uma redução no aparecimento de adipócitos (Figura 20D).

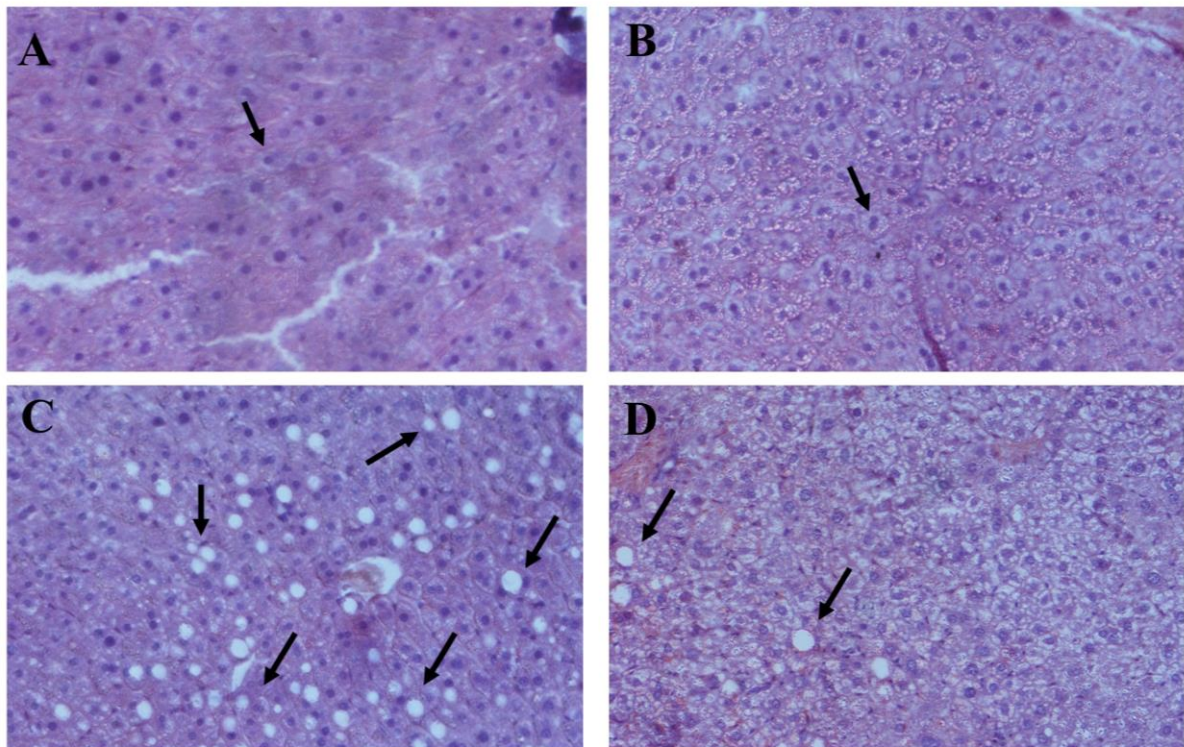


Figura 20. Fotomicrografias histológicas de tecido hepático coradas em hematoxilina e eosina de camundongos C57BL/6 suplementados ou não com óleo de abacate. **A)** Grupo Controle NS: Imagens histológicas compatíveis com tecido hepático normal. Presença de hepatócitos em formato poliédricos com núcleo fortemente corado, orientados radialmente e separados por tecido conjuntivo (seta preta). **B)** Grupo Controle + OA: Áreas compatíveis de tecido hepático normal, mantendo a histoarquitetura e células hepáticas de morfologia normal, incluindo áreas separadas por tecido conjuntivo e vasos sanguíneos (seta preta). **C)** DIO NS: Imagens apresentando grande presença de infiltrados de células com morfologia de adipócitos, entrelaçados ao tecido hepático (seta preta), sugerindo acúmulo de células de gordura no fígado, compatíveis com quadro de esteatose hepática de forma generalizada. **D)** DIO + OA: Imagens apresentando diminuição de adipócitos infiltrados no tecido hepático (seta preta), e áreas com células hepáticas de aspecto normal. Todas as imagens foram adquiridas em microscópio óptico em objetivas de 20X (n= 3 por grupo).

4.15 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A COGNIÇÃO

Com o objetivo de avaliar as funções cognitivas, motoras e ansiolíticas dos animais e os possíveis efeitos da suplementação de óleo de abacate, os animais foram submetidos a alguns testes comportamentais. Através do teste de campo aberto foram mensurados o número de levantamentos e cruzamentos (Figuras 21A e 21B, respectivamente) realizados pelos animais. Através dos testes estatísticos, foram observadas diferenças significativas somente no número de cruzamentos, em que os animais DIO NS e DIO + OA realizaram maior número de cruzamentos em relação aos grupos Controle NS e Controle + OA,

respectivamente. Entre os grupos DIO NS e DIO + AO, bem como entre os grupos Controle e Controle + AO, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas (Figura 21B).

Por outro lado, através do teste de reconhecimento de objeto (Figura 21C), onde pôde-se avaliar a memória de curta e longa duração dos animais, foi observado que houve melhora na memória de curta duração dos animais Controle + OA, bem como nas memórias de curta e longa duração nos animais DIO + OA. Não foram encontradas diferenças nos animais do grupo DIO NS.

Por meio do teste de labirinto em cruz, avaliou-se o número de entradas dos animais nos braços abertos (Figura 21D) e o percentual de tempo em que permaneceram nos braços abertos (Figura 21E). Em ambas as avaliações não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos.

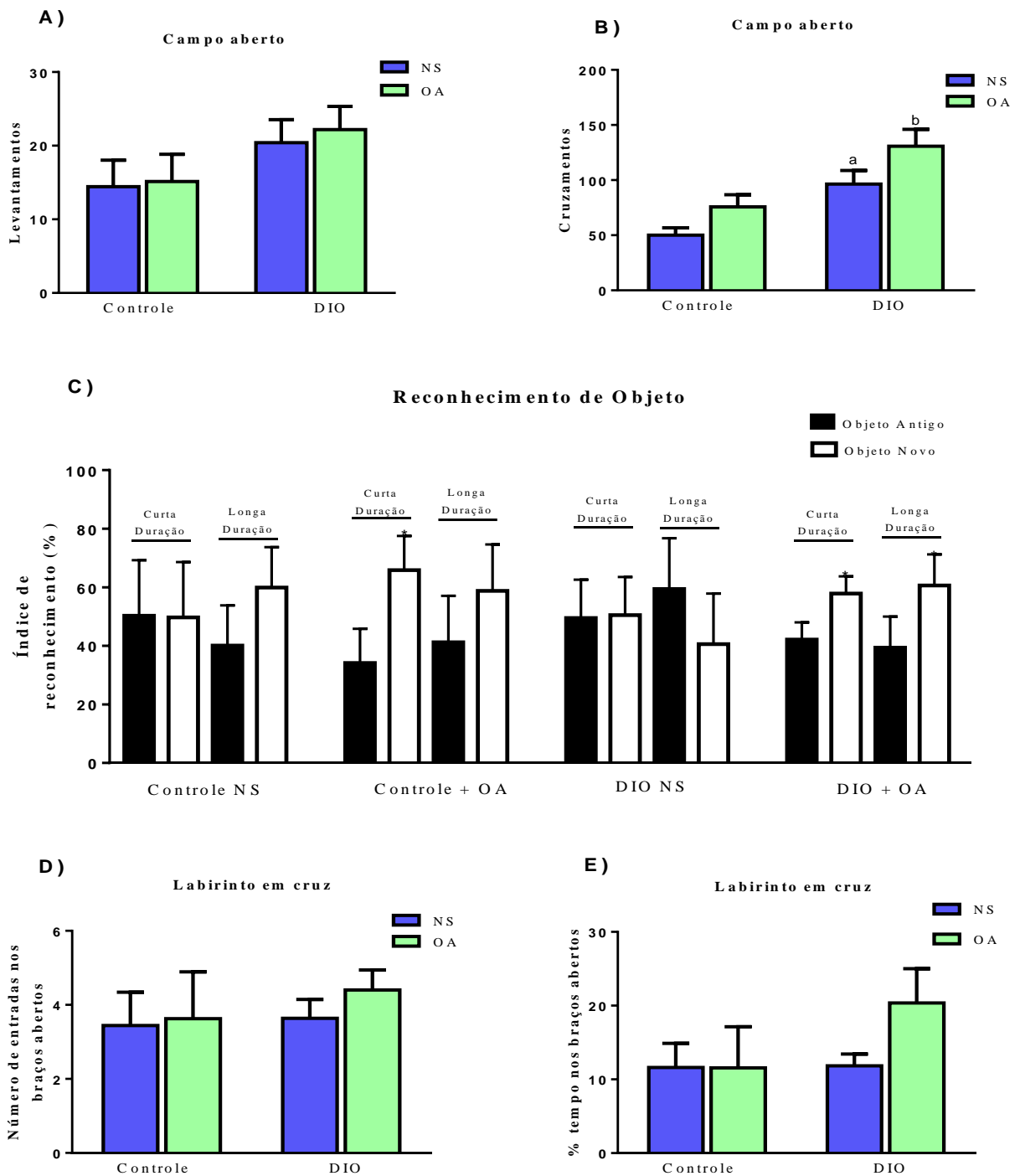


Figura 21. Alterações cognitivas em camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) número de levantamentos em teste de campo aberto, (B) número de cruzamentos em teste de campo aberto, (C) índice de reconhecimento de objeto, (D) número de entradas nos braços abertos em teste de labirinto em e (E) cruz % de tempo nos braços abertos em teste de labirinto em cruz elevada. . Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 7-10 animais por grupo. * $p < 0,05$ versus Objeto Antigo (test t pareado). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.16 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A CONCENTRAÇÃO DE CITOCINAS E NEUROTROFINAS NO HIPOCAMPO

Para avaliar o *status* inflamatório e a plasticidade no hipocampo, as citocinas pró-inflamatórias TNF α e IL1- β , anti-inflamatória IL-4 e as neurotrofinas BDNF e β -NGF foram mensuradas. Não foram encontradas diferenças significativas entre os grupos Controle NS e DIO NS, bem como entre os grupos Controle NS e Controle + OA nas concentrações de TNF α (Figura 22A) e IL-4 (Figura 22C). Por outro lado, os animais DIO + OA apresentam maiores níveis dessas citocinas quando comparados ao grupo Controle + AO. Os níveis de IL-1- β foram maiores nos animais DIO NS quando comparados aos Controles, por outro lado, a suplementação com a óleo de abacate (DIO + OA) foi eficaz em diminuir as concentrações dessa citocina no hipocampo (22B). Ao avaliar as neurotrofinas, como demonstrado nas figuras 22D e 22E, não foram demonstradas diferenças significativas entre os grupos em nenhuma das moléculas avaliadas.

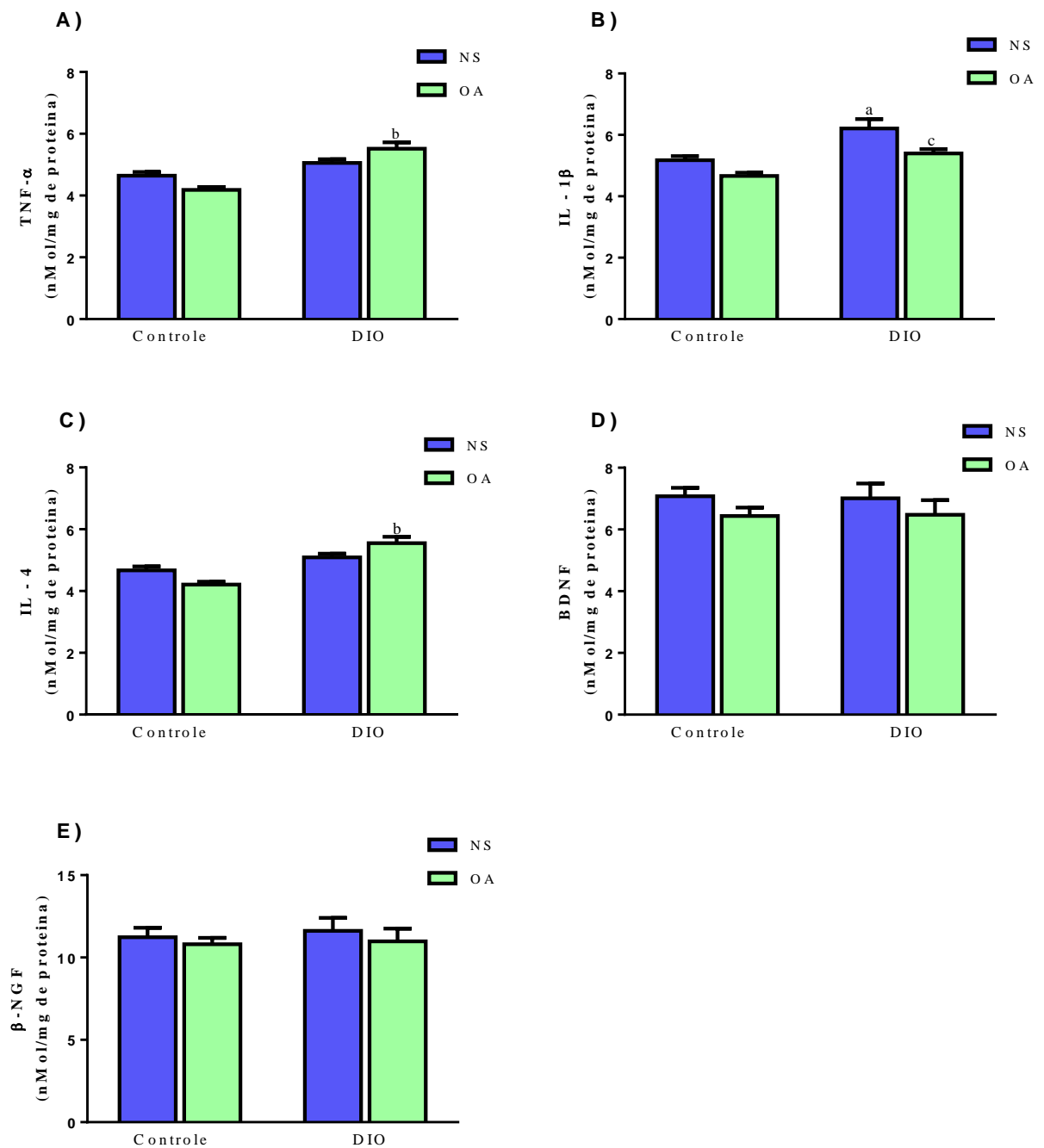


Figura 22. Níveis de citocinas e neurotrofinas através de kit ELISA no hipocampo de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) níveis de TNF α , (B) níveis de IL-1 β , (C) níveis de IL-4, (D) níveis de BDNF e (E) níveis de β -NGF. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^ap<0,05 versus grupo Controle NS, ^bp<0,05 versus grupo Controle + OA e ^cp<0,05 versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.17 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A PRODUÇÃO DE ESPÉCIES REATIVAS E DANO OXIDATIVO NO HIPOCAMPO

Ao avaliar a oxidação da DCFH no hipocampo dos animais, não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos estudados (Figura 23A). Em relação à concentração de nitrito, os animais DIO NS apresentaram maiores níveis de nitrito em comparação ao Controle NS e a suplementação não foi capaz de reverter estes níveis no grupo DIO + OA (Figura 23B). Entre os grupos Controle NS e Controle + OA não foram observadas diferenças. Por outro lado, ao analisar o dano a proteínas, apesar de não terem sido encontradas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos DIO NS e Controle NS, a suplementação com óleo de abacate levou a diminuição no conteúdo de carbonil tanto nos animais Controle + OA quanto nos DIO + OA (Figura 23C).

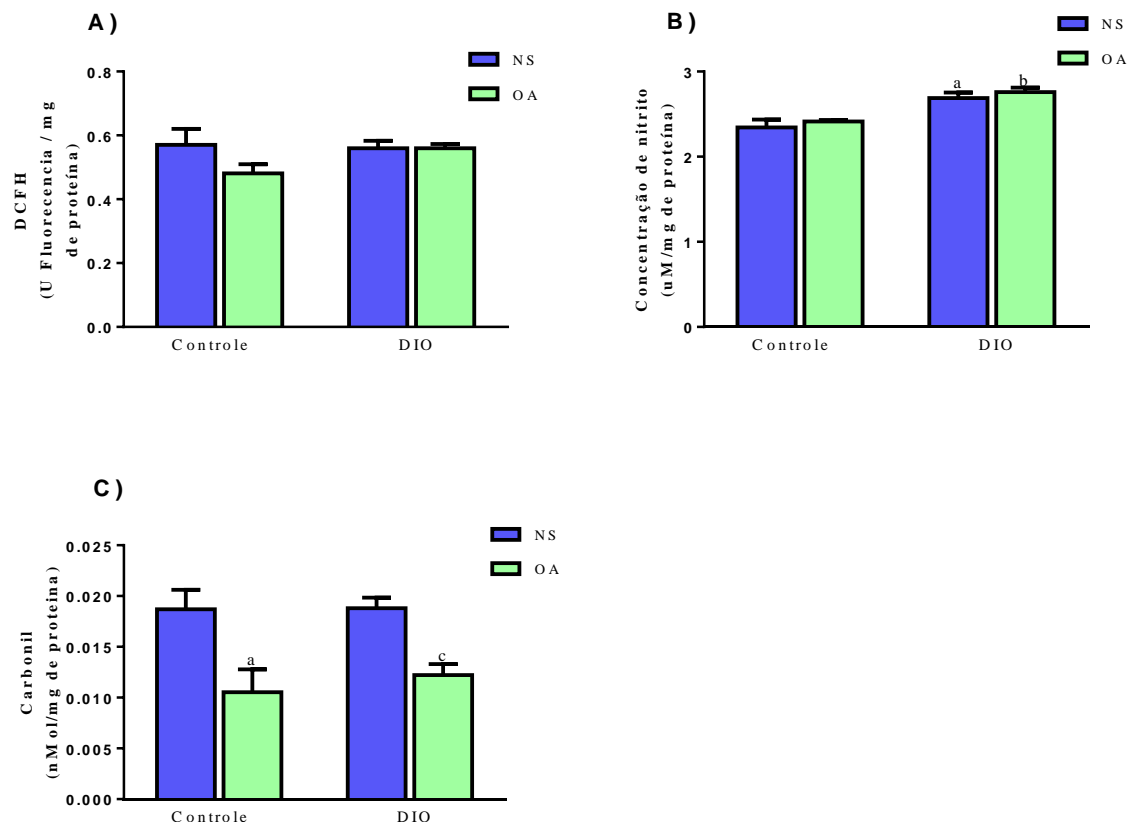


Figura 23. Produção de espécies reativas e dano oxidativo no hipocampo de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) oxidação da DCFH, (B) níveis de nitrito e (C) conteúdo de carbonil. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^ap<0,05 versus grupo Controle NS, ^bp<0,05 versus grupo Controle + OA e ^cp<0,05 versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

4.18 EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE A ATIVIDADE DE ENZIMAS ANTIOXIDANTES NO HIPOCAMPO

Ao avaliar o sistema enzimático de defesa antioxidante no hipocampo, foi observada diminuição da atividade da SOD nos animais DIO NS e a suplementação com óleo de abacate (DIO + OA) foi capaz de aumentar a atividade da SOD. Entre os grupos Controle NS e Controle + OA, porém, a atividade da SOD foi similar (Figura 24A).

Não foram encontradas diferenças na atividade da enzima Catalase em nenhum dos grupos avaliados (Figura 24B).

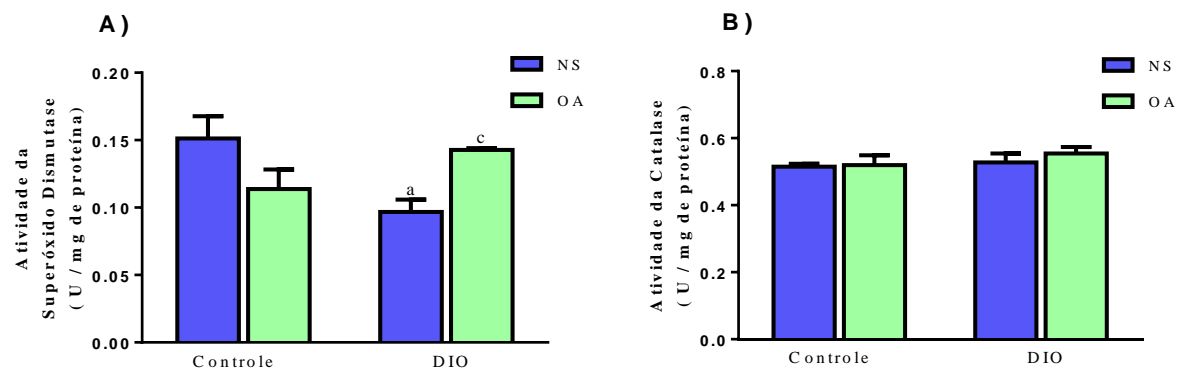


Figura 24. Atividade de enzimas antioxidantes no hipocampo de camundongos C57BL/6J suplementados ou não com óleo de abacate. (A) atividade da superóxido dismutase e (B) atividade da catalase. Dados são expressos como média \pm erro padrão da média de 5 animais por grupo. ^a $p < 0,05$ versus grupo Controle NS e ^c $p < 0,05$ versus grupo DIO NS (*two-way ANOVA*, Bonferroni's *post hoc test*). NS = Não suplementado. OA = Óleo de abacate.

5 DISCUSSÃO

A associação entre uma dieta hipercalórica/hiperlipídica e sedentarismo tem crescido exacerbadamente nas últimas décadas, apresentando-se como um dos principais fatores para o aumento dos índices de obesidade (Malik et al., 2013; WHO, 2018). Considerada um problema mundial de saúde, a obesidade é um fator de risco para inúmeras doenças, tais como diabetes, dislipidemias, doenças cardiovasculares, entre outras (Rito e Breda, 2006; Pérez et al., 2013; Sasson et al., 2014). Um dos impactos negativos do aumento de gordura corporal ocorre sobre a sensibilidade à ação da insulina. Estudos têm apontado que a capacidade funcional da insulina é reduzida em indivíduos obesos, um quadro chamado de resistência à ação da insulina (Heber, 2010; Nguyen e El-Serag, 2010; Tateya et al., 2013). Dois dos possíveis mecanismos envolvidos na instalação da RI são o aumento na produção de espécies reativas (Di Meo et al., 2017) e o desenvolvimento do quadro de inflamação crônica subclínica, associados ou não (Gaelic et al., 2010).

Por outro lado, compostos medicinais naturais surgem como uma alternativa não farmacológica eficaz para alterações metabólicas associadas à obesidade. Estudos apontam uma variedade de plantas e frutos com efeitos positivos no tratamento da obesidade e suas complicações (Kazemipoor et al., 2012; Bradford, 2013; Huang et al., 2014; Ríos-Hoyo e Gutiérrez-Salmeán, 2016), entre os quais, encontra-se o abacate (Hasani-Ranjbar et al., 2013). Abacates fornecem cerca de 136g de fruta comestível cujo óleo consiste aproximadamente em 71% de MUFAs, 13% de PUFAs e 16% de ácidos graxos saturados (Dreher e Davenport, 2013). Além disso, existem constituintes adicionais da fruta que incluem fibras, vitaminas B, K1 e E, magnésio, potássio e fitoquímicos, como carotenoides, fenólicos e fitoesteróis, que também podem contribuir para efeitos positivos sobre a saúde (Dreher e Davenport, 2013). Porém, pouco tem sido abordado na literatura sobre os efeitos do óleo de abacate sobre as comorbidades desencadeadas pela obesidade.

A obesidade crônica causa inflamação no tecido adiposo e, além disso, afeta o fígado, músculo esquelético e pâncreas. Especificamente, os tecidos adiposos secretam citocinas pró-inflamatórias e adipocinas que interferem com a sinalização da insulina e reduzem a captação de glicose em tecidos como o músculo esquelético, resultando em RI abrangente (Kang et al., 2016). Estudos têm demonstrado que a utilização de dieta hiperlipídica (De Souza et al., 2005; Pieri et al., 2014; Dror et al., 2017) ou rica em sacarose (Del Toro-Equihua et al., 2016) em roedores levam ao desenvolvimento de obesidade (De Souza et al., 2005; Pieri et al., 2014; Dror et al., 2017) e a instalação de RI (Ivy, 2004; Krishnan e Cooper, 2014; Jung et al., 2017).

No presente estudo, os animais obesos induzidos por dieta hiperlipídica apresentaram redução do k_{ITT} , indicando que a dieta hiperlipídica causou RI. No entanto, a suplementação com óleo de abacate nos animais alimentados com dieta hiperlipídica demonstrou efeitos positivos sobre a sensibilidade à insulina, conforme mostrado através do k_{ITT} . Antia e colaboradores (2005) observaram, em ratos diabéticos, que a administração de uma única dose de extrato aquoso do abacate (100-200 mg / kg) diminuiu a concentração sanguínea de glicose após 3, 6 e 12h. No entanto, poucos são os estudos em roedores que testaram os efeitos do óleo de abacate sobre a sensibilidade à insulina. Del Toro-Equihua e colaboradores (2016) avaliaram os efeitos da ingestão de óleo de abacate (5%, 10%, 20% ou 30% por 8 semanas) em animais alimentados com dieta rica em sacarose. Os autores relataram que a intolerância à glicose e a RI induzidas pela dieta com alto teor de sacarose em ratos *Wistar* podem ser reduzidas pela adição dietética de óleo de abacate.

Os efeitos do óleo de abacate na melhora da sensibilidade a insulina podem ser explicados pela alta concentração de MUFAs, em especial o ácido oleico. Estudos sugerem que o ácido oleico favorece o controle glicêmico em pacientes com diabetes mellitus (Soriguer et al., 2006; Gupte et al., 2009; Palomer et al., 2018). A esteroil-CoA dessaturase (SCD) catalisa a dessaturação de ácidos graxos no fígado quando não há gordura suficiente na dieta; por um lado, o aumento da atividade dessa enzima tem sido relacionado ao desenvolvimento de RI e, por outro lado, dietas com MUFAs reduzem sua ação, bloqueando o desenvolvimento da RI (Dobrzyn et al., 2010). O ácido oleico também favorece a polarização dos macrófagos infiltrantes do tecido adiposo ao fenótipo anti-inflamatório M2, através da redução da secreção de leucotrieno B4 (LTB4), que por sua vez diminui a atividade da fosfatase e tensina homóloga (PTEN) e da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP), aumentando a sensibilidade à insulina (Palomer et al., 2017).

Utilizando camundongos C57BL/6J, Ma e colaboradores (2016) observaram aumento de peso e de adiposidade em animais alimentados por 11 semanas com dieta hiperlipídica. No presente estudo, os grupos que receberam dieta hiperlipídica apresentaram aumento marcante de peso corporal total e índice de adiposidade, bem como maior ingestão calórica, sendo a suplementação com óleo de abacate, por um período de 90 dias, incapaz de modificar o peso dos animais, índice de adiposidade ou modular a ingestão alimentar, quando comparado aos animais obesos; demonstrando que o óleo de abacate parece não exercer efeitos diretos sobre a composição corporal dos camundongos. Del Toro-Equihua e colaboradores (2016) observaram redução de peso corporal em ratos *Wistar* alimentados com dieta rica em sacarose e suplementados com 10 – 30% de óleo de abacate por 8 semanas. Padmanabhan e

Arumugam (2014) observaram, em ratos *Sprague Dawley* alimentados com dieta rica em gordura, que a suplementação por 12 semanas com extrato hidroalcoólico de abacate (100 mg / kg de peso corporal) reduziu significativamente o ganho de peso corporal e o índice de adiposidade. Porém, os autores destes estudos administraram óleo de abacate ou extrato hidroalcoólico de maneira concomitante ao início das dietas. No presente estudo, a suplementação iniciou-se após 20 semanas de dieta hiperlipídica, ou seja, posterior a instalação da obesidade e da RI.

No presente estudo buscou-se avaliar, também, alterações lipídicas. Está bem estabelecido que a ingestão excessiva de gordura saturada leva a alterações no colesterol e triglicerídeos séricos. Oliveira e colaboradores (2015) demonstraram em camundongos C57BL/6J que a ingestão de dieta rica em gordura (60% de gordura proveniente de banha) por 12 semanas elevou significativamente os níveis séricos de colesterol e triglicerídeos. De maneira similar, Sun e colaboradores (2017) observaram aumentos séricos de colesterol, triglicerídeos, LDL-c e HDL-c em camundongos C57BL/6J alimentados com dieta rica em banha por 12 semanas. No entanto, não há estudos que avaliam a influência do óleo de abacate como gordura dietética no perfil lipídico em modelos animais de obesidade induzida por dieta hiperlipídica. Em ensaios clínicos, Éster e colaboradores (2009) relataram que o consumo de abacate durante 30 dias por indivíduos com dislipidemia diminuiu os triglicerídeos séricos (10,3%) e elevou o colesterol HDL-c (6,3%). Por outro lado, Carvajal-Zarrabal e colaboradores, em 2014, ao suplementarem animais alimentados com dieta rica em açúcar, não observaram diferenças significativamente estatísticas nos níveis de triglicerídeos, colesterol total, LDL-c e HDL-c entre os animais suplementados ou não. Em concordância com os estudos citados (Oliveira et al., 2015 e Sun et al., 2017), ao avaliar os níveis de lipídeos sanguíneos, o presente estudo observou aumento dos níveis de triglicerídeos nos animais obesos induzidos por dieta hiperlipídica. Por outro lado, a suplementação com óleo de abacate foi eficaz em reduzir o conteúdo de triglicerídeos a níveis similares aos dos animais alimentados com ração padrão para roedores. Os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram maiores níveis de colesterol total, não sendo a suplementação com óleo de abacate eficaz em diminuir os níveis de colesterol total no animais com obesidade induzida por dieta. Nos camundongos alimentados com ração padrão, a suplementação com óleo de abacate não foi capaz de modular nenhum dos parâmetros lipídicos avaliados.

Populações mediterrâneas com hábitos alimentares que são ricos em MUFAs, em parte devido ao alto consumo de azeite de oliva, têm reduzido consideravelmente os marcadores

inflamatórios quando comparados a populações que têm menor ingestão de ácido oleico (Panagiotakos et al., 2009).

O tecido adiposo é um importante local de eventos inflamatórios na obesidade. Porém, embora a sobrecarga prolongada de nutrientes resulte em inflamação metabólica associada à expansão e disfunção de adipócitos, a inflamação metabólica na obesidade não se restringe ao tecido adiposo; o fígado e outros tecidos também são fortes contribuintes para o desenvolvimento desse tipo de inflamação (Shoelson et al., 2006; Glass e Olefsky, 2012; Sheedfar et al., 2013).

O TNF α foi uma das primeiras citocinas identificadas e está envolvida na resposta inflamatória sistêmica de fase aguda, por meio da liberação de IL-6 e IL-1 β (Spoto et al., 2014; Marseglia et al., 2014). Foi avaliado que a IL-1 β favorece a resposta pró-inflamatória na obesidade via produção de outras citocinas (Stienstra et al., 2012). Salles e colaboradores (2012) observaram redução de RI, dos níveis plasmáticos de ácidos graxos não esterificados, das inflamações sistêmica e do tecido adiposo e diminuição do depósito de gordura no fígado e músculo quadríceps em camundongos C57C6/BL *knockdown* para TNF α e alimentadas por 12 semanas com dieta rica em gordura saturada (45% de banha). Consistente a isto, Veeramani e colaboradores (2018) observaram que camundongos C57BL/6J obesos induzidos por dieta tiveram os níveis de mRNA para TNF α e IL-1 β aumentados no tecido adiposo. Heijden e colaboradores (2015) verificaram que camundongos C57BL/6J expressam maiores níveis de mRNA para as moléculas inflamatórias TNF α , IL-1 β , proteína quimiotática de macrófago 1 (MCP1) e receptor 1 de hormônio semelhante à mucina contendo módulo semelhante ao EGF (F4/80) no tecido adiposo após 24 semanas de dieta contendo 45% de gordura oriunda de banha. Os autores também encontraram aumento destas moléculas no fígado dos animais após 40 semanas de dieta rica em gordura saturada (Heijden et al., 2015). Similar a estes achados, no presente estudo a indução da obesidade através de dieta contendo 59% de gordura (52% proveniente de banha) elevou os níveis de TNF α e IL-1 β no tecido adiposo epididimal e no quadríceps. No entanto, no fígado dos animais obesos os níveis de TNF α e IL-1 β foram similares entre estes e os animais controle. O não aumento dos níveis hepáticos destas citocinas pode ter ocorrido devido ao tempo de administração da dieta. Heijden e colaboradores (2015) afirmaram que em camundongos C57BL/6J a obesidade induzida por dieta hiperlipídica estimula a inflamação no tecido adiposo antes do fígado, uma vez que há aumento de moléculas inflamatórias, como o TNF α e a IL-1 β , no tecido adiposo após 24 semanas de ingestão de dieta hiperlipídica, e, por outro lado, no fígado observa-se aumento destas e outras moléculas pró-inflamatórias somente após 40 semanas de dieta.

A produção de citocinas pró-inflamatórias secretadas por macrófagos residentes no fígado está ligada a defeitos da sinalização hepática da insulina (Tilg e Moschen, 2008). Consistente a isso, a expressão aumentada de genes inflamatórios no fígado após ingestão de dieta hiperlipídica está associada à redução da sensibilidade à insulina em camundongos (Cai et al., 2005; Lee et al., 2011). Assim, a inflamação metabólica em ambos os órgãos está associada ao desenvolvimento de RI. Tal como no estudo de Heijden e colaboradores (2015), neste estudo a RI nos animais obesos induzidos por dieta foi estabelecida antes do desenvolvimento de inflamação hepática clara, sugerindo que a RI associada à obesidade pode estar primariamente associada ao tecido adiposo. Consistente com a melhora da sensibilidade a insulina no animais obesos após suplementação com óleo de abacate, tanto os níveis de TNF α quanto de IL-1 β foram diminuídos com a suplementação, apresentando níveis similares aos dos grupos alimentados com ração padrão para roedores.

Os efeitos anti-inflamatórios de óleos ricos em ácidos graxos insaturados vêm longamente sendo estudados e bem estabelecidos, principalmente os efeitos do óleo de peixe (Li et al., 2014; Nejm et al., 2017; Jamilian et al., 2018) e do azeite de oliva (Schwingshackl et al., 2015; Luque-Sierra et al., 2018; Serra et al., 2018). No entanto, possíveis efeitos anti-inflamatórios do óleo de abacate não têm sido avaliados. Os efeitos anti-inflamatórios do óleo de abacate podem ser atribuídos a presença de ácido oleico. Este ácido graxo monoinsaturado provoca efeitos positivos através da redução nos níveis de citocinas pró-inflamatórias (IL-6 e TNF α principalmente) enquanto aumenta os níveis da citocina anti-inflamatória IL-10 e adiponectina. Estes efeitos do ácido oleico podem ser mediados pelo receptor de ácido graxo livre 4 / receptor acoplado à proteína 120 (FFAR4 / GPR120). O aumento nos níveis de adiponectina causada pelo ácido oleico pode ativar a proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e reduzir os níveis de síntese de ceramida induzida pelo ácido palmítico. Ao prevenir a redução da AMPK causada pelo ácido palmítico, o ácido oleico pode inibir o aumento da IL-1 β causado pelos ácidos graxos saturados através do receptor do inflamassoma do tipo NOD contendo o domínio pirina 3 (NLRP3) em adipócitos e macrófagos infiltrados no tecido adiposo (Palomer et al., 2017).

A IL-4 é uma citocina pleiotrópica produzida principalmente por linfócitos T ativados e, em menor escala, por macrófagos e eosinófilos. Atuando de forma autócrina para ativar o transdutor de sinal e ativador de transcrição 6 (STAT6), a IL-4 induz fenótipo anti-inflamatório em macrófagos e linfócitos T (Luzina et al., 2012). STAT6 ativa a expressão de citocinas anti-inflamatórias como IL-13, IL-33 e o fator de crescimento transformador beta (TGF β), inibe a atividade de fatores de transcrição pró-inflamatórios, como o fator nuclear do

kappa B (NF κ B) suprimindo a inflamação (Luzina et al., 2012). Esses efeitos podem neutralizar a inflamação latente e o desenvolvimento de RI no tecido adiposo (Stafeev et al., 2018). Os níveis da citocina anti-inflamatória IL-4 foram elevados no tecido adiposo de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica. Este resultado vem de encontro com estudos realizados em roedores (Oliveira et al., 2013; Heijden et al., 2015) e humanos (Esposito et al., 2003) e representa uma resposta protetora do corpo para neutralizar eventos pró-inflamatórios. Por outro lado, no tecido hepático foi observada diminuição dos níveis de IL-4 nos animais obesos induzidos por dieta. Heijden e colaboradores (2015) também demonstraram aumento nos níveis de citocinas anti-inflamatórias (representadas pela IL-10) no tecido adiposo de animais obesos induzidos por dieta, mas não no tecido hepático. Uma vez que não foram observadas alterações nas citocinas pró-inflamatórias TNF α e IL-1 β no fígado, o não aumento ou diminuição de IL-4 era esperado neste tecido. Consistente com a diminuição das moléculas pró-inflamatórias no tecido adiposo e quadríceps dos animais DIO após suplementação com óleo de abacate, foram encontrados níveis reduzidos de IL-4 nestes tecidos.

O quadro de inflamação desenvolvido na obesidade tem importante papel no desenvolvimento de complicações metabólicas, uma vez que, além de estar associada à RI (Gregor e Hotamisligil, 2011; Brestoff e Artis, 2015), a inflamação está diretamente ligada ao estresse oxidativo (Manna e Jain, 2015).

As citocinas pró-inflamatórias desencadeiam dano oxidativo em um círculo vicioso. Conseqüentemente, o estresse oxidativo está intimamente ligado à produção de citocinas pró-inflamatórias. Além disso, a RI associada à obesidade poderia ser um importante fator contribuinte para o estresse oxidativo sistêmico (Bloomer et al., 2010). O presente estudo avaliou a produção de espécies reativas no tecido adiposo através dos níveis de DCFH e nitrito. Os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram elevados níveis de oxidação da DCFH e das concentrações de nitrito. Jassim e colaboradores (2014) reportaram que há uma ligação entre inflamação e espécies reativas de nitrogênio, uma vez que inflamação aumenta esses radicais livres e promove o estresse oxidativo. Por outro lado, alguns alimentos e nutracêuticos, possuem efeitos antioxidantes e são capazes de atenuar a produção de espécies reativas e radicais livres (Sani et al., 2014; Serra et al., 2018). Um candidato pertencente a esse grupo de nutracêuticos é o abacate, pois este fruto contém uma ampla variedade de antioxidantes (Dreher e Davenport, 2013). No presente estudo, após suplementação por 90 dias com óleo de abacate, a produção de espécies reativas, tanto de

oxigênio quanto de nitrogênio, no tecido adiposo dos animais alimentados com dieta hiperlipídica foi reduzida.

As mitocôndrias são importantes produtoras de ERO e a exposição de células musculares esqueléticas ao ácido palmítico provoca aumento significativo da produção mitocondrial de ERO com concomitante disfunção e danos no DNA mitocondrial, indução de JNK, apoptose e inibição da sinalização de insulina (Yuzefovych et al., 2010). A ingestão de dieta rica em gordura tem demonstrado aumentar a produção de ERO mitocondrial e direcionar o ambiente redox celular para um estado oxidado no músculo esquelético de roedores ou humanos (Furukawa et al., 2004; Bonnard et al., 2008; Anderson et al., 2009). Por outro lado, a suplementação com ácido oleico reduz a geração de ERO e protege as mitocôndrias do estresse oxidativo induzido pelo ácido palmítico, apoptose e atenuação da sinalização da insulina (Yuzefovych et al., 2010). Consistente a isto, no presente estudo os animais alimentados com dieta hiperlipídica (52% proveniente de banha, rica em ácido palmítico) apresentaram maior formação de ERO, em especial H_2O_2 , como demonstrado pelos níveis de DCFH, e concentrações maiores de nitrito. Em contrapartida, a suplementação com óleo de abacate reduziu tanto os níveis de DCFH quanto de nitrito, igualando-se aos níveis demonstrados pelos animais controles, suplementados ou não. Ortiz-Avila e colaboradores (2017) observaram diminuição na geração de ERO (através da oxidação da DCFH) no rim de ratos diabéticos suplementados por 3 meses com 4 mL / kg com óleo de abacate, dose e tempo iguais as utilizadas no presente estudo.

Além do aumento de espécies reativas nos tecidos adiposo e músculo esquelético, a obesidade induzida por dieta em roedores também culmina na produção aumentada de ERO, maior expressão de NADPH oxidase (Matsuzawa-nagata et al., 2008; Ma et al., 2018) e da enzima iNOS (García-Ruiz et al., 2006; Zaki et al., 2018) no tecido hepático. As enzimas iNOS levam a produção de NO através da catálise da arginina, o que leva a produção de espécies reativas de nitrogênio e oxigênio (Förstermann e Münzel, 2006; Forbes et al., 2013). No presente estudo, apesar de a obesidade induzida por dieta não elevar os níveis de DCFH no fígado em relação aos animais alimentados com ração padrão, houve aumento significativo na produção de nitrito, podendo indicar a formação de espécies reativas de nitrogênio. Por outro lado, a suplementação com óleo de abacate nos animais obesos induzidos reduziu tanto a concentração de nitrito quanto levou a uma menor oxidação da DCFH quando comparados aos animais DIO. De forma semelhante, a co-incubação de células beta expostas ao ácido palmítico com o ácido oléico protege as células ativando as vias pró-sobrevivência de resposta

ao estresse oxidativo envolvidas no dobramento de proteínas e na defesa antioxidativa (Sargsyan et al., 2016).

O estresse oxidativo e a produção de espécies reativas resultam na oxidação direta da cadeia lateral de inúmeros aminoácidos resultando em uma variedade de produtos carbonílicos (carbonilação proteica) (Requena et al., 2001). Como tal, a carbonilação de proteínas é amplamente reconhecida como um biomarcador do estresse oxidativo em uma variedade de tipos de células e tecidos (Mukherjee et al., 2015; Hauck et al., 2018). As espécies reativas ao oxigênio e nitrogênio possuem efeitos deletérios sobre as proteínas e podem contribuir para inflamação tecidual e morte celular. De fato, com o aumento do estresse oxidativo, diversas proteínas ficam susceptíveis a carbonilação (Bollineni et al., 2014). Diante disto, o conteúdo de carbonil foi avaliado. Nos tecidos adiposo epididimal e fígado dos animais obesos induzidos por dieta observou-se maior dano a proteínas em relação aos animais controle, o que foi revertido após suplementação com óleo de abacate, em ambos os tecidos. Dados consistentes com os achados de Brai e colaboradores, em 2014, que observaram diminuição no conteúdo de carbonil no fígado de animais suplementados com extrato aquoso de abacate.

Trabalhos anteriores demonstraram notável diminuição na expressão de antioxidantes em depósitos adiposos epididimais em modelos murinos de obesidade, bem como em adipócitos cultivados em resposta a estímulos inflamatórios (Curtis et al., 2010; Long et al., 2013; Hahn et al., 2014). Essa diminuição na capacidade antioxidante é coincidente com aldeídos lipídicos reativos dentro do tecido (Long et al., 2013), o que leva a um aumento significativo na carbonilação secundária de proteínas dentro do adipócito (Grimsrud et al., 2008; Curtis et al., 2012). Corroborando, Hauck e colaboradores (2018) relataram maior carbonilação proteica e depleção de GSH no tecido adiposo de animais obesos e Veeramani e colaboradores (2018) observaram que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica em camundongos C57BL/6J reduziu a atividade de SOD e GPX no tecido adiposo. No presente estudo, a obesidade induzida por dieta não levou a modulação das enzimas do sistema de defesa antioxidante SOD e CAT, por outro lado, os animais obesos que receberam óleo de abacate aumentaram significativamente as atividades de SOD e CAT em todos os tecidos: adiposo epididimal, quadríceps e fígado, demonstrando o potencial antioxidante deste óleo. É sugerido que a capacidade antioxidante do óleo de abacate seja atribuída a presença de β -sitosterol. A suplementação de camundongos com sitosterol melhora drasticamente as atividades de enzimas antioxidantes como a SOD, CAT e a GSH, bem como suprime a expressão de malondialdeído (Yin et al., 2018). O óleo de abacate também é rico em

carotenoides, que possuem capacidade de remover $O_2^{\cdot-}$ celular (Foss et al., 2004; Galano et al., 2010; Han et al., 2012), sugerindo que além do β -sitoesterol os carotenóides do óleo de abacate também possuem papel protetor contra o dano oxidativo.

Estresse oxidativo, resistência à insulina e inflamação têm sido implicados na patogênese de várias doenças, incluindo a esteatose hepática não alcoólica (Sumida et al., 2013; Duarte et al., 2015). A hiperglicemia é também um importante contribuinte para o acúmulo hepático de lipídeos, uma vez que ativa a proteína de ligação ao elemento responsivo a carboidrato (ChREBP) e genes lipogênicos (Rahimi e Landaverde, 2013). A prevalência de esteatose hepática não alcoólica é agravada pelas mudanças no estilo de vida, que incluem o consumo de dietas com alto teor de gordura e açúcares / frutose (Tetri et al., 2008). Uma vez instalada, a esteatose hepática não alcoólica exacerba a inflamação crônica sistêmica e o estresse oxidativo, levando a disfunções em tecidos extra-hepáticos (Armstrong et al., 2014; Han e Lee, 2017).

No presente estudo, os animais obesos induzidos por dieta hiperlipídica apresentaram acúmulo excessivo de gordura no fígado, indicando o desenvolvimento de esteatose hepática não alcoólica nestes animais. A elevada concentração de ácidos graxos saturados, provenientes da dieta, aumenta a atividade mitocondrial através do armazenamento alterado de triglicerídeos intra-hepáticos, liberação de ácidos graxos livres e hiperfunção do ciclo de Krebs, levando a produção de ERO e estresse oxidativo; fatores-chave para a progressão da esteatose hepática não alcoólica (Leamy et al., 2013). Por outro lado, a suplementação com óleo de abacate diminuiu drasticamente os depósitos hepáticos de gordura nos animais obesos. Embora nenhum estudo tenha avaliado os efeitos do óleo de abacate sobre o conteúdo de gordura hepática em animais obesos, é sugerido que uma maior ingestão de MUFA está associada com menor triglicerídeos e melhor controle glicêmico (Schwingshackl e Hoffmann, 2012), bem como modelos animais sugerem que MUFAs têm um impacto positivo na distribuição de gordura, favorecendo a deposição de gordura em tecidos adiposos, ao invés do fígado (Bessesen et al., 2000). A este respeito, Bozzetto e colaboradores (2012), em estudo randomizado com 45 pacientes com diabetes, comparando dieta rica em carboidratos (52% da ingestão total de calorias provenientes dos carboidratos) com uma dieta rica em MUFA (28% do total de calorias ingeridas), por 8 semanas, demonstraram significativa redução da esteatose hepática não alcoólica no grupo com dieta rica em MUFA (27% vs 5%).

Os ácidos graxos insaturados podem exercer seus efeitos benéficos sobre o conteúdo de gordura hepática através de sua influência no metabolismo lipídico no fígado ou no tecido adiposo abdominal. No período pós-prandial, por exemplo, os MUFAs são mais rapidamente

oxidados do que os ácidos graxos saturados (DeLany et al., 2000). Os MUFAs também podem melhorar a esteatose hepática, influenciando positivamente o *cross-talk* do tecido adiposo com o metabolismo hepático, através da regulação da síntese de adipocinas e marcadores inflamatórios. De fato, em mulheres obesas, o conteúdo de gordura hepática está associado a concentrações aumentadas de ceramida e mediadores inflamatórios no tecido adiposo subcutâneo (Kolak et al., 2007). Além disso, a alta atividade da enzima SCD1, enzima chave na ativação da lipogênese de novo, tem sido associada ao desenvolvimento de esteatose hepática não alcoólica. Kotronen e colaboradores (2008) verificaram que indivíduos com esteatose hepática não alcoólica apresentam atividade aumentada de SCD1 no tecido hepático em comparação a indivíduos controles. Por outro lado, estudos experimentais mostraram que a SCD1 é altamente regulada a nível transcricional por hormônios e nutrientes (Paton e Ntambi, 2009; Erbel e Budoffet, 2012; Xu et al., 20015). Por exemplo, a repressão da SCD1 pelos PUFA (Bjermo et al., 2012; Vessby et al., 2013; Pérez-Heras et al., 2016) e MUFA na dieta tem sido bem caracterizada (Dobrzyn et al., 2010).

Além dos efeitos positivos do óleo de abacate no sistema periférico, o presente estudo também avaliou os seus efeitos no SNC, uma vez que a obesidade está fortemente ligada a déficits neurológicos e modificações cerebrais estruturais (O'Brien et al., 2017). O excesso de gordura na dieta compromete o controle hipotalâmico da homeostase energética, o que contribui para a disfunção do tecido adiposo, levando a elevação dos ácidos graxos livres e dislipidemia sistêmica. Essa dislipidemia pode resultar em lipotoxicidade (alterações na sinalização intracelular induzida por lipídios ou mudanças na utilização de lipídios que resultam em fisiopatologia tecidual) que causam disfunção neurológica e neurodegeneração (O'Brien et al., 2017).

Existem vários mecanismos possíveis pelos quais a obesidade induzida por dieta hiperlipídica produz deficiências cognitivas. Por exemplo, obesidade induzida por dieta rica em gordura (60% das calorias totais, das quais, 53% provenientes de banha) mostrou aumento na produção de ERO com concomitante diminuição na atividade molecular associada à regulação do estresse oxidativo no córtex (Freeman et al., 2013). Stranahan e colaboradores (2011) demonstraram aumento do estresse oxidativo no hipocampo de animais alimentados com dieta rica em gordura. Wu e colaboradores, em 2004, relataram que o consumo de dieta hiperlipídica resulta em aumento de proteínas oxidadas, bem como diminuição dos níveis de BDNF, molécula importante para aprendizagem e memória. Além disso, o consumo de dieta hiperlipídica (60% de gordura oriunda de banha de porco) por 16 semanas produz aumentos nos marcadores de inflamação cerebral, juntamente com a diminuição da expressão do BDNF

(Pistell et al., 2010). De maneira similar, Lindqvist e colaboradores (2006) observaram que ratos *Sprague Dawley*, alimentados por 4 semanas com dieta contendo 42% das calorias provenientes de gordura, mostraram marcadores reduzidos de neurogênese hipocampal. No entanto, embora estes estudos relatem modulação de fatores neurotróficos na obesidade, no presente estudo a obesidade induzida por dieta e a suplementação não foram capazes de alterar os níveis de BDNF e β -NGF no hipocampo.

Ainda, a obesidade induzida por dieta pode alterar a atividade do neurotransmissor glutamato no hipocampo de camundongos (Valladolid-Acebes et al., 2012) e afetar a integridade da barreira hematoencefálica, que auxilia na proteção cerebral contra compostos potencialmente tóxicos no sangue (Kanoski et al., 2010). As gorduras provenientes da dieta podem ser consideradas um fator ambiental de grande relevância para prejuízos na memória e desenvolvimento de neuroinflamação. De fato, diferentes tipos de gorduras presentes nos alimentos podem gerar ácidos graxos que são facilmente incorporados nas membranas do cérebro, afetando sua fluidez e neurotransmissão, o que pode afetar as funções cognitivas e de memória (Haygert et al., 2018). Haygert e colaboradores (2018) demonstraram que dietas ricas em ácidos graxos trans podem aumentar o desenvolvimento de deficiências cognitivas juntamente com níveis aumentados de marcadores de inflamação (IL-1 β) no hipocampo de ratos. Por outro lado, considerando o aumento da expectativa de vida observado nas últimas décadas, o consumo de alimentos saudáveis, como a dieta mediterrânea por exemplo, representa uma estratégia preventiva para minimizar a perda de memória. Ensaio randomizado controlado que avaliou os efeitos da ingestão de abacate na cognição de indivíduos saudáveis que consumiram um abacate / dia durante 6 meses, observou melhora na memória, na memória de trabalho espacial, da atenção sustentada e eficiência na abordagem de um problema (Scott et al., 2017). Dados que corroboram com os achados do presente estudo, onde observou-se melhora da memória de curto prazo tanto nos animais magros quanto nos animais obesos que foram suplementados com óleo de abacate e melhora na memória de longo prazo após suplementação dos animais obesos.

O abacate é uma fonte particularmente biodisponível de luteína (Unlu et al., 2005; Dreher e Davenport, 2013), que é transportada na circulação principalmente pelo HDL (Wang et al., 2007), relatado como transportador específico de luteína em tecido neural (Connor et al., 2007). A luteína da dieta atravessa a barreira hematoencefálica e se acumula na região macular da retina. Os depósitos de luteína nesta região têm sido relacionados à função cognitiva em adultos jovens e idosos (Feeney et al., 2013; Renzi et al., 2014; Vishwanathan et al., 2014), uma vez que as concentrações de luteína na retina estão proporcionalmente

associadas às concentrações cerebrais deste carotenoide (Vishwanathan et al., 2013; Vishwanathan et al., 2016). Estudos mostram que as concentrações cerebrais de luteína em idosos estão positivamente associadas a uma variedade de medidas cognitivas pré-morte (Johnson et al., 2013) e que a sua suplementação melhora os escores de fluência verbal (Johnson et al., 2008). Desta maneira, os efeitos da suplementação com óleo de abacate sobre a cognição neste estudo podem estar, em parte, associados a presença de luteína.

Em relação a ação do óleo de abacate sobre a produção/diminuição de ERO no tecido cerebral, Ortiz-Avila e colaboradores (2015) avaliaram os efeitos da suplementação por 90 dias com óleo de abacate sobre o estresse oxidativo em cérebro de ratos diabéticos. Os autores encontraram menor produção de ERO e diminuição dos danos a lipídeos (TBARS) no cérebro dos animais diabéticos após administração de óleo de abacate, concomitante ao aumento da razão GSH / GSSG, indicando melhora do sistema de defesa antioxidante. Resultados similares aos encontrados no presente estudo, em que a suplementação com óleo de abacate por 90 dias diminuiu os danos causados a proteínas nos animais obesos e elevou a atividade da SOD no hipocampo, sugerindo melhora no sistema de defesa antioxidante. Uma vez que o óleo de abacate aumenta a atividade do complexo III da cadeia respiratória (Ortiz-Avila et al., 2015), sugere-se que a melhoria da atividade do complexo III pode reduzir a meia-vida dos intermediários semiquinona e diminuir os níveis de ERO, já que as semiquinonas são doadoras de elétrons para o oxigênio, formando o ânion superóxido (Ortiz-Avila et al., 2015).

Os efeitos anti-inflamatórios do óleo de abacate encontrados nos tecidos periféricos analisados no presente estudo, estenderam-se também ao tecido cerebral. A obesidade induzida por dieta hiperlipídica aumentou significativamente os níveis de IL-1 β no hipocampo, o que foi revertido após a suplementação de óleo de abacate nos animais obesos. Embora este seja o primeiro estudo relatando os efeitos do óleo de abacate sobre a inflamação no hipocampo induzida pela obesidade, Cintra e colaboradores (2012) demonstraram que a suplementação com óleo de oliva, que possui características físico-químicas semelhantes ao óleo de abacate, reverte a inflamação hipotalâmica em animais obesos induzidos por dieta hiperlipídica. Estes autores também avaliaram a suplementação isolada de ácido oleico neste tecido, observando resultados semelhantes aos encontrados com o óleo de oliva. Desta maneira, sugere-se que a ação anti-inflamatória exercida no hipocampo pelo óleo de abacate seja devido a presença abundante de MUFA em sua composição (Cintra et al., 2012).

Com base nos resultados apresentados, os quais encontram-se sintetizados nas figuras 25 e 26, sugere-se que a suplementação com óleo de abacate reverte parcialmente as alterações metabólicas desencadeadas pela obesidade induzida por dieta hiperlipídica.

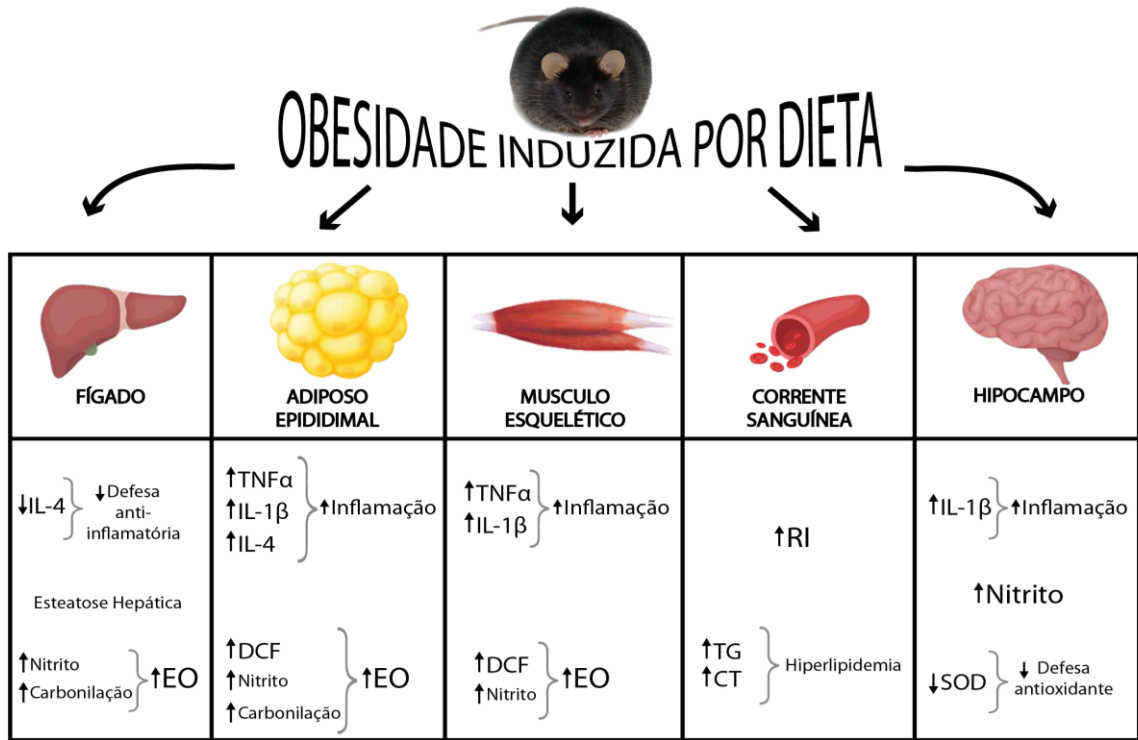


Figura 25: Efeitos da obesidade induzida por dieta no fígado, adiposo epididimal, músculo esquelético, corrente sanguínea e hipocampo. EO: Estresse Oxidativo; RI: Resistência à Insulina; TG: Triglicerídeos. CT: Colesterol Total.

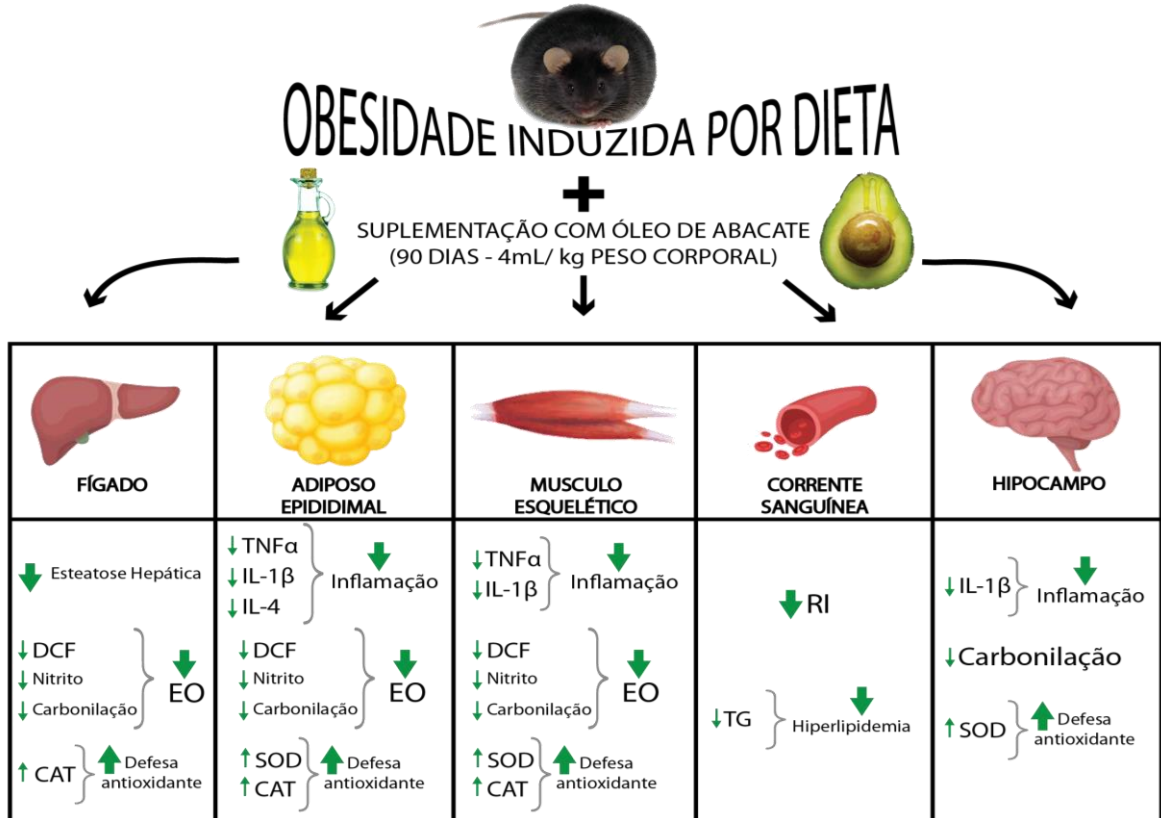


Figura 26: Efeitos da suplementação com óleo de abacate em animais obesos induzidos por dieta no fígado, adiposo epididimal, músculo esquelético, corrente sanguínea e hipocampo. EO: Estresse Oxidativo; RI: Resistência à insulina; TG: Triglicerídeos. CT: Colesterol Total.

6 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica reduziu a sensibilidade periférica à insulina, induziu hiperlipidemia, aumentou a produção de oxidantes derivados do oxigênio e nitrogênio no fígado, tecido adiposo epididimal e quadríceps, bem como aumentou a produção de nitrito concomitante a diminuição do sistema de defesa antioxidante enzimático no hipocampo. Além disso, os animais obesos induzidos por dieta apresentaram maiores níveis de citocinas pró-inflamatórias nos tecidos adiposo epididimal, quadríceps e hipocampo, aliado à diminuição da defesa anti-inflamatória no fígado e desenvolvimento de esteatose hepática.

Em contrapartida, a suplementação com 4 mL / kg / dia, por 90 dias, de óleo de abacate reverteu parcialmente esses parâmetros: a) aumentando a sensibilidade à insulina; b) reduzindo os níveis séricos de triglicerídeos; c) reduzindo a produção de oxidantes; d) aumentando as defesas antioxidantes endógenas; e) reduzindo os danos oxidativos a proteínas; f) diminuindo o *status* inflamatório; g) reduzindo o acúmulo lipídico no fígado e h) melhorando a memória de curto e longo prazo. Todas estas alterações positivas ocorreram independentemente da redução do peso corporal, do índice de adiposidade ou da ingestão alimentar.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aebi H. Catalase in vitro. *Methods Enzymol.* 1984; 105:121-6.

Alhurani RE, Vassilaki M, Aakre JA, Mielke MM, Kremers WK, Machulda MM, Geda YE, Knopman DS, Peterson RC, Roberts RO. Decline in Weight and Incident Mild Cognitive Impairment: Mayo Clinic Study of Aging. *JAMA Neurol.* 2016; 73(4):439-46.

Alomar SY, Zaibi MS, Kępczyńska MA, Gentili A, Alkhuriji A, Mansour L, Dar JA, Trayhurn P. PCR array and protein array studies demonstrate that IL-1 β (interleukin-1 β) stimulates the expression and secretion of multiple cytokines and chemokines in human adipocytes. *Arch Physiol Biochem.* 2015; 121(5):187-93.

Anderson EJ, Lustig ME, Boyle KE, Woodlief TL, Kane DA, Lin CT, Price JW 3rd, Kang L, Rabinovitch PS, Szeto HH, Houmard JA, Cortright RN, Wasserman DH, Neuffer PD. Mitochondrial H₂O₂ emission and cellular redox state link excess fat intake to insulin resistance in both rodents and humans. *J Clin Invest.* 2009; 119(3):573-81.

Anstey KJ, Cherbuin N, Budge M, Young J. Body mass index in midlife and late-life as a risk factor for dementia: a meta-analysis of prospective studies. *Obes Rev.* 2011; 12(5):e426–37.

Antia BS, Okokon JE, Okon PA. Hypoglycemic activity of aqueous leaf extract of *Persea americana* Mill. *Indian J Pharmacol.* 2005; 37(5):325-6.

AOCS. Determination of cis and trans fatty acids in hydrogenated and refined oils and fats by capillary GLC. Official method CE 1f96, 1996.

Armstrong MJ, Adams LA, Canbay A, Syn WK. Extrahepatic complications of nonalcoholic fatty liver disease. 2014; 59(3):1174-97.

Aronson D, Rayfield EJ. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: Molecular mechanisms. *Cardiovasc Diabetol.* 2002; 1:1.

Arslan N, Erdur B, Aydin A. Hormones and cytokines in childhood obesity. *Indian Pediatr.* 2010; 47(10):829-39.

Barbosa KBF, Costa NMB, Alfenas RCG, Paula SO, MINIM VPR, Bressan J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. *Ver Nut.* 2010; 23(4):629-43.

Barma P, Bhattacharya S, Bhattacharya A, Kundu R, Dasgupta S, Biswas A, Bhattacharya S, Roy SS, Bhattacharya S. Lipid induced overexpression of NF- κ B in skeletal muscle cells in linked to insulin resistance. *Biochim Biophys Acta.* 2009; 1792:190-200.

Barnes PM, Powell-Griner E, McFann K, Nahin RL. Complementary and alternative medicine use among adults: United States, 2002. *Adv Data.* 2002; 343:1-19.

Barreiros A, David J, David J. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim Nova.* 2006; 29(1):113-23.

Bergh B. "Nutritious value of Avocado," in *Proceedings of the Biennial Conference of the Australian Avocado Growers' Federation*". California Avocado Society Book. 1992; 76:123-35.

Berglund E, Vianna CR, Coppari R, Elmquist J. Direct leptin action on POMC neurons regulates hepatic insulin sensitivity in mice. *J Clin Inv.* 2012; 122:1000-9.

Bessesen DH, Vensor SH, Jackman MR. Trafficking of dietary oleic, linolenic, and stearic acids in fasted or fed lean rats. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2000; 278(6):E1124-32.

Birben E, Sahiner UM, Sackesen C, Erzurum S, Kalayci O. Oxidative Stress and Antioxidant Defense. *World Allergy Organ J.* 2012; 5:9-19.

Bjermo H, Iggman D, Kullberg J, Dahlman I, Johansson L, Persson L, Berglund J, Pulkki K, Basu S, Uusitupa M, Rudling M, Arner P, Cederholm T, Ahlström H, Risérus U. Effects of n-6 PUFAs compared with SFAs on liver fat, lipoproteins, and inflammation in abdominal obesity: a randomized controlled trial. *Am J Clin Nutr.* 2012; 95(5):1003-12.

Bloomer RJ, Kabir MM, Marshall KE, Canale RE, Farney TM. Postprandial oxidative stress in response to dextrose and lipid meals of differing size. *Lipids Health Dis.* 2010; 9:79-80.

Bollineni RC, Fedorova M, Blüher M, Hoffmann R. Carbonylated plasma proteins as potential biomarkers of obesity induced type 2 diabetes mellitus. *J Proteome Res.* 2014; 13(11):5081-93.

Bondia-Pons I, Ryan L, Martinez JA. Oxidative stress and inflammation interactions in human obesity. *J Physiol Biochem.* 2012; 68:701-11.

Bonnard C, Durand A, Peyrol S, Chanseume E, Chauvin MA, Morio B, Vidal H, Rieusset J. Mitochondrial dysfunction results from oxidative stress in the skeletal muscle of diet-induced insulin-resistant mice. *J Clin Invest.* 2008; 118(2):789-800.

Bouchard C. The biological predisposition to obesity: beyond the thrifty genotype scenario. *Int J Obes (Lond).* 2007; 31:1337-9.

Bozzetto L, Prinster A, Annuzzi G, Costagliola L, Mangione A, Vitelli A, Mazzarella R, Longobardo M, Mancini M, Vigorito C, Riccardi G, Rivellese AA. Liver fat is reduced by an isoenergetic MUFA diet in a controlled randomized study in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care.* 2012; 35(7):1429-35.

Bradford PG. Curcumin and obesity. *Biofactors.* 2013; 39(1):78-87.

Brai BI, Adisa RA, Odetola AA. Hepatoprotective properties of aqueous leaf extract of *persea americana*, mill (lauraceae) 'avocado' against ccl4-induced damage in rats. *Afr J Tradit Complement Altern Med.* 2014; 11(2):237-44.

Brai BIC, Odetola AA, Agomo PU. Effects of *Persea americana* leaf extracts on body weight and liver lipids in rats fed hyperlipidaemic diet. *Afr J Biotech.* 2007; 6:1007-11.

Brestoff JR, Artis D. Immune regulation of metabolic homeostasis in health and disease. *Cell.* 2015; 161:146-60.

Caesar R, Tremaroli V, Kovatcheva-Datchary P, Cani PD, Backhed F. Crosstalk between gut microbiota and dietary lipids aggravates WAT inflammation through TLR signaling. *Cell Metab.* 2015; 22:658-68.

Cai D, Yuan M, Frantz DF, Melendez PA, Hansen L, Lee J, Shoelson SE. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappaB. *Nat Med.* 2005; 11:183-90.

Calder PC, Ahluwalia N, Brouns F, Buetler T, Clement K, Cunningham K. Dietary factors and low-grade inflammation in relation to overweight and obesity. *British Journal of Nutrition.* 2011; 106:S5-78.

Cani PD, Amar J, Iglesias MA, Poggi M, Knauf C, Bastelica D, Neyrinck AM, Fava F, Tuohy KM, Chabo C, Waget A, Delmée E, Cousin B, Sulpice T, Chamontin B, Ferrières J, Tanti JF, Gibson GR, Casteilla L, Delzenne NM, Alessi MC, Burcelin R. Metabolic endotoxemia initiates obesity and insulin resistance. *Diabetes.* 2007; 56:1761-72.

Carranza-Madriral J, Alvizouri-Muñoz M, Herrera-Abarca JE, Chávez-Carbajal F. Efectos del aguacate como fuente de ácidos grasos monoinsaturados en lípidos séricos, metabolismo de la glucosa y reología en pacientes con diabetes tipo 2. *Med Int Mex.* 2008; 24(4):267-72.

Carvajal-Zarrabal O, Nolasco-Hipolito C, Aguilar-Uscanga MG, Melo-Santiesteban G, Hayward-Jones PM, Barradas-Dermitz DM. Avocado Oil Supplementation Modifies Cardiovascular Risk Profile Markers in a Rat Model of Sucrose-Induced Metabolic Changes. *Dis Markers.* 2014; 2014:386425.

Chae SY, Lee M, Kim SW, Bae YH. Protection of insulin secreting cells from nitric oxide induced cellular damage by crosslinked hemoglobin. *Biomaterials.* 2004; 25(5):843-50.

Choi CW, Kim SC, Hwanga SS, Choia BK, Ahna HJ, Lee MY, Park SH, Kim SK. Antioxidant activity and radical scavenging capacity between Korean medicinal plants and flavonoids by assay-guided comparison. *Plant Sci.* 2006; 163(6):1161-8.

Chrysohoou C, Panagiotakos DB, Pitsavos C, Skoumas I, Papademetriou L, Economou M, Stefanadis C. The implication of obesity on total antioxidant capacity in apparently healthy men and women: the ATTICA study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2007; 17(8):590-7.

Cintra DE, Ropelle ER, Moraes JC, Pauli JR, Morari J, de Souza CT, Grimaldi R, Stahl M, Carnevali JB, Saad MJ, Velloso LA. Unsaturated fatty acids revert diet-induced hypothalamic inflammation in obesity. *PLoS One.* 2012; 7(1): e30571.

Colette C, Percheron C, Pares-Herbute N, Michel F, Pham TC, Brilliant L, Descomps B, Monnier L. Exchanging carbohydrates for monounsaturated fats in energy-restricted diets: effects on metabolic profile and other cardiovascular risk factors. *Int J Obes.* 2003; 27:648-56.

Collins KH, Hart DA, Seerattan RA, Reimer RA, Herzog W. High-fat/high-sucrose diet-induced obesity results in joint-specific development of osteoarthritis-like degeneration in a rat model. *Bone Joint Res.* 2018; 7(4):274-81.

Cominetti C, Bortoli MC, Abdalla DSP, Cozzolino SMF. Considerações sobre estresse oxidativo, selênio e nutrigênica. *Nutrire: Rev Soc Bras Alim Nut.* 2011; 36(3):131-53.

Connor WE, Duell PB, Kean R, Wang Y. The prime role of HDL to transport lutein into the retina: Evidence from HDL-deficient WHAM chicks having a mutant ABCA1 transporter. *Investig Ophthalmol Vis Sci.* 2007; 48:4226-31.

Cournot M, Marquie JC, Ansiau D, Martinaud C, Fonds H, Ferrières J, Ruidavets JB. Relation between body mass index and cognitive function in healthy middle-aged men and women. *Neurol.* 2006; 67(7):1208-14.

Curtis JM, Grimsrud PA, Wright WS, Xu X, Foncea RE, Graham DW, Brestoff JR, Wiczler BM, Ilkayeva O, Cianflone K, Muoio DE, Arriaga EA, Bernlohr DA. Downregulation of Adipose Glutathione S-Transferase A4 Leads to eased Protein Carbonylation, Oxidative Stress, and Mitochondrial Dysfunction. *Diabetes.* 2010; 59:1132-42.

Curtis JM, Hahn WS, Stone MD, Inda JJ, Drouillard DJ, Kuzmicic JP, Donoghue MA, Long EK, Armien AG, Lavandero S, Arriaga E, Griffin TJ, Bernlohr DA. Protein Carbonylation and Adipocyte Mitochondrial Function. *J Biol Chem*. 2012; 287:32967-80.

de Oliveira PR, da Costa CA, de Bem GF, Cordeiro VS, Santos IB, de Carvalho LC, da Conceição EP, Lisboa PC, Ognibene DT, Sousa PJ, Martins GR, da Silva AJ, de Moura RS, Resende AC. Euterpe oleracea Mart.-Derived Polyphenols Protect Mice from Diet-Induced Obesity and Fatty Liver by Regulating Hepatic Lipogenesis and Cholesterol Excretion. *PLoS One*. 2015; 10(12):e0143721.

De Souza CT, Araujo EP, Bordin S, Ashimine R, Zollner RL, Boschero AC, Saad MJ, Velloso LA. Consumption of a fat-rich diet activates a proinflammatory response and induces insulin resistance in the hypothalamus. *Endocrinol*. 2005; 146(10):4192-9.

Del Toro-Equihua M, Velasco-Rodríguez R, López-Ascencio R, Vásquez C. Effect of an avocado oil-enhanced diet (*Persea americana*) on sucrose-induced insulin resistance in Wistar rats. *J Food Drug Anal*. 2016; 24(2):350-357.

DeLany JP, Windhauser MM, Champagne CM, Bray GA. Differential oxidation of individual dietary fatty acids in humans. *Am J Clin Nutr*. 2000; 72:905-11.

Di Meo S, Iossa S, Venditti P. Skeletal muscle insulin resistance: role of mitochondria and other ROS sources. *J Endocrinol*. 2017; 233(1):R15-R42.

Diaz-Meco MT, Moscat J. The atypical PKCs in inflammation: NF-kappaB and beyond. *Immunol Rev*. 2012; 246:154-67.

Dickinson BC, Chang CJ. Chemistry and biology of reactive oxygen species in signaling or stress responses. *Nat Chem Biol*. 2011; 7(8):504-11.

Dobrzyn P, Dobrzyn A, Miyazaki M, Ntambi JM. Stearoyl-CoA desaturase and insulin signaling: what is the molecular switch? *Biochim Biophys Acta*. 2010; 1797:1189-94.

Dreher ML, Davenport AJ. Hass avocado composition and potential health effects. *Crit Rev Food Sci Nutr.* 2013; 53(7):738-50.

Dror E, Dalmas E, Meier DT, Wueest S, Thévenet J, Thienel C. Postprandial macrophage-derived IL-1 β stimulates insulin, and both synergistically promote glucose disposal and inflammation. *Nature Immunology.* 2017; 18:283-92.

Duarte N, Coelho IC, Patarrão RS, Almeida JI, Penha-Gonçalves C, Macedo MP. How Inflammation Impinges on NAFLD: A Role for Kupffer Cells. *Biomed Res Int.* 2015; 2015:984578.

Duarte PF, Chaves MA, Borges CD, Mendonca C. Avocado: Characteristics, health benefits and uses. *Cienc Rural.* 2016; 46:747-54.

Egnatchik RA, Leamy AK, Noguchi Y, Shiota M, Young JD. Palmitate-induced activation of mitochondrial metabolism promotes oxidative stress and apoptosis in H4IIEC3 rat hepatocytes. *Metabolism.* 2014; 63(2):283-95.

Elias MF, Elias PK, Sullivan LM, Wolf PA, D'Agostino RB. Obesity, diabetes and cognitive deficit: The Framingham Heart Study. *Neurobiol Aging.* 2005; 26(Suppl 1):11-6.

Erbel R, Budoff M. Improvement of cardiovascular risk prediction using coronary imaging: subclinical atherosclerosis: the memory of lifetime risk factor exposure. *Eur Heart J.* 2012; 33(10):1201-13.

Esposito K, Pontillo A, Di Palo C, Giugliano G, Masella M, Marfella R, Giugliano D. Effect of weight loss and lifestyle changes on vascular inflammatory markers in obese women: a randomized trial. *JAMA.* 2003; 289:1799-804.

Ester AVH, Soraly C, Rosa L, Coromoto GIL. Efecto del consumo de aguacate (*Persea Americana Mill*) sobre el perfil lipídico en adultos con dislipidemia. *An Venez Nutr.* 2009; 22(2):84-9.

FAO. Organização para Alimentação e Agricultura. 2013. [Online]. Disponível em <<http://www.fao.org>>. Acesso em 02 de jul/2018.

Farooqi IS. Defining the neural basis of appetite and obesity: from genes to behaviour. *Clin Med*. 2014; 14(3):286-9.

Feeney J, Finucane C, Savva GM, Cronin H, Beatty S, Nolan JM, Kenny RA. Low macular pigment optical density is associated with lower cognitive performance in a large, population-based sample of older adults. *Neurobiol Aging*. 2013; 34:2449-56.

Fernández-Sánchez A, Madrigal-Santillán E, Bautista M, Esquivel-Soto J, Morales-González A, Esquivel-Chirino C, Durante-Montiel I, Sánchez-Rivera G, Valadez-Vega C, Morales-González JA. Inflammation, oxidative stress, and obesity. *Int J Mol Sci*. 2011; 12(5):3117-32.

Fiedor J, Burda K. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients*. 2014; 6(2):466-88.

Flehmig G, Scholz M, Klötting N, Fasshauer M, Tönjes A, Stumvoll M, Blüher M. Identification of adipokine clusters related to parameters of fat mass, insulin sensitivity and inflammation. *PLoS One*. 2014; 9(6):e99785.

Forbes SP, Alferiev IS, Chorny M, Adamo RF, Levy RJ, Fishbein I. Modulation of NO and ROS production by AdiNOS transduced vascular cells through supplementation with L-Arg and BH 4: Implications for gene therapy of restenosis. *Atherosclerosis*. 2013; 230(1):23-32.

Förstermann U, Münzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease from marvel to menace. *Circulation*. 2006; 113(13):1708-14.

Foss BJ, Sliwka HR, Partali V, Cardounel AJ, Zweier JL, Lockwood SF. Direct superoxide anion scavenging by a highly waterdispersible carotenoid phospholipid evaluated by electron paramagnetic resonance (EPR) spectroscopy. *Bioorg Med Chem Lett*. 2004; 14(11):2807-12.

Freeman LR, Zhang L, Nair A, Dasuri K, Francis J, Fernandez-Kim SO, Bruce-Keller AJ, Keller JN. Obesity increases cerebrocortical reactive oxygen species and impairs brain function. *Free Radic Biol Med*. 2013; 56:226-33.

Friedman JM. Leptin and the regulation of body weight. *Harvey Lect*. 2011; 95:107-36.

Fulgoni VL, Dreher M, Davenport AJ. Avocado consumption is associated with better diet quality and nutrient intake, and lower metabolic syndrome risk in US adults: results from the National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001-2008. *Nutr J*. 2013; 12:1.

Furukawa S, Fujita T, Shimabukuro M, Iwaki M, Yamada Y, Nakajima Y, Nakayama O, Makishima M, Matsuda M, Shimomura I. Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. *J Clin Invest*. 2004; 114(12):1752-61.

Gaelic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 316(2):129-39.

Galano A, Vargas R, Martínez A. Carotenoids can act as antioxidants by oxidizing the superoxide radical anion. *Phys Chem Chem Phys*. 2010; 12(1):193-200.

García-Ruiz I, Rodríguez-Juan C, Díaz-Sanjuan T, del Hoyo P, Colina F, Muñoz-Yagüe T, Solís-Herruzo JA. Uric acid and anti-TNF antibody improve mitochondrial dysfunction in ob/ob mice. *Hepatology*. 2006;44:581–591

Glass CK, Olefsky JM. Inflammation and lipid signaling in the etiology of insulin resistance. *Cell Metab*. 2012; 15:635-45.

Gorinstein S, Poovarodom S, Leontowicz H, Leontowicz M, Namiesnik J, Vearasilp S, Haruenkit RP, Katrich E, Tashma Z. “Antioxidant properties and bioactive constituents of some rare exotic Thai fruits and comparison with conventional fruits. In vitro and in vivo studies”. *Food Res Inter*. 2011; 44(7):2222-32.

Gregor MG, Hotamisligil GS. Inflammatory mechanisms in obesity. *Ann Rev Immunol*. 2011; 29:415-45.

Grimsrud PA, Xie H, Griffin TJ, Bernlohr DA. Oxidative Stress and Covalent Modification of Protein with Bioactive Aldehydes. *J Biol Chem*. 2008; 283:21837-41.

Gupte AA, Bomhoff GL, Swerdlow RH, Geiger PC. Heat treatment improves glucose tolerance and prevents skeletal muscle insulin resistance in rats fed a high-fat diet. *Diabetes*. 2009; 58:567-78.

Hahn WS, Kuzmicic J, Burrill JS, Donoghue MA, Foncea R, Jensen MD, Lavandero S, Arriaga EA, Bernlohr DA. Proinflammatory cytokines differentially regulate adipocyte mitochondrial metabolism, oxidative stress, and dynamics. *AJP: Endocrinol Metabol*. 2014; 306:E1033-45.

Hall KD. A review of the carbohydrate-insulin model of obesity. *Eur J Clin Nutr*. 2017; 71(3):323-6.

Halliwell B, Clemente M, Long L. Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett*. 2000; 486(1):10-3.

Halliwell B, Gutteridge J. Free Radicals and Antioxidants in the Year 2000: A Historical Look to the Future. *Ann N Y Acad Sci*. 1999. 899:136-47.

Halliwell B, Gutteridge JM. Free radicals in biology and medicine. 4th ed. Oxford: Clarendon Press, 2007.

Han RM, Zhang JP, Skibsted LH. Reaction dynamics of flavonoids and carotenoids as antioxidants. *Molecules*. 2012; 17(2):2140-60.

Han E, Lee YH. Non-alcoholic fatty liver disease: The emerging burden in cardiometabolic and renal diseases. 2017; 41(6):430-7.

Handley SL, Mithani S. Effects of alpha-adrenoceptor agonists and antagonists in a maze-exploration model of 'fear'- motivated behaviour. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 1984; 327(1):1-5.

Hasani-Ranjbar S, Jouyandeh Z, Abdollahi M. A systematic review of anti-obesity medicinal plants – an update. *J Diabetes Metab Disord.* 2013; 12(1):28.

Hassing LB, Dahl AK, Pedersen NL, Johansson B. Overweight in midlife is related to lower cognitive function 30 years later: a prospective study with longitudinal assessments. *Dement Geriatr Cogn Disord.* 2010; 29(6):543-52.

Hauck AK, Zhou T, Hahn WS, Petegrosso R, Kuang R, Chen Y, Bernlohr DA. Obesity-induced protein carbonylation in murine adipose tissue regulates the dna binding domain of nuclear zinc-finger proteins. *J Biol Chem.* 2018. pii: jbc.RA118.003469.

Haygert P, Roversi K, Milanesi LH, Maurer LH, Camponogara C, Duarte T, Barcelos RCS, Emanuelli T, Oliveira SM, Duarte MMMF, Trevizol F, Burger ME. Can the dietary fat type facilitate memory impairments in adulthood? A comparative study between Mediterranean and Western-based diet in rats. *J Nutr Biochem.* 2018; 59:104-13.

Heber D. An integrative view of obesity. *Am J Clin Nutr.* 2010; 91(1):280S-3S.

Heijden RA, Sheedfar F, Morrison MC, Hommelberg PP, Kor D, Kloosterhuis NJ, Gruben N, Youssef SA, de Bruin A, Hofker MH, Kleemann R, Koonen DP, Heeringa P. High-fat diet induced obesity primes inflammation in adipose tissue prior to liver in C57BL/6Jmice. *Aging (Albany NY).* 2015; 7(4):256-68.

Hempel SL, Buettner GR, O'Malley YQ, Wessels DA, Flaherty DM. Dihydrofluorescein diacetate is superior for detecting intracellular oxidants: comparison with 2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, 5(and 6)-carboxy-2',7'-dichlorodihydrofluorescein diacetate, and dihydrorhodamine 123. *Free Radic Biol Med.* 1999; 27:146-59.

Hernansanz-Agustin P, Ramos E, Navarro E, Parada E, Sanchez-Lopez N, Pelaez-Aguado L, Cabrera-García JD, Tello D, Buendia I, Marina A, Egea J, López MG, Bogdanova

A, Martínez-Ruiz A. Mitochondrial complex I deactivation is related to superoxide production in acute hypoxia. *Redox Biol.* 2017; 12:1040-51.

Higuchi M, Distingu GJ, Peshavariya H, Jiang F, Hsiao ST, Chan EC, Liu GS. Differentiation of human adipose-derived stem cells into fat involves reactive oxygen species and Forkhead box O1 mediated upregulation of antioxidant enzymes. *Stem Cells Dev.* 2013; 22(6):878-88.

Horvath TL, Andrews ZB, Diano S. Fuel utilization by hypothalamic neurons: Roles for ROS. *Trends Endocrinol Metab.* 2009; 20:78-87.

Huang J, Wang Y, Xie Z, Zhou Y, Zhang Y, Wan X. The anti-obesity effects of green tea in human intervention and basic molecular studies. *Eur J Clin Nutr.* 2014; 68(10):1075-87.

Huertas A, Das SR, Emin M, Sun L, Rifkind JM, Bhattacharya J, Bhattacharya S. Erythrocytes induce proinflammatory endothelial activation in hypoxia. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2013; 48(1):78-86.

Ivy JL. Muscle insulin resistance amended with exercise training: role of GLUT4 expression. *Med Sci Sports Exerc.* 2004; 36(7):1207-11.

ISO. ISO 5509:1978. International Organization for Standardization, 1978.

Izquierdo I, Bevilaqua LR, Rossato JI, Bonini JS, Medina JH, Cammarota M. Different molecular cascades in different sites of the brain control memory consolidation. *Trends Neurosci.* 2006; 29:496-505.

Jaiswal N, Maurya CK, Pandey J, Rai AK, Tamrakar AK. Fructose-induced ROS generation impairs glucose utilization in L6 skeletal muscle cells. *Free Radic Res.* 2015; 49(9):1055-68.

Jamilian M, Samimi M, Mirhosseini N, Afshar Ebrahimi F, Aghadavod E, Taghizadeh M, Asemi Z. A Randomized Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial Investigating the Effect of Fish Oil Supplementation on Gene Expression Related to Insulin Action, Blood Lipids, and Inflammation in Gestational Diabetes Mellitus-Fish Oil Supplementation and Gestational Diabetes. *Nutrients.* 2018; 10(2):E163.

Johnson EJ, McDonald K, Caldarella SM, Chung HY, Troen AM, Snodderly DM. Cognitive findings of an exploratory trial of docosahexaenoic acid and lutein supplementation in older women. *Nutr Neurosci.* 2008; 11(2):75-83.

Johnson EJ, Vishwanathan R, Johnson MA, Hausman DB, Davey A, Scott TM, Green RC, Miller LS, Gearing M, Woodard J, Nelson PT, Chung HY, Schalch W, Wittwer J, Poon LW. Relationship between serum and brain carotenoids, alpha-tocopherol, and retinol concentrations and cognitive performance in the oldest old from the Georgia Centenarian Study. *J Aging Res.* 2013; 2013:951786.

Jovanovic JN, Czernik AJ, Fienberg AA, Greengard P, Sihra TS. Synapsins as mediators of BDNF-enhanced neurotransmitter release. *Nature Neurosci.* 2000; 3:323-9.

Jung TW, Kim HC, El-Aty AMA, Jeong JH. Protectin DX ameliorates palmitate- or high-fat diet-induced insulin resistance and inflammation through an AMPK-PPAR α -dependent pathway in mice. *Sci Rep.* 2017; 7(1):1397.

Jung UJ, Choi MS. Obesity and its metabolic complications: the role of adipokines and the relationship between obesity, inflammation, insulin resistance, dyslipidemia and nonalcoholic fatty liver disease. *Int J Mol Sci.* 2014; 15:6184-223.

Kang YE, Kim JM, Joung KH, Lee JH, You BR, Choi MJ, Ryu MJ, Ko YB, Lee MA, Lee J, Ku BJ, Shong M, Lee KH, Kim HJ. Roles of adipokines, proinflammatory cytokines, and adipose tissue macrophages in obesity associated insulin resistance in modest obesity and early metabolic dysfunction. *PLoS One.* 2016; 11(4):0154003.

Kanokwan V, Erik JH, Chaivat T, Mujalin P, Bupha-Intr T; Vitoon S. Attenuation of oxidant-induced muscle insulin resistance and p38 MAPK by exercise training. *Free Radical Biology & Medicine.* 2009; 47(5):593-9.

Kazemipoor M, Radzi JWM, Cordell GA, Yaze I. Potential of traditional medicinal plants for treating obesity: a review. *Inter Conf Nutrit Food Sci.* 2012; 39:1-6.

Khan NI, Naz L, Yasmeen G. Obesity: an independent risk factor for systemic oxidative stress. *Pak J Pharm Sci.* 2006; 19(1):62-5.

Kien CL, Bunn JY, Stevens R, Bain J, Ikayeva O, Crain K, Koves TR, Muoio DM. Dietary intake of palmitate and oleate has broad impact on systemic and tissue lipid profiles in humans. *Am J Clin Nutr.* 2014; 99:436-45.

Kintscher U, Hartge M, Hess K, Foryst-Ludwig A, Clemenz M, Wabitsch M, Fischer-Posovszky P, Barth TF, Dragun D, Skurk T, Hauner H, Blüher M, Unger T, Wolf AM, Knippschild U, Hombach V, Marx N. T-lymphocyte infiltration in visceral adipose tissue: A primary event in adipose tissue inflammation and the development of obesity-mediated insulin resistance. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28(7):1304-10.

Kolak M, Westerbacka J, Velagapudi VR, Wågsäter D, Yetukuri L, Makkonen J, Rissanen A, Häkkinen AM, Lindell M, Bergholm R, Hamsten A, Eriksson P, Fisher RM, Oresic M, Yki-Järvinen H. Adipose tissue inflammation and increased ceramide content characterize subjects with high liver fat content independent of obesity. *Diabetes.* 2007; 56:1960-8.

Kotronen A, Seppänen-Laakso T, Westerbacka J, Kiviluoto T, Arola J, Ruskeepää AL, Oresic M, Yki-Järvinen H. Hepatic stearoyl-CoA desaturase (SCD)-1 activity and diacylglycerol but not ceramide concentrations are increased in the nonalcoholic human fatty liver. *Diabetes.* 2009; 58(1):203-8.

Kovalchuk Y, Hanse E, Kafitz KW, Konnerth A. Postsynaptic induction of BDNF-mediated long-term potentiation. *Science.* 2002; 295:1729-1.

Kraegen EW, Cooney GJ. Free fatty acids and skeletal muscle insulin resistance. *Curr Opin Lipidol.* 2008; 19:235-41.

Krishnan S, Cooper JA. Effect of dietary fatty acid composition on substrate utilization and body weight maintenance in humans. *Eur J Nutrit.* 2014; 53(3):691-710.

Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature.* 1970; 227(5259):680-5.

Lancaster GI, Langley KG, Berglund NA, Kammoun HL, Reibe S, Estevez E, Weir J, Mellett NA, Pernes G, Conway JRW, Lee MKS, Timpson P, Murphy AJ, Masters SL, Gerondakis S, Bartonicek N, Kaczorowski DC, Dinger ME, Meikle PJ, Bond PJ, Febbraio MA. Evidence that TLR4 is not a receptor for saturated fatty acids but mediates lipid-induced inflammation by reprogramming macrophage metabolism. *Cell Metab.* 2018; 27(5):1096-110.

Langenhoven ML, Kruger M, Gouws E, Faber M. MRC food composition tables. 3 ed. Parow: Medical Research Council; 1991.

Leamy AK, Egnatchik RA, Young JD. Molecular mechanisms and the role of saturated fatty acids in the progression of non-alcoholic fatty liver disease. *Prog Lipid Res.* 2013; 52(1):165-74.

Lee YS, Li P, Huh JY, Hwang IJ, Lu M, Kim JI, Ham M, Talukdar S, Chen A, Lu WJ, Bandyopadhyay GK, Schwendener R, Olefsky J, Kim JB. Inflammation is necessary for long-term but not short-term highfat diet-induced insulin resistance. *Diabetes.* 2011; 60(10):2474-83.

Lerman-Garber I, Ichazo-Cerro S, Zamora-González J, Cardoso-Saldaña G, Posadas-Romero C. Effect of a highmonounsaturated fat diet enriched with avocado in NIDDM patients. *Diabetes Care.* 1994; 17(4):311-5.

Levine RL, Garland D, Oliver CN, Amici A, Climent I, Lenz AG, Ahn BW, Shaltiel S, Stadtman ER. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods Enzymol.* 1990; 186:464-78.

Li CC, Yang HT, Hou YC, Chiu YS, Chiu WC. Dietary fish oil reduces systemic inflammation and ameliorates sepsis-induced liver injury by up-regulating the peroxisome proliferator-activated receptor gamma-mediated pathway in septic mice. *J Nutr Biochem.* 2014; 25(1):19-25.

Li J, Tang Y, Cai D. IKKbeta/NF-kappaB disrupts adult hypothalamic neural stem cells to mediate a neurodegenerative mechanism of dietary obesity and pre-diabetes. *Nat Cell Biol.* 2012; 14(10):999-1012.

Lindqvist A, Mohapel P, Bouter B, Frielingsdorf H, Pizzo D, Brundin P, Erlanson-Albertsson C. High-fat diet impairs hippocampal neurogenesis in male rats. *Eur J Neurol.* 2006; 13:1385-8.

Liou GY, Storz P. Reactive oxygen species in cancer. *Free Radic Res.* 2010; 44(5):479-96.

Lister RG. The use of a plus-maze to measure anxiety in the mouse. *Psychopharmacology (Berl).* 1987; 92(2):180-5.

Liu X, Sievert J, Arpaia ML, Madore MA. Postulated physiological roles of the seven-carbon sugars, mannoheptulose, and perseitol in avocado. *J Am Soc Hortic Sci.* 2002; 127(1):108-14.

Long EK, Olson DM, Bernlohr DA. High -fat diet induces changes in adipose tissue trans-4-oxo-2-nonenal and trans-4-hydroxy-2-nonenal levels in a depot-specific manner. *Free Radic Biol Med.* 2013; 63:390-8.

Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem.* 1951; 193:265-75.

Ludwig DS, Friedman MI. Increasing adiposity: consequence or cause of overeating? *JAMA.* 2014; 311:2167-8.

Luque-Sierra A, Alvarez-Amor L, Kleemann R, Martín F, Varela LM. Extra-virgin olive oil with natural phenolic content exerts an anti-inflammatory effect in adipose tissue and attenuates the severity of atherosclerotic lesions in *ldlr*^{-/-}.leiden mice. *Mol Nutr Food Res.* 2018; 62(13):e1800295.

Luzina IG, Keegan AD, Heller NM, Rook GAW, SheaDonohue T, Atamas SP. Regulation of inflammation by interleukin4: a review of “alternatives”. *J Leuk Biol.* 2012; 92(4):753-764.

Ma Y, Gao M, Liu D. N-acetylcysteine protects mice from high fat diet-induced metabolic disorders. *Pharm Res.* 2016; 33(8):2033-42.

Ma XJ, Xing HZ, Ren GF, Rao XJ, Li ZZ. JIP3 knockout protects mice against high fat diet-induced liver injury. *Biochem Biophys Res Commun*. 2018; 497(3):819-826.

Mahmassani HA, Avendano EE, Raman G, Johnson EJ. Avocado consumption and risk factors for heart disease: a systematic review and meta-analysis. *Am J Clin Nutr*. 2018; 107(4):523-36.

Malik VS, Willett WC, Hu FB. Global obesity: trends, risk factors and policy implications. *Nat Rev Endocrinol*. 2013; 9(1):13-27.

Mamede ME, Pastore GM. Compostos fenólicos do vinho: estrutura e ação antioxidante. *B CEPPA*. 2004; 22(2):232-52.

Mangge H, Becker K, Fuchs D, Gostner JM. Antioxidants, inflammation and cardiovascular disease. *World J Cardiol*. 2014; 6(6):462-77.

Manna P, Jain SK. Obesity, oxidative stress, adipose tissue dysfunction, and the associated health risks: causes and therapeutic strategies. *Metab Syndr Relat Disord*. 2015; 13(10):423-44.

Manning PJ, Sutherland WHF, McGrath MM, De Jong SA, Walker RJ, Williams MJA. Postprandial cytokine concentrations and meal composition in obese and lean women. *Obesity*. 2008; 16:2046-52.

Marseglia L, Manti S, D'Angelo G, Nicotera A, Parisi E, Di Rosa G, Gitto E, Arrigo T. Oxidative stress in obesity: a critical component in human diseases. *Int J Mol Sci*. 2014; 16(1):378-400.

Martins SLC, Silva HF, Novaes MR, Ito MR. Efeitos terapêuticos dos fitosteróis e fotostanóis na colesterolemia. *ALAN*. 2004; 54:257-63.

Maury E, Brichard SM. Adipokine dysregulation, adipose tissue inflammation and metabolic syndrome. *Mol Cell Endocrinol*. 2010; 314(1):1-16.

McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte superoxide reductase (hemocuprein). *J Biol Chem.* 1969; 244(22):6049-55.

Miller E, Walczak A, Majsterek I, Kędziora J. Melatonin reduces oxidative stress in the erythrocytes of multiple sclerosis patients with secondary progressive clinical course. *J Neuroimmunol.* 2013; 257(1-2):97-101.

Mills G. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme that protects hemoglobin from oxidative damage. *J Biol Chem.* 1957; 229:189-197.

Ministério da Saúde. VIGITEL Brasil 2016: Hábitos dos brasileiros impactam no crescimento da obesidade e aumenta prevalência de diabetes e hipertensão. Brasil, 2017. [Online]. <<http://portalarquivos.saude.gov.br/images/pdf/2017/abril/17/Vigitel.pdf>>. Acesso em 27 de jun/2018.

Miranda-Vizuete A, Veal EA. *Caenorhabditis elegans* as a model for understanding ROS function in physiology and disease. *Redox Biol.* 2017; 11:708-14.

Molteni R, Barnard RJ, Ying Z, Roberts CK, Gómez-Pinilla F. A high-fat, refined sugar diet reduces hippocampal brain-derived neurotrophic factor, neuronal plasticity, and learning. *Neuroscience.* 2002;112(4):803-14.

Moraes AL, Almeida EC, Souza LB. Percepções de obesos deprimidos sobre os fatores envolvidos na manutenção da sua obesidade: investigação numa unidade do programa saúde da família no município do Rio de Janeiro. *Revista de Saúde Coletiva*, 2013; 2(1):553-72.

Moraes JC, Coope A, Morari J, Cintra DE, Roman EA, Pauli JR, Romanatto T, Carvalheira JB, Oliveira AL, Saad MJ, Velloso LA. High-fat diet induces apoptosis of hypothalamic neurons. *PLoS One.* 2009; 4(4):e5045.

Mrak RE. Alzheimer-type neuropathological changes in morbidly obese elderly individuals. *Clin Neuropathol.* 2009; 28(1):40-5.

Mukherjee K, Chio TI, Sackett DL, Bane SL. Detection of oxidative stress-induced carbonylation in live mammalian cells. *Free Radic Biol Med*. 2015; 84:11-21.

Myers MG Jr, Leibel RL, Seeley RJ, Schwartz MW. Obesity and leptin resistance: distinguishing cause from effect. *Trends Endocrinol Metab*. 2010; 21(11):643-51.

Nakamura K, Fuster JJ, Walsh K. Adipokines: A link between obesity and cardiovascular disease. *J Cardiol*. 2014; 63:250-259.

Naveh E, Wermann MJ, Sabo E, Neeman I. Defatted avocado pulp reduces body weight and total hepatic fat but increase plasma cholesterol in male rats fed diets with cholesterol. *J Nutr, Haifa*. 2002; 132:2015-8.

NCD Risk Factor Collaboration (NCD-RisC). Trends in adult body-mass index in 200 countries from 1975 to 2014: a pooled analysis of 1698 population-based measurement studies with 19.2 million participants. *Lancet*. 2016; 387(10026):1377-96.

Nejm MB, Haidar AA, Hirata AE, Oyama LM, de Almeida AG, Cysneiros RM, Cavaleiro EA, Scorza CA, Scorza FA. Fish Oil Supplementation Reduces Heart Levels of Interleukin-6 in Rats with Chronic Inflammation due to Epilepsy. *Front Neurol*. 2017; 8:263.

Neto JMF, Nader BB, Riviera RJB, Donadon CC, Macedo DV. Marcadores fisiológicos de overtraining (parte 2): análise de um protocolo para ratos 'wistar' submetidos a treinamento de corrida intermitente. *EFDeportes.com, Revista Digital*. 2012; Ano 17, número 171. Disponível em < <http://www.efdeportes.com/efd171/marcadores-fisiologicos-de-overtraining-2.htm>>. Acesso em 26 de jun/2018.

Nguyen DM, El-Serag, HB. The epidemiology of obesity. *Gastroenterol Clin North Am*. 2010; 39(1):1-7.

O'Brien PD, Hinder LM, Callaghan BC, Feldman EL. Neurological consequences of obesity. *Lancet Neurol*. 2017; 16(6):465-77.

Oliveira MC, Menezes-Garcia Z, Henriques MCC, Soriani FM, Pinho V, Faria AMC, Santiago AF, Cara DC, Souza DG, Teixeira MM, Ferreira AVM. Acute and sustained inflammation and metabolic dysfunction induced by high refined carbohydrate-containing diet in mice. *Obesity (Silver Spring)*. 2013; 21:E396-406.

Oliveira MC, Schoffen JPF. Oxidative stress action in cellular aging. *Braz Arch Biol Technol*. 2010; 53(6):1333-42.

Ortega RM, Rodriguez-Rodriguez E, Aparicio A. Young children with excess of weight show an impaired selenium status. *Int J Vitam Nutr Res*. 2012; 82:121-9.

Ortiz-Avila O, Esquivel-Martínez M, Olmos-Orizaba BE, Saavedra-Molina A, Rodríguez-Orozco AR, Cortés-Rojo C. Avocado Oil Improves Mitochondrial Function and Decreases Oxidative Stress in Brain of Diabetic Rats. *J Diabetes Res*. 2015; 2015:485759.

Ortiz-Avila O, Sámano-García CA, Calderón-Cortés E, Pérez-Hernández IH, Mejía-Zepeda R, Rodríguez-Orozco AR, Saavedra-Molina A, Cortés-Rojo C. Dietary avocado oil supplementation attenuates the alterations by type I diabetes and oxidative stress in electron transfer at the complex II-complex III segment of the electron transport chain in rat kidney mitochondria. *J Bioenerg Biomembr*. 2013; 45(3):271-87.

Osborn O, Olefsky JM. The cellular and signaling networks linking the immune system and metabolism in disease. *Nat Med*. 2012; 18(3):363-74.

Padmanabhan M, Arumugam G. Effect of *Persea Americana* (avocado) fruit extract on the level of expression of adiponectin and PPAR- γ in rats subjected to experimental hyperlipidemia and obesity. *J Complement Integr Med*. 2014; 11:107-19.

Palmer X1, Pizarro-Delgado J1, Barroso E1, Vázquez-Carrera M2. Palmitic and oleic acid: the yin and yang of fatty acids in type 2 diabetes mellitus. *Trends Endocrinol Metab*. 2018 Mar;29(3):178-190.

Panagiotakos DB, Dimakopoulou K, Katsouyanni K, Bellander T, Grau M, Koenig W, Lanki T, Pistelli R, Schneider A, Peters A. Mediterranean diet and inflammatory response in myocardial infarction survivors. *Int J Epidemiol.* 2009; 38:856-66.

Paton CM, Ntambi JM. Biochemical and physiological function of stearoyl-CoA desaturase. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2009; 297(1):E28-37.

Pistell PJ, Morrison CD, Gupta S, Knight AG, Keller JN, Ingram DK, Bruce-Keller AJ. Cognitive impairment following high fat diet consumption is associated with brain inflammation. *J Neuroimmunol.* 2010; 219:25-32.

Peditizi E, Peters R, Beckett N. The risk of overweight/obesity in mid-life and late life for the development of dementia: a systematic review and meta-analysis of longitudinal studies. *Age Ageing.* 2016; 45(1):14-21.

Pellow S, Chopin P, File SE, Briley M. Validation of open:closed arm entries in an elevated plus-maze as a measure of anxiety in the rat. *J Neurosci Methods.* 1985; 14(3):149-67.

Pellow S, File SE. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. *Pharmacol Biochem Behav.* 1986; 24(3):525-9.

Pennathur S, Heinecke JW. Mechanisms for oxidative stress in diabetic cardiovascular disease. *Antioxid Redox Signal.* 2007; 9(7):955-69.

Pennathur S, Heinecke JW. Mechanisms of oxidative stress in diabetes: Implications for the pathogenesis of vascular disease and antioxidant therapy. *Front Biosci.* 2004; 9:565-74.

Pérez CM, Sánchez H, Ortiz AP. Prevalence of overweight and obesity and their cardiometabolic comorbidities in Hispanic adults living in Puerto Rico. *J Comm Health.* 2013; 38:1140-6.

Pérez-Heras AM, Mayneris-Perxachs J, Cofán M, , Serra-Mir M, Castellote AI, López-Sabater C, Fitó M, Salas-Salvadó J, Martínez-González MÁ, Corella D, Estruch R, Ros E,

Sala-Vila A. Long-chain n-3 PUFA supplied by the usual diet decrease plasma stearoyl-CoA desaturase index in non-hypertriglyceridemic older adults at high vascular risk. *Clin Nutr.* 2016; 37(1):157-162.

Pieri BL, Souza DR, Luciano TF, Marques SO, Pauli JR, Silva AS, Ropelle ER, Pinho RA, Lira FS, De Souza CT. Effects of physical exercise on the P38MAPK/REDD1/14-3-3 pathways in the myocardium of diet-induced obesity rats. *Horm Metab Res.* 2014; 46(9):621-7.

Piperi C, Adamopoulos C, Dalagiorgou G, Diamanti-Kandarakis E, Papavassiliou AG. Crosstalk between advanced glycation and endoplasmic reticulum stress: Emerging therapeutic targeting for metabolic diseases. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012; 97:2231-42.

Poljsak B, Šuput D, Milisav I. Achieving the balance between ROS and antioxidants: when to use the synthetic antioxidants. *Oxid Med Cell Longev.* 2013; 2013:956792.

Qizilbash N, Gregson J, Johnson ME, Pearce N, Douglas I, Wing K, Evans SJW, Pocock SJ. BMI and risk of dementia in two million people over two decades: a retrospective cohort study. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2015; 3(6):431-6.

Radika MK, Viswanathan P, Anuradha CV. Nitric oxide mediates the insulin sensitizing effects of β -sitosterol in high fat diet-fed rats. *Nitric Oxide.* 2013; 32:43-53.

Rahimi RS, Landaverde C. Nonalcoholic fatty liver disease and the metabolic syndrome: clinical implications and treatment. *Nutr Clin Pract.* 2013 ;28(1):40-51.

Renzi LM, Dengler MJ, Puente A, Miller LS, Hammond BR. Relationships between macular pigment optical density and cognitive function in unimpaired and mildly cognitively impaired older adults. *Neurobiol Aging.* 2014; 35:1695-9.

Requena JR, Chao CC, Levine RL, Stadtman ER. Glutamic and aminoadipic semialdehydes are the main carbonyl products of metal-catalyzed oxidation of proteins. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2001; 98:69-74.

Ríos-Hoyo A, Cortés MJ, Ríos-Ontiveros H, Meaney E, Ceballos G, Gutiérrez-Salmeán G. Obesity, metabolic syndrome, and dietary therapeutical approaches with a special focus on nutraceuticals (polyphenols): a mini-review. *Int J Vitam Nutr Res.* 2014; 84(3-4):113-23.

Ríos-Hoyo A, Gutiérrez-Salmeán G. New dietary supplements for obesity: what we currently know. *Curr Obes Rep.* 2016; 5(2):262-70.

Rito A, Breda J. Um olhar sobre a estratégia de nutrição, atividade física e obesidade na União Europeia e em Portugal. *Revista Nutrícias,* 2006; 6:14-7.

Rivera P, Pérez-Martín M, Pavón FJ, Serrano A, Crespillo A, Cifuentes M, López-Ávalos MD, Grondona JM, Vida M, Fernández-Llebrez P, de Fonseca FR, Suárez J. Pharmacological administration of the isoflavone daidzein enhances cell proliferation and reduces high fat diet-induced apoptosis and gliosis in the rat hippocampus. *PLoS One.* 2013; 8(5):e64750.

Roberts CK, Sindhu KK. Oxidative stress and metabolic syndrome. *Life Sci.* 2009; 84(21-22):705-12.

Rosenblat M, Volkova N, Aviram M. Pomegranate phytosterol (β -sitosterol) and polyphenolic antioxidant (punicalagin) addition to statin, significantly protected against macrophage foam cells formation. *Atherosclerosis.* 2013; 226:110-7.

Sabia S, Kivimaki M, Shipley MJ, Marmot MG, Singh-Manoux A. Body mass index over the adult life course and cognition in late midlife: the Whitehall II Cohort Study. *Am J Clin Nutr.* 2009; 89(2):601-7.

Salles J, Tardif N, Landrier JF, Mothe-Satney I, Guillet C, Boue-Vaysse C, Combaret L, Giraudet C, Patrac V, Bertrand-Michel J, Denis P, Chardigny JM, Boirie Y, Walrand S. TNF α gene knockout differentially affects lipid deposition in liver and skeletal muscle of high-fat-diet mice. *J Nutr Biochem.* 2012; 23(12):1685-93.

Sani NF, Belani LK, Sin CP, Rahman SN, Das S, Chi TZ, Makpol S, Yusof YA. Effect of the combination of gelam honey and ginger on oxidative stress and metabolic profile in streptozotocin-induced diabetic Sprague-Dawley rats. *Biomed Res Int.* 2014; 2014:160695.

Sankhla M, Sharma TK, Mathur K, Rathor JS, Butolia V, Gadhok AK, Vardey SK, Sinha M, Kaushik GG. Relationship of oxidative stress with obesity and its role in obesity induced metabolic syndrome. *Clin Lab*. 2012; 58(5-6):385-92.

Santos LRC, Rabinovich EP. Situações familiares na obesidade exógena infantil do filho único. *Saúde Soc*. 2011; 20(2):507-521.

Sartipy P, Loskutoff DJ. Monocyte chemoattractant protein 1 in obesity and insulin resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2003; 100:7265-70.

Sargsyan E, Artemenko K, Manukyan L, Bergquist J, Bergsten P. Oleate protects beta-cells from the toxic effect of palmitate by activating pro-survival pathways of the ER stress response. *Biochim Biophys Acta*. 2016; 1861(9 pt A):1151-60.

Sasson M, Lee M, Jan C, Fontes F, Motta J. Prevalence and associated factors of obesity among Panamanian adults 1982–2010. *PLoS One*. 2014; 3:e91689.

Scandalios JG. Oxidative stress: molecular perception and transduction of signals triggering antioxidant gene defenses. *Braz J Med Biol Res*. 2005; 38(7):995-1014.

Schieber M, Chandel NS. ROS function in redox signaling and oxidative stress. *Curr Biol*. 2014; 24:R453-62.

Schwingshackl L, Christoph M, Hoffmann G. Effects of olive oil on markers of inflammation and endothelial function-a systematic review and meta-analysis. *Nutrients*. 2015; 7(9):7651-75.

Schwingshackl L, Hoffmann G. Monounsaturated fatty acids and risk of cardiovascular disease: synopsis of the evidence available from systematic reviews and meta-analyses. *Nutrients*. 2012; 4(12):1989-2007.

Scott TM, Rasmussen HM, Chen O, Johnson EJ. Avocado consumption increases macular pigment density in older adults: a randomized, controlled trial. *Nutrients*. 2017; 23;9(9).

Serra G, Incani A, Serreli G, Porru L, Melis MP, Tuberoso CIG, Rossin D, Biasi F, Deiana M. Olive oil polyphenols reduce oxysterols -induced redox imbalance and pro-inflammatory response in intestinal cells. *Redox Biol.* 2018; 17:348-54.

Sheedfar F, Di Biase S, Koonen D, Vinciguerra M. Liver diseases and aging: friends or foes? *Aging Cell.* 2013; 12:950-4.

Shen HM, Pervaiz S. TNF receptor superfamily-induced cell death: Redox-dependent execution. *FASEB J.* 2006; 20:1589-98.

Shoelson SE, Lee J, Goldfine AB. Inflammation and insulin resistance. *J Clin Invest.* 2006; 116:1793-801.

Sonnenburg JL, Backhed F. Diet-microbiota interactions as moderators of human metabolism. *Nature.* 2016; 535:56-64.

Soriguer F, Morcillo S, Cardona F, Rojo-Martinez G, de la Cruz Almaraz M, Olveira G, Tinahones F, Esteva I. Pro12Ala polymorphism of the PPARG2 gene is associated with type 2 diabetes mellitus and peripheral insulin sensitivity in a population with a high intake of oleic acid. *J Nutr.* 2006; 136:2325e30.

Spoto B, Di Betta E, Mattace-Raso F, Sijbrands E, Vilardi A, Parlongo RM, Pizzini PI, Pisano A, Vermi W, Testa A, Cutrupi S, D'Arrigo G, Lonardi S, Tripepi G, Cancarini G, Zoccali C. Pro- and anti-inflammatory cytokine gene expression in subcutaneous and visceral fat in severe obesity. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014; 24(10):1137-43.

Stafeev IS, Michurina SS, Podkuychenko NV, Vorotnikov AV, Menshikov MY, Parfyonova YV. Interleukin-4 restores insulin sensitivity in lipid-induced insulin-resistant adipocytes. *Biochemistry (Mosc).* 2018; 83(5):498-506.

Stienstra R, Tack CJ, Kanneganti TD, Joosten LA, Netea MG. The inflammasome puts obesity in the danger zone. *Cell Metab.* 2012; 15(1):10-8.

Stranahan AM, Cutler RG, Button C, Telljohann R, Mattson MP. Diet-induced elevations in serum cholesterol are associated with alterations in hippocampal lipid metabolism and increased oxidative stress. *J Neurochem.* 2011; 118:611-5.

Stranahan AM, Norman ED, Lee K, Cutler RG, Telljohann RS, Egan JM, Mattson MP. Diet-induced insulin resistance impairs hippocampal synaptic plasticity and cognition in middle-aged rats. *Hippocampus.* 2008; 18(11):1085-8.

Sumida Y, Niki E, Naito Y, Yoshikawa T. Involvement of free radicals and oxidative stress in NAFLD/NASH. *Free Radic Res.* 2013; 47(11):869-80.

Sun D, Zhang L, Chen H, Feng R, Cao P, Liu Y. Effects of Antarctic krill oil on lipid and glucose metabolism in C57BL/6J mice fed with high fat diet. *Lipids Health Dis.* 2017; 16(1):218.

Talukder MA, Johnson WM, Varadharaj S, Lian J, Kearns PN, El-Mahdy MA, Liu X, Zweier JL. Chronic cigarette smoking causes hypertension, increased oxidative stress, impaired NO bioavailability, endothelial dysfunction, and cardiac remodeling in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2011; 300(1):H388-96.

Tamayo D, Muñoz JF, Lopez Á, Urán M, Herrera J, Borges CL, Restrepo Á, Soares CM, Taborda CP, Almeida AJ, McEwen JG, Hernández O. Identification and analysis of the role of superoxide dismutases isoforms in the pathogenesis of *Paracoccidioides* spp. *PLoS Negl Trop Dis.* 2016; 10(3):e0004481.

Tanaka S, Ide M, Shibutani T, Ohtaki H, Numazawa S, Shioda S, Yoshida T. Lipopolysaccharide-induced microglial activation induces learning and memory deficits without neuronal cell death in rats. *J Neurosci Res.* 2006; 83:557-66.

Tango JS, Carvalho CRL, Soares NB. Physical and chemical characterization of avocado fruits aiming at its potential for oil extraction. *Rev Bras Fruticul.* 2004; 26(1):17-23.

Tateya S, Kim F, Tamori Y. Recent advances in obesity-induced inflammation and insulin resistance. *Front Endocrinol.* 2013; 4:1-14.

Taubes G. *Why we get fat and what to do about it*. New York: Alfred A. Knopf; 2011.

Tetri LH, Basaranoglu M, Brunt EM, Yerian LM, Neuschwander-Tetri BA. Severe NAFLD with hepatic necroinflammatory changes in mice fed trans fats and a high-fructose corn syrup equivalent. 2008; 295(5):G987-95.

Tilg H, Moschen AR. Insulin resistance, inflammation, and nonalcoholic fatty liver disease. *Trends Endocrinol Metab*. 2008; 19:371-9.

Unlu NZ, Bohn T, Clinton SK, Schwartz SJ. Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil. *J Nutr*. 2005; 135(3):431-6.

Urakawa H, Katsuki A, Sumida Y, Gabazza EC, Murashima S, Morioka K, Maruyama N, Kitagawa N, Tanaka T, Hori Y, Nakatani K, Yano Y, Adachi Y. Oxidative stress is associated with adiposity and insulin resistance in men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2003; 88(10):4673-6.

Valko M, Leibfritz D, Moncol J, Cronin MT, Mazur M, Telser J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *Int J Biochem Cell Biol*. 2007 ; 39(1):44-84.

Valko M, Rhodes CJ, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chem Biol Interact*. 20006; 160(1):1-40.

Veeramani C, Alsaif MA, Al-Numair KS. *Lavatera critica* controls systemic insulin resistance by ameliorating adipose tissue inflammation and oxidative stress using bioactive compounds identified by GC-MS. *Biomed Pharmacother*. 2018; 106:183-91.

Vessby B, Gustafsson I-B, Tengblad S, Berglund L. Indices of fatty acid desaturase activity in healthy human subjects: effects of different types of dietary fat. *Br J Nutr*. 2013; 110:871-9.

Vincent HK, Taylor AG. Biomarkers and potential mechanisms of obesity-induced oxidant stress in humans. *Int J Obes*. 2006; 30(3):400-18.

Vishwanathan R, Iannaccone A, Scott TM, Kritchevsky SB, Jennings BJ, Carboni G, Forma G, Satterfield S, Harris T, Johnson KC, Schalch W, Renzi LM, Rosano C, Johnson EJ. Macular pigment optical density is related to cognitive function in the elderly. *Age Aging*. 2014; 43(2):271-5.

Vishwanathan R, Neuringer M, Snodderly DM, Schalch W, Johnson EJ. Macular lutein and zeaxanthin are related to brain lutein and zeaxanthin in primates. *Nutr Neurosci*. 2013; 16:21-9.

Vishwanathan R, Schalch W, Johnson EJ. Macular pigment carotenoids in the retina and occipital cortex are related in humans. *Nutr Neurosci*. 2016; 19:95-101.

Walton PA, Pizzitelli M. Effects of peroxisomal catalase inhibition on mitochondrial function. *Front Physiol*. 2012; 3:108.

Wang W, Connor SL, Johnson EJ, Klein ML, Hughes S, Connor WE. Effect of dietary lutein and zeaxanthin on plasma carotenoids and their transport in lipoproteins in age-related macular degeneration. *Am J Clin Nutr*. 2007; 85:762-9.

Wensveen FM, Jelenčić V, Valentić S, Šestan M, Wensveen TT, Theurich S, Glasner A, Mendrila D, Štimac D, Wunderlich FT, Brüning JC, Mandelboim O, Polić B. NK cells link obesity-induced adipose stress to inflammation and insulin resistance. *Nat Immunol*. 2015; 16(4):376-85.

Werman MJ, Neeman I, Mokady S. Avocado oils and hepatic lipid metabolism in growing rats. *Food Chem Toxicol*, 1991; 29(2):939.

Westman EC, Feinman RD, Mavropoulos JC, Vernon MC, Volek JS, Wortman JA, Yancy WS, Phinney SD. Low-carbohydrate nutrition and metabolism. *Am J Clin Nutr*. 2007; 86:276-84.

WHO. World Health Organization. Obesity and overweight. Fact sheets. 2018 [Online]. Disponível em < <http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>>. Acesso em 05 de jul/2018.

Wree A, Mayer A, Westphal S, Beilfuss A, Canbay A, Schick RR, Gerken G, Vaupel P. Adipokine expression in brown and white adipocytes in response to hypoxia. *J Endocrinol Inv.* 2012; 35:522-7.

Wu A, Molteni R, Ying Z, Gomez-Pinilla F. A saturated-fat diet aggravates the outcome of traumatic brain injury on hippocampal plasticity and cognitive function by reducing brain-derived neurotrophic factor. *Neuroscience.* 2003;119(2):365-75.

Wu AH, Ruan W, Todd J, Lynch KL. Biological variation of β -sitosterol, campesterol and lathosterol as cholesterol absorption and synthesis biomarkers. *Clin Chim Acta.* 2014; 430:43-7.

Wu A, Ying Z, Gomez-Pinilla F. The interplay between oxidative stress and brain-derived neurotrophic factor modulates the outcome of a saturated fat diet on synaptic plasticity and cognition. *Eur J Neurosci.* 2004; 19:1699-707.

Xu P, Wang H, Kayoumu A, Wang M, Huang W, Liu G. Diet rich in docosahexaenoic acid/eicosapentaenoic acid robustly ameliorates hepatic steatosis and insulin resistance in seipin deficient lipodystrophy mice. *Nutr Metab (Lond).* 2015;12:58.

Xu Y, Qi J, Yang X, Wu E, Qian SY. Free radical derivatives formed from cyclooxygenase-catalyzed dihomo- γ -linolenic acid peroxidation can attenuate colon cancer cell growth and enhance 5-fluorouracil's cytotoxicity. *Redox Biology.* 2014; 2:610-8.

Yamasaki M, Hamada K, Fujii K, Nishiyama K, Yamasaki Y, Tari H, Araki K, Arakawa T. Vaccinium ashei leaves extract alleviates insulin resistance via AMPK independent pathway in C2C12 myotube model. *Biochem Biophys Rep.* 2018; 14:182-7.

Yin Y, Liu X, Liu J, Cai E, Zhu H, Li H, Zhang L, Li P, Zhao Y. Beta-sitosterol and its derivatives repress lipopolysaccharide/d-galactosamine-induced acute hepatic injury by inhibiting the oxidation and inflammation in mice. *Bioorg Med Chem Lett.* 2018; 28(9):1525-33.

Yuzefovych L, Wilson G, Rachek L. Different effects of oleate vs. palmitate on mitochondrial function, apoptosis, and insulin signaling in L6 skeletal muscle cells: role of oxidative stress. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2010; 299(6):E1096-105.

Zabolotny JM, Kim YB, Welsh LA, Kershaw EE, Neel BG, Kahn BB. Protein-tyrosine phosphatase 1B expression is induced by inflammation in vivo. *J Biol Chem.* 2008; 283(21):14230-41.

Zaki SM, Abdel Fattah S, Hassan DS. The differential effects of high-fat and high fructose diets on the liver of male albino rat and the proposed underlying mechanisms. *Folia Morphol (Warsz).* 2018

Zhang X, Xu A, Chung SK, Cresser JH, Sweeney G, Wong RL, Lin A, Lam KS. Selective inactivation of c-Jun NH2-Terminal kinase in adipose tissue protects against diet induced obesity and improves insulin sensitivity in both liver and skeletal muscle in mice. *Diabetes.* 2011; 60(2):486-95.

Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature.* 1994; 372(6505):425-32.

ANEXO A - CARTA DE APROVAÇÃO DA CEUA



Universidade do Extremo Sul Catarinense
Comissão de Ética no Uso de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE ÓLEO DE ABACATE SOBRE PARÂMETROS INFLAMATÓRIOS E DE RESISTÊNCIA À INSULINA EM CAMUNDONGOS MAGROS E OBESOS", registrada com o protocolo nº 007/2017-1, sob a responsabilidade de **Claudio Teodoro de Souza**, junto à equipe: **Thaís Fernandes Luciano**, **Matheus Scarpatto Rodrigues**, **Bruno Luiz da Silva Pieri** - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 8.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA da Universidade do Extremo Sul Catarinense - UNESC, em reunião de **21/02/2017**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	01/03/2017 a 20/02/2018
Espécie/linhagem/raça	Camundongo isogênico C57BL/6J
Nº de animais	40
Idade/Peso	21 dias / 12g
Sexo	Masculino
Origem	Biotério da Unesc

The Ethics Committee on Animal Use on Research, sanctioned by the resolution number 02/2011/Câmara Propex, in accordance with federal law number 11.794/08, has analyzed the following Project:

Project title: "EFFECTS OF SUPPLEMENTATION OF AVOCADO OIL ON INFLAMMATORY AND INSULIN RESISTANCE PARAMETERS IN LEAN AND OBESE MICE"

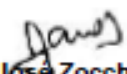
Protocol number: 007/2017-1

Principal Investigator: **Claudio Teodoro de Souza**

Researchers: **Thaís Fernandes Luciano**, **Matheus Scarpatto Rodrigues**, **Bruno Luiz da Silva Pieri**.

The project was **Approved** in its ethical and methodological aspects. Any alteration of the original version of this project must be previously submitted to the Committee for further analyzes. May you have further questions, please contact us on www.unesc.net/propex/ceua or by e-mail: ceua@unesc.net.

Criciúma, 21 de fevereiro de 2017.


Jairo José Zocche
Coordenador da CEUA

ANEXO B - LAUDO ANALÍTICO DA DIETA HIPERLÍPIDICA



Quantidades produzidas de cada substância na fórmula

Pedido
 Cliente Bruno Pieri UNESC
 Data 22/04/2015
 Validade 21/07/2015 Em geladeira 19/10/2015 Em freezer
 Manipulador
 Formula Dieta Hiperlipídica
 Dose (g ou ml) 6,000 Vezes: 6 X
 Dose (Kg ou L) 6,00

Cód	Produto	Quantidade prescrita	Fornecedor	Fator correção	Lote	Validade	Quantidade prod. (g/ml)	Pesados prod. (g/ml) qsp	Verif OK
	AMIDO DE MILHO	14,75000%	Ingredion	1	990522	13/10/16	885,000	885,000	
	CASEINA	20,00000%	MSI	1	19130T1000	21/03/16	1.200,000	1.200,000	
	AMIDO DEXTRINIZADO	10,00000%	Ingredion	1	909110	29/02/16	600,000	600,000	
	SACAROSE	10,00000%	GA	1	0407	04/07/16	600,000	600,000	
	OLEO DE SOJA	4,00000%	Cocamar	1	81502	05/03/2016	240,000	240,000	
	CELULOSE MICROCRISTALINA	5,00000%	Farmos	1	D23279	30/07/2017	300,000	300,000	
	MIX MINERAL AIN 93 G	3,50000%	PragSoluções	1	060415	06/04/16	210,000	210,000	
	MIX VIT AIN 93	1,00000%	PragSoluções	1	060415	06/04/16	60,000	60,000	
	L CISTINA	0,30000%	Farmos	1	104604	03/04/2018	18,000	18,000	
	BITARTARATO DE COLINA	0,25000%	Farmos	1	3006290	30/07/19	15,000	15,000	
	BANHA	31,20000%	Estrela	1		18/08/15	1.872,000	1.872,000	
		100,00000%					6,000	6,000	

diluições: 1/0000 em sacarose

Manipulado:

Aprovado:

Obs Produto destinado a pesquisa. Isento de registro no Ministério da Agricultura Pecuária e Abastecimento.