

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO E ALIMENTOS



Dissertação

**Influência do consumo de iogurte suplementado com *Lactococcus lactis*
R7 e extrato de araçá vermelho nos marcadores inflamatórios e
bioquímicos de camundongos induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2**

Vanize Priebe Sell

Pelotas, 2023

VANIZE PRIEBE SELL

Influência do consumo de iogurte suplementado com *Lactococcus lactis* R7 e extrato de araçá vermelho nos marcadores inflamatórios e bioquímicos de camundongos induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Orientadora: Prof.^a Dr.^a Simone Pieniz

Coorientadora: Dr.^a. Elisa dos Santos Pereira

Pelotas, 2023

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação da Publicação

S467i Sell, Vanize Priebe

Influência do consumo de iogurte suplementado com *Lactococcus lactis* R7 e extrato de araçá vermelho nos marcadores inflamatórios e bioquímicos de camundongos induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2 [recurso eletrônico] / Vanize Priebe Sell ; Simone Pieniz, orientadora ; Elisa dos Santos Pereira, coorientadora. — Pelotas, 2023.

61 f. : il.

Dissertação (Mestrado) — Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos, Faculdade de Nutrição, Universidade Federal de Pelotas, 2023.

1. Comorbidades. 2. Probióticos. 3. Polifenóis. 4. Citocinas. 5. Frutas nativas. I. Pieniz, Simone, orient. II. Pereira, Elisa dos Santos, coorient. III. Título.

Elaborada por Simone Godinho Maisonave CRB: 10/1733

VANIZE PRIEBE SELL

Influência do consumo de iogurte suplementado com *Lactococcus lactis* R7 e extrato de araçá vermelho nos marcadores inflamatórios e bioquímicos de camundongos induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos da Universidade Federal de Pelotas, como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição e Alimentos.

Data da defesa: 08/03/2023

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Simone Pieniz (Orientadora)

Doutora em Microbiologia Agrícola e do Ambiente pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Dr^a. Elisa dos Santos Pereira (Coorientadora)

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Prof^a. Dr^a. Marjana Radünz (Titular)

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Prof^a. Dr^a. Chirle de Oliveira Raphaelli (Titular)

Doutora em Ciência e Tecnologia de Alimentos pela Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Dr^a. Phatise Souto de Oliveira (Suplente)

Doutora em Ciências - Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas (UFPEL)

Agradecimentos

Aos meus pais, Breino e Verônica e meu irmão Airon, juntamente com meus sogros Odílio e Caren Regina. Agradeço o apoio e esforço para que eu pudesse me dedicar ao bem mais precioso que podemos ter: o conhecimento.

Ao meu marido, Acauã, pela compreensão e incentivo em busca da minha evolução.

A minha amiga, Dra. Miriam Rejane, por acreditar em mim e me auxiliar na trajetória acadêmica e profissional.

A minha orientadora, Dra. Simone Pieniz, pelo acolhimento desde o início do experimento e ensinamentos.

A minha coorientadora, Dra. Elisa Pereira, por todos os ensinamentos, paciência e auxílio.

Aos demais amigos do laboratório que contribuíram para realizar este trabalho.

“Talvez não tenha conseguido fazer o melhor, mas lutei para que o melhor fosse feito. Não sou o que deveria ser, mas Graças a Deus, não sou o que era antes”.

Marthin Luther King

RESUMO

SELL, Vanize Priebe. 2023. 61f. **Influência do consumo de iogurte suplementado com *Lactococcus lactis* R7 e extrato de araçá vermelho nos marcadores inflamatórios e bioquímicos de camundongos induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2.** Dissertação (Mestrado em Nutrição e Alimentos) – Programa de Pós-Graduação em Nutrição e Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2023.

A obesidade está correlacionada com inúmeras comorbidades, entre elas, o diabetes *mellitus* tipo 2. A inflamação crônica de baixo grau, provocada pela obesidade, é o elo entre o excesso de adiposidade e o diabetes *mellitus* tipo 2. Diante disso, são necessárias novas abordagens com o intuito de minimizar a inflamação causada pela obesidade e, conseqüentemente, restaurar os níveis glicêmicos. Os probióticos atuam no equilíbrio da microbiota, sobretudo restaurando a barreira intestinal, impedindo o influxo do lipopolissacarídeo na circulação reduzindo a inflamação. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 apresentou efeito benéfico na estabilização de células cancerígenas, porém ainda são necessárias pesquisas acerca da sua ação no diabetes *mellitus* tipo 2. Além dos probióticos, compostos fenólicos presentes em frutas, como no araçá vermelho, possuem a capacidade de reduzir a inflamação suprimindo as citocinas inflamatórias que estão associadas à obesidade e assim, reduzindo os níveis glicêmicos. Desta forma, produtos suplementados com micro-organismos probióticos e/ou compostos bioativos podem causar efeitos benéficos na saúde, sobretudo na homeostase da glicemia. O objetivo foi avaliar o potencial anti-inflamatório e os parâmetros bioquímicos em camundongos induzidos ao diabetes tipo 2 mediante a administração de iogurte suplementado com *L. lactis* R7 e extrato de araçá vermelho. Camundongos C57BL/6 foram induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2, e após, receberam diferentes tratamentos, durante 30 dias: controle; iogurte (I); iogurte+probiótico(IP); iogurte+araçá(IA) e iogurte+probiótico+araçá(IPA). Após eutanásia, foram avaliados parâmetros hematológicos, bioquímicos e níveis de adipocinas. O tratamento IP resultou em redução significativa da glicemia em machos e fêmeas induzidos, e uma diminuição de mais de 70% na enzima ALT em fêmeas induzidas. Observou-se ainda uma redução nas plaquetas em fêmeas induzidas tratadas com IPA. Além disso, o tratamento IP contribuiu para a redução de citocinas inflamatórias, incluindo IL-1 β em ambos os grupos, machos e fêmeas induzidas, enquanto o tratamento IA reduziu IL-6 e TNF- α em fêmeas induzidas. O tratamento I demonstrou eficácia na diminuição das proteínas e globulinas totais em fêmeas diabéticas. A diversidade de respostas observadas entre os tratamentos e grupos sugere que essas intervenções foram benéficas tanto quando aplicadas individualmente quanto em combinação na redução dos efeitos metabólicos da obesidade, incluindo a inflamação e comorbidades, como o diabetes *mellitus*.

Palavras-chave: Comorbidades; probióticos; polifenóis; citocinas; frutas nativas.

ABSTRACT

SELL, Vanize Priebe. 2023. 61f. **Influence of yoghurt consumption supplemented with *Lactococcus lactis* R7 and red strawberry extract on inflammatory and biochemical markers in mice induced to type 2 diabetes mellitus.** Dissertation (Master in Nutrition and Food) – Graduate Program in Nutrition and Food. Federal University of Pelotas, Pelotas, 2023.

Obesity is correlated with numerous comorbidities, including type 2 diabetes *mellitus*. Chronic low-grade inflammation, caused by obesity, is the link between excess adiposity and type 2 diabetes *mellitus*. Therefore, new approaches are needed with the aim of minimizing inflammation caused by obesity and, consequently, restoring glycemic levels. Probiotics act to balance the microbiota, especially by restoring the intestinal barrier, preventing the influx of lipopolysaccharide into the circulation, reducing inflammation. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 had a beneficial effect on stabilizing cancer cells, but research is still needed on its action on type 2 diabetes *mellitus*. In addition to probiotics, phenolic compounds present in fruits, such as red araçá, have the ability to reduce inflammation by suppressing inflammatory cytokines that are associated with obesity and thus reducing glycemic levels. Therefore, products supplemented with probiotic microorganisms and/or bioactive compounds can cause beneficial effects on health, especially on blood glucose homeostasis. The objective was to evaluate the anti-inflammatory potential and biochemical parameters in mice induced with type 2 diabetes through the administration of yogurt supplemented with *L. lactis* R7 and red araçá extract. C57BL/6 mice were induced to type 2 diabetes *mellitus*, and then received different treatments for 30 days: control; yogurt (I); yogurt+probiotic (IP); yogurt+araçá (IA) and yogurt+probiotic+araçá (IPA). After euthanasia, hematological and biochemical parameters and adipokine levels were evaluated. IP treatment resulted in a significant reduction in glycemia in induced males and females, and a decrease of more than 70% in the ALT enzyme in induced females. A reduction in platelets was also observed in induced females treated with IPA. Furthermore, IP treatment contributed to the reduction of inflammatory cytokines, including IL-1 β in both male and female induced groups, while IA treatment reduced IL-6 and TNF- α in induced females. Treatment I demonstrated efficacy in reducing proteins and total globulins in diabetic females. The diversity of responses observed across treatments and groups suggests that these interventions were beneficial both when applied individually and in combination in reducing the metabolic effects of obesity, including inflammation and comorbidities such as diabetes *mellitus*.

Keywords: Comorbidities; probiotics; polyphenols; cytokines; native fruits.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 -	Peso corporal e ganho de peso final dos animais saudáveis e induzidos ao diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 ao longo dos 300 dias (10 meses). Valores expressos em média \pm desvio padrão.....	34
Figura 2 -	Consumo alimentar dos animais saudáveis e induzidos ao diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 ao longo dos 300 dias (10 meses).....	35
Figura 3 -	Expressão de genes pró-inflamatórios (IL-1 β ; IL-6; TNF- α).....	45
Figura 4 -	Expressão de genes relacionados a adipogênese.....	47

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Ensaio <i>in vivo</i> com administração de diferentes tratamentos.....	30
Tabela 2 -	Determinação dos parâmetros bioquímicos realizados em todos os animais do experimento após 30 dias de tratamento.....	38
Tabela 3 -	Hemograma comparando o efeito do tratamento com iogurte, iogurte+araçá, iogurte+probiótico, iogurte+probiótico+araçá e controle em grupos de camundongos saudáveis e induzidos ao diabetes tipo 2 após 30 dias de tratamento.....	42
Tabela 4 -	Determinação dos parâmetros inflamatórios realizados em todos os animais do experimento após 30 dias de tratamento.....	49

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	12
2.	OBJETIVOS	13
2.1.	Objetivo geral.....	13
2.2.	Objetivos específicos.....	13
3.	REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1.	Obesidade.....	14
3.2.	Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2 (DM2).....	15
3.3.	Influência do processo inflamatório nos níveis sanguíneos de glicose.....	17
3.4.	Bactérias probióticas.....	21
3.4.1	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> R7.....	24
3.5.	Araçá (<i>Psidium cattleianum</i> Sabine).....	25
3.6.	Formulação de iogurte suplementado com probiótico e extrato de frutas.....	27
4.	MATERIAIS E MÉTODOS	28
4.1.	Obtenção e preparo do extrato de araçá.....	28
4.2.	Cultivo da bactéria probiótica.....	29
4.3.	Elaboração do iogurte.....	29
4.4.	Experimento <i>in vivo</i>	30
4.5.	Peso corporal e consumo alimentar durante a indução e tratamento.....	31
4.6.	Eutanásia.....	32
4.7.	Análise hematológica.....	32
4.8.	Perfil bioquímico.....	32
4.9.	PCR Quantitativo em tempo real (qRT-PCR).....	33

4.10.	Análise estatística.....	33
5.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	33
5.1.	Peso corporal e consumo alimentar.....	33
5.2.	Parâmetros bioquímicos.....	36
5.3.	Parâmetros hematológicos.....	41
5.4.	Expressão gênica de adipocinas no fígado.....	44
5.5.	Parâmetros inflamatórios.....	48
6.	CONCLUSÕES	51
7.	REFERÊNCIAS	52

1. Introdução

A obesidade é uma doença crônica não transmissível que atinge proporções epidêmicas em grande parte do mundo e é um dos principais problemas de saúde pública mundial. O aumento da gordura corporal possui forte correlação com algumas comorbidades como doenças cardiovasculares, dislipidemias, doença renal crônica, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) (SOUZA, 2018).

O DM2 é caracterizado por secreção defeituosa de insulina pelas células β pancreáticas e/ou resistência à insulina que leva a níveis elevados de glicose no sangue (GALICIA-GARCIA et al., 2020). É uma doença que possui alta prevalência e está associada a complicações microvasculares e macrovasculares, além de comorbidades como diversos tipos de cânceres e infecções respiratórias (BERTONHI, 2018; SBD, 2019; FREEMAN, 2020; TOMIC, 2022). Nas últimas décadas, ocorreu marcante investigação sobre a resistência à insulina induzida pela obesidade, especialmente no que se refere ao mecanismo envolvido neste processo. Uma das hipóteses que constitui esse elo é a inflamação crônica de baixo grau, caracterizada por altos níveis circulantes de citocinas inflamatórias. Tal fato é desencadeado pela expansão do tecido adiposo que por sua vez entra em hipóxia e, conseqüentemente, morte celular gerando o estado inflamatório caracterizado por níveis séricos elevados de interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 1-beta (IL-1 β) que por sua vez promovem a resistência à insulina (DONATH, 2011; SOUZA, 2018).

Diante disso, são necessárias novas abordagens com o intuito de minimizar a inflamação causada pela obesidade e, conseqüentemente, restaurar os níveis glicêmicos. Nessa perspectiva, alimentos funcionais contendo probióticos e/ou extrato de frutas podem ser uma alternativa eficaz e de fácil incorporação na alimentação humana. A bactéria denominada R7, isolada de queijo ricota, identificada molecularmente como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7, apresentou características probióticas *in vitro* (CUNHA, 2021). E ainda, em modelos animais, o isolado de *L. lactis* R7 demonstrou potencial anticancerígeno (JASKULSKI et al., 2018), sendo necessário avaliar a ação desse isolado em outras patologias, como o DM2.

Além das bactérias probióticas, as frutas são reconhecidamente fonte potencial de compostos bioativos, como vitaminas, minerais, carotenoides e compostos fenólicos (VERRUCK et al., 2018). Este último já foi relacionado com a prevenção de doenças cardiovasculares, atenuação do estresse oxidativo, e ainda na modulação de diversas patologias crônico-degenerativas, como o diabetes *mellitus*, o câncer e em processos inflamatórios (ROCHA et al., 2011; VERRUCK et al., 2018),

Dentre as diversas frutas com potencial bioativo, destaca-se o araçá vermelho (*Psidium cattleianum* Sabine). O araçá é um fruto nativo do Brasil estando amplamente distribuído em todo território nacional. Porém, por ser altamente perecível, carece de intervenções tecnológicas no intuito de atingir um número maior de consumidores e propiciar a oferta do fruto durante um período maior (DOMINGUES, 2019). Contudo, existe o estímulo à formulação de novos produtos funcionais, com adição de bactérias probióticas e/ou extrato de frutas ricas em compostos bioativos, auxiliando na prevenção de doenças, entre estas, o DM2.

2. Objetivos

2.1. Objetivo geral

Avaliar o potencial anti-inflamatório e os parâmetros bioquímicos em camundongos induzidos ao diabetes tipo 2 mediante a administração de iogurte suplementado com *L. lactis* R7 e extrato de araçá vermelho.

2.2. Objetivos específicos

a) Avaliar o peso corporal e o consumo alimentar de camundongos saudáveis e induzidos ao DM2 durante o período de indução e tratamento (10 meses).

b) Avaliar *in vivo* a influência do consumo do iogurte suplementado com *L. Lactis* R7 e araçá vermelho sobre parâmetros inflamatórios por meio dos leucócitos, globulinas, bem como, expressão de genes relacionados à adipogênese e inflamação após o tratamento de 30 dias.

c) Avaliar *in vivo* a influência do consumo do iogurte suplementado com *L. Lactis* R7 e araçá vermelho sobre parâmetros bioquímicos após o tratamento de 30 dias.

3. Revisão de literatura

3.1. Obesidade

A obesidade é definida como o acúmulo excessivo de gordura corporal, no qual é classificada, principalmente, pelo índice de massa corporal (IMC), sendo o $IMC \geq 30 \text{ kg/m}^2$ denominado de obesidade (MOHAMMED, 2018; MAYORAL, 2020).

A epidemia de obesidade é uma preocupação global de saúde pública (ESTIVALETI, 2022). No Brasil, dados do Sistema de Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico - VIGITEL (2019), apontaram que a frequência de excesso de peso corresponde a 55,4% e a frequência de obesos é de 20,3% (BRASIL, 2020). A prevalência global projetada até 2030 é estimada em 17,5% (aproximadamente, 1 bilhão de pessoas) para obesidade e 5,7% (333 milhões de pessoas) para obesidade grau II e III (ESTIVALETI, 2022). Os custos diretos de saúde no Brasil relacionados às doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) atribuíveis ao sobrepeso e à obesidade são estimados em US\$ 654 milhões anualmente (FERRARI, 2022).

Com a globalização, o fenômeno da transição nutricional viabilizou a inserção e permanência de um ambiente e estilo de vida “obesogênico”, o que favoreceu o aumento das prevalências de sobrepeso e de obesidade no Brasil e no mundo (DA SILVA MALVEIRA, 2021). Além de hábitos alimentares inadequados e inatividade física, outros fatores como polimorfismos genéticos, fatores psicossociais e restrição do sono estão entre as causas desta doença (SALEM, 2022).

A inflamação ocasionada pela obesidade também pode ocasionar outras doenças como dislipidemias, hipertensão arterial, doença hepática, câncer, alergias, osteoporose, sarcopenia, apneia obstrutiva do sono, infertilidade na mulher e DM2 (SILVESTRIS, 2018; DE OLIVEIRA, 2020; BARAKAT, 2021). Já se sabe, por exemplo, que a hipóxia e morte celular do tecido adiposo em expansão, gera ativação das vias do fator nuclear- κ B (NF- κ B) e JunN-terminal kinase (JNK), ativação de interleucina-1 β (IL-1 β), e recrutamento e ativação de

células imunes que são mecanismos que ligam o estado inflamatório da obesidade à patogênese do DM2 (DONATH, 2011).

Uma vez que a resistência à insulina é estabelecida, ocorre aumento na probabilidade do desenvolvimento de outras doenças como hipertensão, síndrome dos ovários policísticos e síndrome metabólica (CHEN, 2015), além da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (MAVROGIANNAKI, 2013).

A patogenicidade do tecido adiposo difere de acordo com a sua localização, que pode ser visceral ou subcutâneo, sendo o primeiro um preditor independente de sensibilidade à insulina e associado à maior produção de adipocinas como fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), inibidor-1 do ativador do plasminogênio (PAI-1) e IL-6 (MONTEIRO, 2010).

Em um estudo foi avaliada a iniciação e a progressão *in vitro* e *in vivo* da inflamação e da resistência à insulina durante o desenvolvimento da obesidade em camundongos alimentados com dieta rica em gordura. Em três dias de dieta hiperlipídica, a resistência à insulina foi relacionada à sobrecarga de lipídios, ao passo que a inflamação tecidual crônica surgiu como uma das principais causas da resistência à insulina durante o estágio estabelecido da obesidade (LEE, 2011). Em outro estudo, também com modelos animais obesos induzidos por dieta rica em gordura, foram observados níveis plasmáticos mais elevados de adipocinas (TNF- α , IL-6, resistina, proteína quimiotática de monócitos 1 (MCP-1), PAI-1 e leptina), além de sensibilidade à insulina prejudicada (AVTANSKI, 2019). Em indivíduos obesos também foram identificadas diversas anormalidades metabólicas como estresse oxidativo, disfunção mitocondrial, disfunção imunológica, além de inflamação crônica de baixo grau (KAWAI, 2021).

Relatos recentes indicam que a exposição à inflamação proveniente da obesidade materna torna os filhos mais susceptíveis a adquirir doenças crônicas no início da vida ou até mesmo a longo prazo, a exemplo do transtorno do espectro do autismo (TEA); transtorno de déficit de atenção e hiperatividade (TDAH); distúrbios alimentares além de ansiedade na idade adulta (DENIZLI, 2022).

3.2. Diabetes mellitus tipo 2 (DM2)

O DM2 é caracterizado pela secreção defeituosa de insulina pelas células β pancreáticas e/ou resistência à insulina resultando em níveis elevados de

glicose no sangue (GALICIA-GARCIA et al., 2020). A patogênese desta doença é multifatorial e pode ser influenciada por fatores genéticos, imunológicos e ambientais (BRUNKWALL e ORHO-MELANDER, 2017). Ademais, essa patologia está fortemente relacionada à obesidade, sendo a inflamação crônica de baixo grau presente nesse quadro, a precursora da resistência à insulina (SOUZA, 2018; HUANG, 2022).

Segundo a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD), no ano de 2017 o Brasil encontrava-se entre os países com maior número de indivíduos com diabetes tipo 1 e tipo 2 (20 a 79 anos), representando cerca de 12,5 milhões, e com projeções ainda maiores para 2045 caracterizando 20,3 milhões de pessoas (SBD, 2019).

As complicações da resistência à insulina estão associadas principalmente à insuficiência renal crônica e diálise, perda da acuidade visual e neuropatia periférica. Também pode ocasionar doenças cardiovasculares, demência e pé diabético, que leva ao maior risco de amputação de membros inferiores (BERTONHI, 2018; FREEMAN, 2020). Embora essas doenças representem ainda grande prevalência, os indivíduos com DM2 estão vivendo mais e, portanto, mudando o perfil de complicações sendo atualmente relacionada a diversos tipos de comorbidades, tais como: cânceres gastrointestinais (carcinoma hepatocelular, câncer de pâncreas, câncer colorretal); cânceres específicos do sexo feminino (câncer de mama, câncer do endométrio); infecções respiratórias (COVID-19, pneumonia, influenza H1N1), dentre outras (TOMIC, 2022).

Novos métodos de triagem e de diagnóstico estão sendo estudados com vista para detecção precoce, diminuindo o risco dos pacientes de desenvolver complicações, sendo que dentre os candidatos a biomarcadores estão as adipocinas (adiponectina, IL-1b, IL-6, leptina e TNF- α) além da proteína C reativa (PCR) e gama-glutamiltanspeptidase (Ggt) (ORTIZ-MARTÍNEZ, 2022). A capacidade preditiva desses elementos foi avaliada e concluiu-se que níveis elevados de IL-6, PCR, leptina e gGT e baixos níveis de adiponectina são observados em pacientes que desenvolveram DM2 (MARQUES-VIDAL, 2012).

Estudos verificaram que o consumo de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* enriquecido com *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* Bb12 e *Lactobacillus acidophilus*

estirpe La5 causou diminuição significativa nos níveis séricos de HbA1c e TNF- α , indicando uma abordagem alternativa visando a prevenção e um método de tratamento para controlar as complicações diabéticas (MOHAMADSHAHI, 2014). Em uma meta-análise, concluiu-se que o consumo de probióticos multiespécies reduziram a glicemia de jejum, além de colesterol total e pressão arterial sistólica e diastólica (LIANG, 2022).

Além disso, o tratamento com metformina por vezes não é aderido pelos pacientes devido aos efeitos colaterais no sistema gastrointestinal, dessa forma, o suporte probiótico com *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (BB-12) adicionado ao tratamento com metformina diminuiu as queixas de diarreia e inchaço, e aumentou a adesão dos pacientes ao tratamento e ainda, promoveu melhor controle glicêmico e redução de HbA1c (ŞAHIN, 2022).

Alimentos ricos em compostos fenólicos também foram avaliados em associação com medicamentos hipoglicemiantes demonstrando interações sinérgicas que podem ser úteis na redução da dose de medicamentos antidiabéticos, minimizando vários efeitos adversos associados ao seu uso (BLAHOVA, 2021). Dessa forma, o extrato de araçá pode ser benéfico, já que demonstrou ser rico em compostos fenólicos e ainda, indicou potencial anti-hiperglicêmico *in vitro* (VINHOLES et al., 2017) e *in vivo* (OLIVEIRA et al., 2018).

3.3. Influência do processo inflamatório nos níveis sanguíneos de glicose

Evidências mostram que o tecido adiposo secreta uma série de hormônios e moléculas sinalizadoras, os quais são chamados de adipocinas (MAKKI, 2013). Adipocina é um termo amplo adotado para descrever a proteína que é sintetizada e secretada pelo tecido adiposo, sendo esta proteína uma citocina ou não (PRADO, 2009). As citocinas são hormônios proteicos caracterizados como mediadores e reguladores de respostas imunes e inflamatórias (PRADO, 2009).

As adipocinas exercem seus papéis biológicos de forma autócrina, parácrina ou sistêmica e influenciam vários processos fisiológicos relacionados à energia, metabolismo da glicose e imunidade. Nesse sentido, enquanto o tecido adiposo de indivíduos magros secreta preferencialmente adipocinas anti-inflamatórias como adiponectina, interleucinas, tais como, IL-10, IL-4, IL-13 e

apelina, o tecido adiposo obeso libera predominantemente adipocinas pró-inflamatórias, entre as quais TNF- α , IL-6, resistina, angiotensina II e leptina (MAKKI, 2013).

Durante o desenvolvimento da obesidade ocorre aumento da secreção das citocinas pró-inflamatórias levando a um quadro de inflamação crônica (LAFONTAN, 2014). Isso ocorre, primeiramente, porque o tecido adiposo pode se expandir de forma mais rápida do que a vasculatura, o qual é responsável por levar oxigênio e nutrientes. Sendo assim, a hipóxia ocorre à medida que o suprimento de oxigênio se torna limitado e a angiogênese compensatória é induzida pela produção de vários fatores angiogênicos na tentativa de restaurar os níveis necessários de oxigênio e fornecimento de nutrientes. Por consequência, os macrófagos se acumulam em locais de hipóxia induzindo a inflamação (DONATH, 2011). Durante as respostas inflamatórias locais e sistêmicas, os macrófagos residentes no tecido adiposo apresentam antígenos para iniciar o recrutamento de outras células imunes e secretam citocinas para regular as cascatas de sinalização inflamatória no tecido hospedeiro (KAWAI, 2021).

O mecanismo envolvido na resistência à insulina mediado por citocinas pró-inflamatórias envolvem a ativação das vias da quinase inibidora do fator nuclear kappa-B subunidade β (IKK β)/NF- κ B e JNK em adipócitos, em hepatócitos e em macrófagos associados (MAKKI, 2013). Quando ativadas desempenham papéis diferentes na resistência à insulina (SHOELSON, 2006; TILG, 2008). A IKK β leva à ativação de NF- κ B, que por sua vez, induz a expressão de genes alvo, como citocinas pró-inflamatórias que podem causar a resistência à insulina. Já a ativação de JNK induzida pela obesidade inibe a fosforilação de resíduos de serina em substrato 1 do receptor de insulina (IRS-1), o que prejudica a sinalização da insulina (SHOELSON, 2006; TILG, 2008).

Entre as adipocinas envolvidas na regulação da resistência à insulina estão: leptina, adiponectina, resistina, visfatina, IL-1, IL-6, IL-8, IL-10 e TNF- α (MAKKI, 2013). O TNF- α é uma citocina pró-inflamatória e multifuncional envolvida na inibição do metabolismo de carboidratos, lipogênese, adipogênese e termogênese e, estimulação da lipólise. Concentrações excessivas de TNF- α têm sido implicadas no desenvolvimento de resistência à insulina na obesidade e DM2 por meio da ativação de três MAPKs: proteína quinase ativada por

mitógeno p38 (p38), JNK e proteínas quinases reguladas por sinal extracelular 1 e 2 (ERK1/2). A sinalização MAPK é necessária para manter a condição metabólica normal, mas a ativação excessiva de MAPKs está associada a doenças inflamatórias, incluindo obesidade e diabetes (SON, 2019).

Além disso, o TNF- α parece ter papel importante na fisiopatologia da resistência à insulina por meio da diminuição da expressão celular dos transportadores de glicose (GLUT-4) diminuindo a captação da glicose e, além disso, essa citocina atua na inibição da fosforilação do IRS-1 (SPERETTA, 2014). Em vista disso, foram encontrados altos níveis de TNF- α em diabéticos obesos, sendo que quanto maior o nível da citocina, maior o valor de hemoglobina glicada (HbA1c) (ALZAMIL, 2020).

De forma semelhante, a IL-6 tem uma relação inversamente proporcional com a expressão de IRS-1 e do GLUT-4 nos tecidos adiposo, muscular e hepático (PENNA, 2020), sendo que um terço das concentrações circulantes totais de IL-6 originam-se do tecido adiposo (FONTANA, 2007). Uma pesquisa revelou variações significativas nos níveis séricos de IL-6 e TNF- α em indivíduos saudáveis, pré-diabéticos e DM2, mas de forma lenta e gradual durante a progressão de uma condição saudável para diabetes através do pré-diabetes (HUANG, 2022).

Em contraste, a IL-10 é uma citocina anti-inflamatória produzida por macrófagos e linfócitos que atua inibindo a ativação de NF- κ B induzida por TNF- α , reduzindo assim a atividade de IKK (DE LUCA, 2008). Além disso, essa citocina atua suprimindo a produção de outras citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-1 β , IL-6 e IL-8 (LEON-CABRERA, 2015). Foi demonstrado que há uma maior incidência de resistência à insulina em indivíduos com níveis séricos reduzidos de IL-10 (DE LUCA, 2008). Outro estudo também demonstrou que a medida em que os níveis circulantes de IL-10 diminuem, ocorre aumento significativo dos níveis de insulina e índice HOMA-IR (LEON-CABRERA, 2015). Uma bebida probiótica à base de soja contendo *Enterococcus faecium* CRL 183, *Lactobacillus helveticus* 416 e *Bifidobacterium longum* ATCC 15707 demonstrou aumentar a expressão de IL-6 e IL-10 no tecido adiposo (DE CARVALHO, 2018).

A leptina, sintetizada e secretada pelos adipócitos, funciona como um sinal aferente de saciedade, que atua sobre o hipotálamo, regulando o apetite e,

portanto, controlando a massa gorda corporal (MARQUES-LOPES, 2004). Essa adipocina possui nível circulante proporcional à adiposidade corporal e quando liberado na corrente sanguínea, exerce efeito inibitório na ingestão alimentar (CHAVES, 2016).

Indivíduos obesos possuem altas concentrações de leptina e, por essa razão, deveriam sentir menos fome que os indivíduos com peso corporal normal. No entanto, à medida que a adiposidade e os níveis de leptina aumentam, os receptores cerebrais tornam-se menos sensíveis, ou seja, a partir de determinados níveis de leptina o organismo responde de forma inversa (AMARAL, 2016).

A leptina possui ainda propriedades pró-inflamatórias onde a medida em que o tecido adiposo aumenta, maior é a produção de leptina o que facilita a secreção de citocinas pró-inflamatórias como TNF, IL-1 e IL-6. Por outro lado, TNF- α e IL-1 β aumentam a expressão do mRNA da leptina no tecido adiposo. Dessa forma, essa adipocina possui a capacidade de promover ou sustentar a inflamação de baixo grau observada na obesidade (IIKUNI, 2008).

O gene FTO (associado à massa gorda e obesidade), é expresso em vários tecidos e órgãos, como tecido adiposo, fígado, ilhotas pancreáticas, rins, gônadas, musculatura estriada e cardíaca e em maior quantidade no cérebro, especialmente no núcleo arqueado (RAMOS, 2011; CAMPOS, 2013). O alelo A, conhecido como alelo de risco, demonstrou estar associado ao aumento da ingestão de energia, aumento da ingestão de gordura ou proteína na dieta, aumento do apetite e redução da saciedade, além de perda de controle sobre a ingestão alimentar (LEOŃSKA-DUNIEC, 2018). A deficiência de FTO ou mutações parciais de perda de função no gene estão associadas com menor adiposidade, enquanto a expressão aumentada de FTO resulta em aumento de adiposidade e peso corporal em camundongos (MIZUNO, 2018).

Além disso, o aumento na expressão hepática de FTO estimula a gliconeogênese e lipogênese *de novo* (processo de síntese de ácidos graxos a partir de carboidratos, sendo um possível mecanismo que atua nas dislipidemias e acúmulo de gordura corporal). Além disso, o aumento de FTO inibe a lipólise e a oxidação de ácidos graxos, levando ao aumento anormal da produção hepática de glicose e à deposição de triglicerídeos. Portanto, a inibição da expressão e/ou atividade de FTO pode oferecer uma nova abordagem

terapêutica para tratar o diabetes e a doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (POLACOW, 2007; MIZUNO, 2018).

Ainda, o polimorfismo de nucleotídeo único FTO rs9939609 T>A tem sido relacionado à inflamação sistêmica, por meio da elevação da proteína C reativa, um marcador associado ao aumento do risco para DM2 (FISHER, 2009; YANG, 2021).

Já os PPARs, são fatores de transcrição ativados por ligantes envolvidos na regulação de vários processos biológicos, incluindo metabolismo de lipídios e glicose e homeostase energética geral. Esses fatores de transcrição também modulam a resposta inflamatória, o que pode ser considerado um alvo terapêutico para mitigar a inflamação induzida pela obesidade e suas consequências (STIENSTRA, 2007). O PPAR- γ suprime a atividade de transcrição do NF-Kb, além de regular positivamente a proteína IRS, o que melhora a resistência à insulina induzida pela obesidade (LI, 2022). Pelo menos duas diferentes isoformas de PPAR- γ são conhecidas: PPAR- γ 1, expressa em tecidos não adiposos, e PPAR- γ 2, que é específica do tecido adiposo (STIENSTRA, 2007).

3.4. Bactérias probióticas

Os probióticos podem ser definidos como “micro-organismos vivos que, quando administrados em quantidades adequadas, conferem benefícios à saúde do hospedeiro” (FAO/WHO, 2002). Os produtos lácteos representam o maior segmento do mercado contendo probióticos. Esses alimentos conferem uma imagem positiva dos probióticos para a saúde por diversos motivos: 1) Produtos lácteos fermentados, como o iogurte, possuem um histórico de serem saudáveis; 2) Os consumidores estão familiarizados com o fato de que os produtos fermentados contêm micro-organismos vivos; 3) Os probióticos usados como organismos iniciadores combinam as imagens positivas da fermentação e das culturas probióticas; 4) A imagem dos produtos semelhantes ao iogurte como alimentos saudáveis facilita a recomendação do consumo diário de probióticos (HELLER, 2001).

Na fabricação do iogurte são usadas culturas iniciais de *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus* para fermentação (GAO et al., 2021). Estas possuem efeitos sinérgicos, pois aceleram o processo

de acidificação e de multiplicação de organismos de cultura. Devido a isso o tempo necessário para a fermentação pode ser tão curto quanto 2,5 h e, ainda, o tratamento térmico é dispensável com o uso da cultura inicial clássica de iogurte (HELLER, 2001).

Os probióticos podem exercer seus efeitos localmente ou durante a passagem pelo trato gastrointestinal (TGI) (OUWEHAND, 2002). Nesse sentido, para garantir os efeitos é necessário um número adequado de micro-organismos de, no mínimo, 6 a 7 Log UFC.mL⁻¹ ou g⁻¹ no alimento (FAO/WHO, 2002) que podem ser afetadas pelas condições do TGI, como baixo pH do estômago, presença de sais biliares e de enzimas digestivas (FARNWORTH, 2008). Além disso, o consumo de produtos contendo probióticos deve ser diária, já que estes não colonizam o intestino, cessando a permanência destes no TGI quando o consumo de produtos base é interrompido (ALANDER et al., 1999).

O lipopolissacarídeo (LPS) é um componente da parede bacteriana Gram-negativa que pode causar “endotoxemia metabólica”, caracterizada por aumento nos níveis de LPS na corrente sanguínea e que pode desempenhar um papel negativo na patogênese da resistência à insulina (LIANG et al., 2013). Em um estudo foi identificado que indivíduos com DM1 e DM2 apresentam níveis superiores de LPS em jejum, em comparação com indivíduos não diabéticos (GOMES, 2017).

Em casos de disbiose, ocorre mudanças na barreira intestinal caracterizadas pelo aumento da permeabilidade do intestino, facilitando que bactérias e toxinas entrem na circulação sanguínea. Indivíduos obesos e diabéticos frequentemente possuem disbiose sendo a dieta e o uso de antibióticos identificados como impulsionadores dessas mudanças a nível intestinal (SCHEITHAUER, 2020). Nestes casos, os LPS podem ativar a resposta imune local por meio de receptores expressos em altos níveis na superfície de macrófagos e células dendríticas. No sangue e nos tecidos, o LPS desencadeia uma resposta inflamatória por meio da liberação de moléculas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1, IL-6 e óxido nítrico-sintase induzida (iNOS). Com a ativação dessa cascata inflamatória, as serina quinases ativadas (JNK e IKK) podem induzir a fosforilação da serina IRS, que inibe a sinalização da insulina, resultando em resistência à insulina celular (SAAD et al., 2016; LI et al., 2017). No estudo de Jayashree (2014), os níveis de LPS em indivíduos com DM2 foram

significativos e foi positivamente correlacionado com a zonulina (um marcador de permeabilidade intestinal) glicemia de jejum, 2 h pós-glicose, HbA1c, TNF- α e IL-6.

Dependendo da composição, a microbiota intestinal pode contribuir para o aumento ou para a diminuição da inflamação de baixo grau, impactando na sensibilidade à insulina e no DM2, por exemplo, espécies como *Lactobacillus*, *Bacteroides*, *Roseburia* e *Akkermansia*, as quais podem diminuir citocinas pró-inflamatórias como IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-17 e TNF- α , prevenindo a inflamação de baixo grau. Por outro lado, *Fusobacterium nucleatum* e *Ruminococcus gnavus* podem aumentar a produção de citocinas inflamatórias (HUDA, 2021).

A suplementação de probióticos pode restaurar a barreira intestinal, impedindo o influxo de endotoxinas na circulação e, finalmente, reduzindo a inflamação. Em um estudo clínico randomizado, duplo-cego e controlado de 3 meses avaliando o uso de um suplemento probiótico contendo oito (n=8) cepas em indivíduos DM2, foi observado que embora os níveis de endotoxina circulante no grupo de probióticos não fossem diferentes do placebo após o período de intervenção, foram observadas melhorias significativas na adiposidade abdominal e HOMA-IR (SABICO, 2017).

Um ensaio randomizado controlado por placebo de 60 adultos saudáveis com excesso de peso alimentados com probióticos contendo três cepas de *Bifidobacterium*, quatro (n=4) cepas de *Lactobacillus* e uma (n=1) cepa de *Streptococcus* concluíram que os probióticos afetaram favoravelmente a sensibilidade à insulina, o perfil lipídico e o índice aterogênico, e reduziu a proteína C reativa de alta sensibilidade (PCR), um marcador de inflamação (RAJKUMAR et al., 2014).

Uma meta-análise demonstrou que a suplementação com probióticos diversos produziu um efeito benéfico na redução dos níveis de marcadores de inflamação no plasma, incluindo TNF- α e PCR, mas sem efeitos sobre a IL-6. Além disso, os probióticos atuaram de maneira favorável no controle glicêmico por meio de reduções significativas da glicemia de jejum, HbA1c e HOMA-IR demonstrando que suplementação pode ser benéfica para pacientes com DM2, devido à atenuação da inflamação crônica de baixo grau pela microbiota intestinal, a qual foi modulada por probióticos (DING, 2021).

No entanto, ainda são necessárias mais intervenções para investigar os efeitos do tratamento de cepas específicas em diferentes dosagens e durações na resistência à insulina.

3.4.1. *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7

As bactérias ácido lácticas (BAL) produzem ácido láctico devido a fermentação de açúcares. São caracterizados por um grupo de micro-organismos Gram-positivos, não formadores de esporos, catalase negativos e tolerantes ao baixo pH. Possuem temperaturas de crescimento entre 30 e 42 °C para espécies mesófilas e termófilas, respectivamente, podendo apresentar-se na forma de cocos ou bacilos (MAKAROVA, 2007; ROSOLEN, 2020).

Os gêneros que compõem esse grupo de micro-organismos são *Oenococcus*, *Enterococcus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus*, *Leuconostoc*, *Lactosphaera* e *Weissella* (ROSOLEN, 2020).

A espécie *L. lactis* é dividida em subespécies, sendo as mais comuns *L. lactis* subsp. *lactis* e *L. lactis* subsp. *cremoris*. A subespécie *lactis* que utiliza o citrato é reconhecida como *L. lactis* ssp. *lactis* biovar diacetylactis declarada em muitos estudos por melhorar o balanço microbiológico intestinal, sendo assim utilizada como micro-organismo probiótico (NOMURA et al., 2006).

Geralmente, *L. lactis* é usada na fermentação de alimentos como queijos, iogurtes, chucrutes e produtos similares, tornando-o reconhecido por ser um micro-organismo do tipo GRAS (*Generally Recognized as Safe*), ou seja, seguro para o consumo. Além de conferir sabor, o ácido produzido por essa espécie auxilia na preservação dos alimentos (ROSOLEN, 2020). Também foi demonstrada a capacidade de produção de vitaminas como folato (B9), riboflavona (B2) (SONG et al., 2017) e ácido linoleico conjugado (CLA) tornando o produto nutricionalmente enriquecido (ANDRADE et al., 2012).

Atualmente, existem linhagens probióticas bem caracterizadas e disponíveis, mas as novas linhagens podem apresentar características funcionais diferenciadas (CUNHA, 2021). O isolado *L. lactis* R7, obtido de queijo ricota, foi identificado molecularmente como *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* e apresentou características probióticas *in vitro* nas análises de tolerância ao pH ácido, sais biliares, suco gástrico simulado e suco intestinal simulado. Esse

isolado produz como principal produto da fermentação o ácido láctico, caracterizada como homo fermentativo. Além disso, foi caracterizado como não formador de biofilme, atividade hemolítica negativa e, da mesma forma, enzimas DNase, gelatinase e lipase negativa (CUNHA, 2021). O isolado também apresentou capacidade de autoagregação, coagregação e hidrofobicidade, indicando potencial para ser utilizado como probiótico. Da mesma forma, apresentou atividade antagonista contra *Salmonella* Enteritidis, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* e potencial antioxidante onde exibiu capacidade de sequestrar o radical DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil) (CUNHA, 2021).

L. lactis R7 foi microencapsulado por *spray drying* utilizando como material encapsulante a combinação de soro de queijo e inulina, para verificar a estabilidade em diferentes matrizes alimentares, como suco de mirtilo, leite e creme de leite. Observou-se que a acidez do suco de mirtilo, levou a perda da integridade da microcápsula e exposição de *L. lactis* R7. Enquanto no leite e no creme de leite o micro-organismo manteve sua estabilidade ao longo de 28 dias de armazenamento a 4 °C. Em relação a concentração, as células aplicadas no suco de mirtilo, ficaram em torno de 10 log UFC.mL⁻¹ após a passagem pelo fluído gástrico. A ruptura da microcápsula no leite, ocorreu apenas após 120 min (>11 log UFC.mL⁻¹), enquanto que no creme de leite a alta concentração celular foi encontrada em todas condições analisadas. Matrizes lácteas, portanto, apresentaram boas condições para estabilidade de *L. lactis* R7 (ROSOLEN, 2020).

Alguns estudos já foram realizados com esse isolado em modelos animais. *L. lactis* R7 demonstrou potencial anticancerígeno atuando na estabilização das células cancerosas contra o câncer colorretal, atuando como possível modulador. Dessa forma, é necessário avaliar a ação desse isolado em outras patologias, como o DM2. Além disso, observou-se melhora em outros aspectos como estabilidade do ganho de peso, redução da adiposidade abdominal, melhora da resposta imune, capacidade antioxidante frente ao estresse oxidativo e proteção à peroxidação lipídica (JASKULSKI et al., 2018).

3.5. Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine)

O araçazeiro produz frutos popularmente conhecidos como araçá. É uma planta arbórea que apresenta fruto globoso cuja casca pode ser vermelha, amarela (KOCH et al., 2021). A polpa é succulenta, doce, um pouco ácida e picante e possui coloração branca amarelada ou avermelhada com múltiplas sementes (PEREIRA et al., 2021; GWOZDZ, 2021). Cultivado da Bahia até o Rio Grande do Sul onde costuma florescer de junho a dezembro e os frutos amadurecem de setembro até março e podem se adaptar a extremos de água e de temperatura (KOCH et al., 2021). No Brasil, não há plantio de araçá voltado exclusivamente à prática industrial. A fruta ainda tem um caráter silvestre, sendo consumida principalmente "*in natura*" e não como um produto manufaturado. Apresentam importância ecológica, pois seus frutos são fontes de alimento à fauna silvestre (KOCH et al., 2021). Muitos animais que consomem esses frutos, acabam veiculando a dispersão das sementes e favorecendo a sobrevivência e permanência dessa espécie (KOCH et al., 2021). Além disso, o araçá possui relevância econômica, no entanto, seu consumo torna-se um desafio, visto que, é muito perecível e, uma vez colhida, dura apenas 3-4 dias em temperatura ambiente (CORRÊA, 2011; PATEL, 2012).

Na forma *in natura* possui altos níveis de compostos fenólicos que podem chegar até 768 mg/100 g polpa de fruta fresca (MEDINA et al., 2011). O extrato de araçá vermelho também é rico em compostos fenólicos como cianidina-3-O-glicosídeo, malvidina-3-glicosídeo, quercetina, kaempferol, catequina, miricetina e ácidos elágico, 4-hidroxibenzóico, p-cumárico, siringico e vanílico (PEREIRA et al., 2020).

O extrato de frutas de araçá possui efeito antiproliferativo *in vitro* em células cancerígenas de MCF-7 (mama) e Caco-2 (cólon) devido ao alto conteúdo de compostos fenólicos. Além disso, apresentou potencial antioxidante, testado por meio de ensaio de levedura e de ensaio de eliminação do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) (MEDINA et al., 2011).

A bioatividade relatada para o araçá é atribuída principalmente aos compostos fenólicos os quais são metabolismos especializados, conhecidos por apresentar alta capacidade antioxidante (VERMA et al., 2013). Nesse sentido, esses compostos atuam na redução de aterosclerose, doenças cardiovasculares e DM2. Outros compostos presentes no fruto de araçá incluem minerais, ácidos

graxos, açúcares, compostos voláteis e carotenoides que também podem contribuir para saúde humana (PEREIRA et al., 2018).

Os polifenóis reduzem a inflamação suprimindo as citocinas pró-inflamatórias na doença inflamatória intestinal, além disso, pode atuar na prevenção/tratamento de doenças autoimunes como DM1, artrite reumatoide e esclerose múltipla, regulando as vias de sinalização, suprimindo a inflamação e limitando a desmielinização (SHAKOOR, 2021). Ainda, interferem no processo inflamatório de diversas maneiras, e assim contribuem para reduzir a resistência à insulina. Estes podem inibir a síntese de mediadores pró-inflamatórios, tais como IL-6, IL-8, TNF- α (MARGINĂ, 2020), além de inibir a sinalização da via NF-Kb e ativar a via MAPK (HUSSAIN, 2016; KANG, 2019). A ativação de MAPK permite a translocação de GLUT-4 mediado por insulina para a membrana plasmática, dos tecidos muscular e adiposo, permitindo assim o aumento do transporte de glicose para dentro da célula (KANG, 2019).

Nesse sentido, novas estratégias para atingir a inflamação associada à obesidade têm o potencial de serem eficazes no tratamento de várias doenças crônicas, incluindo DM2.

A administração do extrato araçá vermelho (200 mg/kg/dia por 150 dias) em ratos *Wistar* alimentados com uma dieta altamente palatável evitou alterações causadas pela dieta, tais como, aumento do ganho de peso e gordura visceral, níveis séricos de glicose, triglicerídeos, colesterol total, LDL e IL-6 (OLIVEIRA et al., 2018). Além disso, o araçá foi comparado a metformina e ambos preveniram o aumento dos níveis séricos de glicose, colesterol total, triglicerídeos, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) e IL-6 induzidos pelo DM2 (CARDOSO, 2022).

Os frutos de *Psidium guajava* L. (goiabeira) também pertencente à família *Myrtaceae*, demonstraram que após 4 semanas de suplementação (125 e 250 mg/kg) reduziu os níveis de glicose no sangue de maneira dependente da dose em comparação com ratos diabéticos controle (HUANG, 2011). Na polpa da goiaba são encontrados compostos fenólicos como a quercetina e a catequina que estão presentes também no araçá (MENEZES, 2016).

3.6. Formulação de iogurte suplementado com probiótico e extrato de frutas

Os produtos alimentícios bioativos são alimentos naturais ou processados, fortificados com compostos ativos de atividade biológica conhecida (TERPOU et al., 2019). Com a crescente demanda de consumidores por produtos mais saudáveis, que atuam na prevenção e na redução de problemas de saúde, houve um aumento no desenvolvimento de bebidas funcionais. Muitos esforços foram empregados para dar aos derivados lácteos propriedades benéficas, como a adição de ingredientes de valor agregado, como extratos de plantas, prebióticos e probióticos (TRENTIN e DOS SANTOS, 2020).

Em estudo anterior, foi realizada uma formulação com araçá-vermelho liofilizado no iogurte grego. Verificou-se que além de boa aceitabilidade, a adição do araçá vermelho contribuiu com propriedades bioativas como antocianinas, compostos fenólicos totais, carotenoides, flavonoides e atividade antioxidante comparada à fruta *in natura* (GWOZDZ, 2021).

Em um estudo realizado *in vitro*, foi determinada a capacidade antioxidante e a atividade microbiana de várias cepas probióticas em combinação com diversos extratos de frutas vermelhas ricas em antocianinas, com o objetivo de desenvolver um produto alimentar funcional. Os resultados demonstram um aumento na capacidade antioxidante pela união do probiótico com o extrato de frutas. Além disso, todos os extratos de frutas obtiveram atividade antimicrobiana contra as cepas de *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus* e *Escherichia coli* (COMAN, 2018).

Além disso, os mesmos autores observaram que os extratos de frutas demonstraram a capacidade de estimular o crescimento dos probióticos, assim, ao avaliar o potencial prebiótico dos extratos foi observado que durante a fermentação *in vitro* o extrato foi utilizado como fonte de carbono pelos probióticos estimulando o seu crescimento (COMAN, 2018). Visto isso, verifica-se a importância do desenvolvimento de novos produtos que exerçam ações benéficas ao organismo, tais como a redução dos níveis glicêmicos e inflamatórios.

4. Materiais e métodos

4.1. Obtenção e preparo do extrato de araçá

Os frutos de araçá vermelho (AC 87) foram obtidos do Campo Experimental da Embrapa Clima Temperado, Pelotas, RS. Para obtenção do extrato de araçá, a semente foi retirada a fim de não interferir sensorialmente no iogurte. Para a extração, foi utilizado etanol 95%, na proporção 1:4 (amostra:solvente) e triturados em ultra-turrax para completa homogeneização. O extrato foi centrifugado e o sobrenadante coletado e rota-evaporado para total eliminação do resíduo de solvente. O extrato foi liofilizado e armazenado a -80 °C em ultra freezer até a utilização.

4.2. Cultivo da bactéria probiótica

L. lactis R7 foi caracterizada com potencial probiótico, em estudos anteriores pelo grupo de pesquisa (CUNHA, 2021) e está armazenada na coleção de estoque de micro-organismos conservado, no Laboratório de Nutrigenômica da Faculdade de Nutrição – UFPel. *L. lactis* R7 foi inoculada em meio de soro de leite pasteurizado, e incubada à temperatura de 37 °C por 12 h. Após, este meio foi centrifugado e o soro de leite descartado. A cultura foi liofilizada, e realizada contagem para verificar a concentração bacteriana, e posteriormente, armazenada em ultra-freezer a -80 °C.

4.3. Elaboração do iogurte

O iogurte foi elaborado a partir da mistura de 40 mL de iogurte natural comercial (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* e *Streptococcus thermophilus*) e 1 litro de leite de vaca integral UHT. A formulação foi incubada a 40 °C em iogurteira comercial (FunKitchen®) até atingir pH entre 4,5 - 4,6 e, após o término do processo, o iogurte foi resfriado por 12 horas até chegar a temperatura de 4 °C. Posteriormente, quando o iogurte atingiu a temperatura adequada foram adicionados:

- Xilitol (4,6%) - (tratamento I);
- Xilitol (4,6%) e *L. lactis* R7 (12 log UFC g⁻¹) na concentração 0,1% (tratamento IP);
- Xilitol (4,6%) com extrato de araçá vermelho AC87 (4%) (tratamento IA);

- Xilitol (4,6%) com *L. lactis* R7 (12 log UFC g⁻¹) na concentração 0,1% e extrato de araçá vermelho AC87 (4%) (tratamento IPA), sob homogeneização moderada.

Os percentuais de adição do extrato de araçá foram determinados sensorialmente.

4.4. Experimento *in vivo*

Foram utilizados modelos biológicos de camundongos C57BL/6 machos e fêmeas, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Pelotas. Foram utilizados setenta e dois (n=72) animais, com 60 dias de idade, mantidos em gaiolas de polipropileno com grades de aço galvanizados com separadores em aço inox (3 animais/ gaiola), em ambiente com controle de temperatura (23 ± 2 °C) e luz (12:12 horas ciclo escuro/claro). Os animais permaneceram em adaptação ao ambiente do laboratório e ao controle do consumo da dieta padrão (Nuvilab®) e água *ad libitum* por uma semana.

Grupos/tratamentos: Os animais foram divididos em dois grupos, saudáveis e induzidos ao DM2, os quais são compostos por trinta e seis (n=36) animais cada, sendo dezoito (n=18) fêmeas e dezoito (n=18) machos em ambos os grupos, totalizando 72 animais, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Ensaio *in vivo* com administração de diferentes tratamentos.

Grupos	Tratamento
Animais saudáveis	1 – Controle (soro fisiológico) (C)
	2 - logurte (I)
	3 - logurte + Probiótico (IP)
	4- logurte + Araçá vermelho (IA)
	5 – logurte + Probiótico + Araçá (IPA)
Animais induzidos ao DM2	1 – Controle (soro fisiológico) (C)
	2 - logurte (I)
	3 - logurte + Probiótico (IP)
	4- logurte + Araçá vermelho (IA)
	5 – logurte + Probiótico + Araçá (IPA)

Indução ao diabetes/tratamento: O diabetes *mellitus* tipo 2 foi induzido através da administração de uma dieta hipercalórica ao longo de 10 meses. A dieta tinha a seguinte composição: 25% ração padrão, 23% amido de milho, 34% leite condensado, 8% açúcar e 10% gordura (óleo de soja e banha suína). Além disso, foi administrada uma injeção intraperitoneal de estreptozotocina (STZ) da Sigma-Aldrich, St. Louis, Mo., EUA (150 mg/kg de peso, dividido em duas doses). Esses procedimentos foram realizados nos grupos de animais induzidos ao DM2 (C; I; IP; IA e IPA), e esses grupos foram comparados aos grupos controle correspondentes (C; I; IP; IA e IPA).

Após a indução e o desenvolvimento do diabetes, os tratamentos foram iniciados. Eles foram administrados por gavagem, com uma dosagem de 1 mL para cada 100 g de peso corporal, diariamente por 30 dias. Essa dosagem foi calculada com base na média de pesos dos machos e fêmeas antes do início do tratamento, que era aproximadamente 30 g. Embora o volume a ser administrado fosse de 300 µl, foi administrado um volume menor (100 µl), mantendo a concentração dos componentes adicionados.

Durante o período de tratamento, os animais continuaram recebendo a dieta hipercalórica.

4.5. Peso corporal e consumo alimentar durante a indução e tratamento

O peso corporal dos animais e o consumo alimentar foram monitorados mensalmente. As medições individuais de peso foram realizadas usando uma balança digital. Para avaliar o consumo alimentar, foi fornecido um total de 150 gramas de ração comercial por gaiola a cada semana para o grupo saudável. Para o grupo induzido ao DM2, foi fornecida uma média de 90 gramas de dieta hipercalórica por gaiola, também semanalmente. O consumo alimentar foi calculado subtraindo a quantidade de ração restante na gaiola após o período de fornecimento.

Em seguida, os dados de consumo de cada gaiola foram agrupados com base nos seus respectivos grupos (fêmeas saudáveis, machos saudáveis, fêmeas induzidas ao DM2 e machos induzidos ao DM2) para analisar as tendências de consumo ao longo dos dias.

4.6. Eutanásia

Anterior a eutanásia os animais foram submetidos a um jejum de 4 horas e, posteriormente, sedados com isoflurano (Isoforine®, Cristália, Itapira – SP, Brasil) e eutanasiados por punção cardíaca, seguindo os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA, 2004).

O manuseio dos animais e os procedimentos experimentais foram realizados de acordo com a Legislação Brasileira (LEI Nº 11.794 de 8 de outubro de 2008), seguindo as normas do Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (CONCEA). Para a realização desta pesquisa, foi utilizado o menor número possível de animais, assim como métodos que diminuam o desconforto destes. Este projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética e Experimentação Animal (CEEA) sob o número 18783-2020 da Universidade Federal de Pelotas.

Após a eutanásia foram coletados o sangue dos camundongos para análises bioquímicas e hematológicas. Ademais, os órgãos como o fígado, coração, rim e gordura total foram excisados e pesados individualmente para serem utilizados em análises complementares e/ou projetos futuros. Estes foram pesados e imediatamente armazenados a -80 °C em ultra freezer até o momento das análises. Estes procedimentos foram realizados com auxílio de uma Médica Veterinária com conhecimento específico sobre as técnicas.

4.7. Análise hematológica

Os parâmetros hematológicos dos camundongos foram avaliados após punção cardíaca e coleta do sangue total em tubos contendo EDTA (Vacutainer®). As determinações foram realizadas de forma automatizada utilizando o equipamento KX21 (Sysmex). Os leucócitos totais (WBC), eritrócitos totais (RBC), hemoglobina (HBG), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (MCH) e plaquetas foram determinados e utilizados nesse estudo.

4.8. Perfil bioquímico

O sangue total dos camundongos foi coletado por punção cardíaca e transferido para tubos Vacutainer® (BD Diagnostics, Plymouth, UK) contendo EDTA (ácido etilenodiamina tetra-acético). Após, os tubos foram centrifugados a 2500 rpm por 15 minutos. O plasma foi separado e utilizado na avaliação dos parâmetros bioquímicos utilizando kits comerciais da marca Labtest (Minas Gerais, Brazil), no analisador automático Cobas MIRA® (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland).

4.9. PCR Quantitativo em tempo real (qRT-PCR)

O mRNA total foi extraído do fígado usando TRIzol reagente (Invitrogen™, Carlsbad, EUA) e quantificado por Nanovue Plus Spectrophotometer™ (GE®). A síntese de cDNA foi realizada usando o kit HighCapacityDNA Reverse Transcription (Applied Biosystems™, Reino Unido) de acordo com o protocolo do fabricante. As reações de PCR em tempo real foram executadas em um sistema de PCR em tempo real Stratagene Mx3005P (Agilent Technologies, Santa Clara, CA, EUA) usando SYBR Green PCR Master Mix (Applied Biosystems, Reino Unido). Os primers utilizados foram: Interleucina 1-beta (IL-1 β), receptor ativado por proliferador de peroxissoma (PPAR- γ 1), interleucina-10 (IL-10), interleucina-6 (IL-6), fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α), leptina e gene associado à massa gorda e obesidade (FTO). A expressão gênica foi normalizada usando β -actina (ACTB) como gene de referência.

4.10. Análise estatística

Para análise estatística foi utilizada análise de variância (two-way ANOVA) com auxílio do Software GraphPad Prism 6 para Windows para comparação entre os diversos parâmetros avaliados no experimento. Considerando diferença significativa para ANOVA, foi utilizado o Teste Tukey para verificar se os grupos diferiam entre si.

5. Resultados e discussão

5.1. Peso corporal e consumo alimentar

O peso corporal, assim como, o ganho de peso final está disposto na figura 1. Foi observado que todos os grupos (camundongos saudáveis e induzidos ao DM2) demonstraram ganho de peso significativo ($p < 0.0001$) ao

longo dos 10 meses do experimento. As fêmeas apresentavam peso inicial menor em relação aos machos, o que resultou em uma diferença significativa entre os sexos. No entanto, após esse período inicial, a evolução do peso ao longo do tempo se manteve semelhante entre machos e fêmeas.

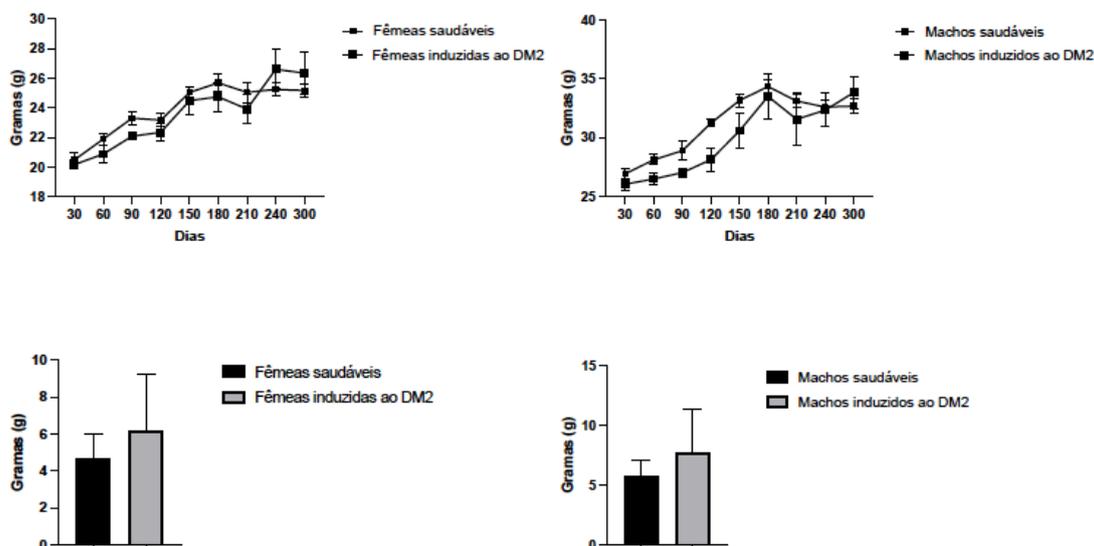


Figura 1. Peso corporal e ganho de peso final dos animais saudáveis e induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2 ao longo dos 300 dias (10 meses). Valores expressos em média \pm desvio padrão.

Em relação ao ganho de peso final, os camundongos fêmeas saudáveis apresentaram peso inicial médio de $20,48 \pm 1,33$ e peso final de $25,16 \pm 1,67$, evidenciando um ganho médio de 4,68 g. Já os camundongos fêmeas induzidos ao DM2 tinham peso médio de $20,16 \pm 0,94$ inicialmente e, ao longo do experimento, apresentaram um aumento médio de aproximadamente 6,17 g.

Quanto aos camundongos machos, os animais saudáveis tiveram peso inicial médio de $26,92 \pm 1,48$, que aumentou para 32,66 g ao final do experimento, representando um ganho médio de peso de 5,74 g. Por outro lado, os animais machos induzidos ao DM2 tiveram peso inicial médio de $26,04 \pm 1,24$ e peso final de $33,83 \pm 1,17$, evidenciando um aumento médio de peso de 7,79 g ao longo do experimento.

Apesar do ganho de peso, não foram observadas diferenças significativas entre o grupo saudável e o grupo induzido ao DM2, tanto nas fêmeas quanto nos

machos. Isso reforça que a dieta hipercalórica administrada ao grupo de indução não resultou em ganho de peso adicional significativo em relação aos grupos saudáveis.

Por outro lado, um estudo anterior relatou resultados significativos no ganho de peso final entre os grupos submetidos à dieta comercial e dieta hiperlipídica em camundongos C57bl/6 machos. Os animais que foram submetidos à dieta comercial possuíam peso inicial de $24,67 \pm 0,47$ g e ao final de 12 semanas possuíam peso final de $29,44 \pm 0,65$, evidenciando um ganho de peso de $4,78 \pm 0,32$. Já para os animais que foram submetidos à dieta hiperlipídica, possuíam peso inicial de $24,60 \pm 0,99$ g e peso final de $38,20 \pm 1,74$, representando um ganho de peso de $12,22 \pm 1,04$. Ao realizar a comparação do total de ganho de peso de ambos os grupos, verificou-se aumento significativo no grupo submetido à dieta hiperlipídica ($p=0.001$) (PEREIRA et al., 2018).

Em relação ao consumo alimentar expresso pela figura 2, somente as fêmeas, tanto as saudáveis ($p < 0,01$) quanto as induzidas ao DM2 ($p < 0,001$), apresentaram consumo significativo ao longo do experimento. Embora as fêmeas tenham demonstrado maior consumo alimentar e ganho de peso significativo, é importante ressaltar que não foram identificadas diferenças significativas no ganho de peso final entre o grupo saudável e o grupo induzido ao DM2, tanto nas fêmeas quanto nos machos.

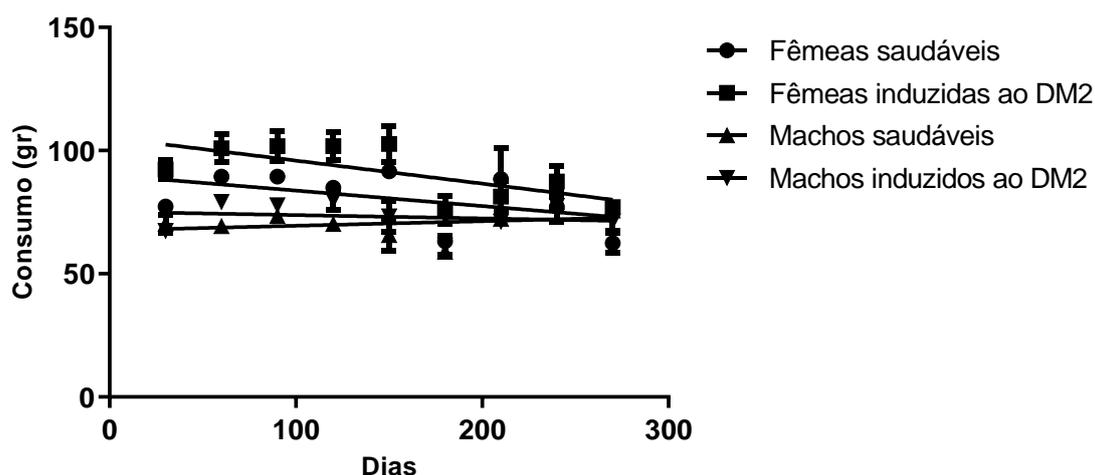


Figura 2. Consumo alimentar dos animais saudáveis e induzidos ao diabetes *mellitus* tipo 2 ao longo dos 300 dias (10 meses).

O padrão predominante de consumo observado entre as fêmeas neste estudo não parece ser replicado em outra pesquisa que envolveu uma dieta hiperlipídica. Camundongos C57BL/6J de ambos os sexos passaram por avaliação dos efeitos de diferentes dietas ao longo do tempo. Eles foram monitorados a partir das 8 semanas de idade até as 43 semanas, enquanto eram submetidos a duas dietas distintas: uma com baixo teor de gordura (LFD, com 10% das calorias provenientes de gordura) e outra com alta concentração de gordura (HFD, com 45% das calorias provenientes de gordura). No grupo HFD, observou-se que os machos apresentaram um consumo de energia significativamente maior do que as fêmeas ($p < 0,0001$ para todas as semanas). Por outro lado, no grupo LFD, não foi identificada diferença significativa até a semana 43 (p até = 0,0103) (YANG et al., 2014).

Neste estudo, a maior concentração de calorias provém de carboidratos. É conhecido que tanto um maior teor de carboidratos quanto uma maior concentração de lipídios resultam em dietas hipercalóricas, levando a um aumento significativo na ingestão de energia. Essas dietas, chamadas de obesogênicas, induzem à hiperfagia, ao acúmulo de gordura visceral e à resistência à insulina (CASTRO et al., 2018).

5.2. Parâmetros bioquímicos

Os parâmetros bioquímicos estão expressos na tabela 2. A glicemia de jejum aumentou no grupo controle dos induzidos ao DM2, porém apesar disso, a indução não foi eficiente para alcançar os níveis desejados para caracterizar DM2, já que em estudos anteriores os autores consideram como camundongo diabético a apresentação de níveis glicêmicos ≥ 300 mg/dL (SPILLER, 2012; BELLA, 2017). As medições de glicemia plasmática obtidas neste estudo nos grupos de controle para os camundongos induzidos foram de $94,8 \pm 2,00$ para as fêmeas e $97,4 \pm 0,84$ para os machos. Apesar desses valores, os resultados indicam um potencial benéfico dos tratamentos para controlar a glicemia.

Machos e fêmeas induzidos ao DM2 apresentaram uma redução na glicemia após receberem os tratamentos, em comparação com seus respectivos controles. Notaram-se reduções especialmente pronunciadas no tratamento com IP, alcançando 35.38% para machos e 35.83% para fêmeas.

De modo semelhante, alguns estudos demonstraram potencial antihiperlipidêmico, onde a ingestão de iogurte contendo *Lactobacillus plantarum* OLL2712 por 12 semanas reduziu os níveis de hemoglobina glicada em adultos pré-diabéticos (TOSHIMITSU, 2020). Além disso, o extrato de araçá vermelho, que é um componente das formulações IA e IPA neste estudo, também demonstrou a capacidade de reduzir os níveis de glicose *in vivo* (OLIVEIRA et al., 2018).

Tabela 2. Determinação dos parâmetros bioquímicos realizados em todos os animais do experimento após 30 dias de tratamento.

	Fêmeas saudáveis					Fêmeas induzidas ao DM2				
	Controle	I	IP	IA	IPA	Controle	I	IP	IA	IPA
Glicose (mg. dL ⁻¹)	77,0±4,24 ^{a*}	71,2±1,69 ^b	76,8±2,54 ^{a*}	66,1±2,40 ^b	62,7±3,25 ^{b*}	94,8±2,00 ^a	80,3±1,34 ^b	60,9±1,55 ^c	65,1±1,55 ^{bc}	72,3±1,55 ^b
ALT* (U.L ⁻¹)	27,0±1,41 ^{c*}	49,0±2,79 ^{b*}	45,5±2,12 ^{b*}	76,0±4,24 ^{a*}	21,0±2,86 ^{c*}	109,0±2,80 ^a	93,5±3,53 ^b	26,5±3,53 ^c	113,0±4,24 ^a	92,0±2,82 ^b
AST (U.L ⁻¹)	143,0±4,24 ^c	106,0±2,54 ^d	103,0±1,41 ^d	178,0±2,82 ^b	214,0±5,65 ^a	151,9±1,55 ^b	164,2±3,88 ^b	185,0±2,47 ^a	187,3±3,74 ^a	127,6±3,32 ^c
Albumina (g.dL ⁻¹)	3,6±0,07 ^{a*}	3,1±0,22 ^{ab}	3,1±0,14 ^{ab}	3,7±0,10 ^{a*}	2,75±0,49 ^b	2,5±0,43 ^a	3,1±1,0 ^a	2,9±0,08 ^a	2,8±0,34 ^a	2,2±0,10 ^a
	Machos saudáveis					Machos induzidos ao DM2				
Glicose (mg. dL ⁻¹)	63,0±1,41 ^{b*}	74,0±3,95 ^a	61,4±2,26 ^b	63,2±2,54 ^b	73,4±1,97 ^a	97,4±0,84 ^a	69,6±2,33 ^c	63,0±1,76 ^c	70,5±1,20 ^{bc}	72,5±0,70 ^b
ALT (U.L ⁻¹)	65,0±1,41 ^c	122,5±2,12 ^{a*}	86,0±2,83 ^{b*}	50,0±1,41 ^{d*}	78,5±3,53 ^{b*}	71,0±1,41 ^b	86,0±2,80 ^a	44,5±2,12 ^d	38,5±0,70 ^d	55,5±2,12 ^c
AST (U.L ⁻¹)	166,5±4,95 ^{ab}	172,0±2,82 ^{a*}	21,5±0,70 ^{c*}	155,0±1,41 ^b	158,5±2,12 ^{b*}	212,1±2,68 ^a	117,5±3,53 ^d	141,5±2,12 ^c	156,5±4,94 ^b	128,0±2,89 ^d
Albumina (g.dL ⁻¹)	2,5±0,14 ^{bc}	3,15±0,70 ^{a*}	2,3±0,03 ^c	3,1±0,10 ^{ab}	2,8±0,11 ^{b*}	2,8±0,8 ^a	2,1±0,17 ^b	2,2±0,16 ^b	2,8±0,11 ^a	2,2±0,13 ^b

*ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase.

I: iogurte; IP: iogurte probiótico; IA: iogurte com araçá; IPA: iogurte probiótico suplementado com extrato de araçá vermelho.

Letras iguais na linha para cada grupo, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

*Diferença significativa comparando o mesmo tratamento entre os grupos saudáveis e induzidos ao DM2.

A avaliação das enzimas hepáticas ALT e AST é essencial para rastrear a possível presença de DHGNA. Essa doença é altamente prevalente na obesidade e no DM2, sendo caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura nos hepatócitos (VAN GAAL, 2006) e, conseqüente, elevação das enzimas hepáticas (CAXAMBÚ, 2015). Em indivíduos adultos, acredita-se que a resistência insulínica leva a esteatose hepática por aumento da lipólise no tecido gorduroso e muscular, aumentando assim o fluxo de ácidos graxos livres para o fígado através da veia porta, que serão armazenados na forma de triglicerídeos (FISHBEIN, 2006).

Em relação ao grupo de fêmeas induzidas ao DM2, identificou-se uma notável tendência de redução nos níveis de ALT após alguns tratamentos. Os resultados indicam que os tratamentos com os compostos I, IP e IPA foram eficazes em reduzir significativamente os níveis de ALT em comparação com o controle do mesmo grupo. As reduções percentuais foram particularmente notáveis com o tratamento IP apresentando uma redução substancial de 75,23%.

No caso dos machos induzidos ao DM2, observou-se reduções significativas nos níveis de ALT com os tratamentos IP, IA e IPA. O tratamento IA obteve a redução mais expressiva, alcançando uma diminuição de 45,07% nos níveis de ALT. Esses achados sugerem que os tratamentos com adição de ativos, como o probiótico e o extrato de araquá, especialmente quando administrados isoladamente, foram mais eficazes ao reduzir os níveis de ALT tanto nos machos quanto nas fêmeas induzidas. Por outro lado, a combinação dos dois ativos também resultou em reduções significativas, porém menos acentuadas em relação aos tratamentos isolados.

A maior eficácia observada com o tratamento IA em machos induzidos contrasta com um estudo prévio realizado com ratos machos *Wistar* alimentados com uma dieta altamente palatável. Nesse estudo anterior, a administração de extrato de araquá vermelho não teve efeito na redução da ALT (OLIVEIRA et al., 2018).

Além disso, nas fêmeas induzidas, foram observadas reduções significativas nos níveis de ALT com o tratamento IP, resultando em uma diminuição de 41,76% em relação ao grupo de fêmeas saudáveis. Nos machos, todos os tratamentos conduziram a reduções nos níveis de ALT no grupo

induzido em comparação com o grupo de machos saudáveis. Entre os tratamentos, o IP se destacou ao proporcionar a maior redução, atingindo 48.84%.

Houve aumento significativo (75,23%) na atividade da enzima ALT no grupo de fêmeas induzidas do grupo controle em comparação com as fêmeas saudáveis. No entanto, determinados tratamentos, em especial o IP, demonstraram ser altamente eficazes na redução dessa enzima. As enzimas ALT e AST avaliam a função hepática. A rápida elevação da ALT indica lesão hepática, e quando associada a um aumento na concentração de AST, indica um dano profundo dos hepatócitos (SILVA-SANTANA, 2020). O rastreamento para disfunções hepáticas, como uma deposição de triglicerídeos nos hepatócitos, pode ser realizada a partir destas enzimas, sendo a ALT o marcador mais específico na disfunção hepática comparado à AST (CAXAMBÚ, 2015).

No que diz respeito à enzima AST, observou-se uma resposta mais significativa aos tratamentos em machos induzidos ao DM2, com reduções notáveis em todos os tratamentos em comparação ao grupo de controle. Especificamente, o tratamento I resultou em uma redução de 44,61%, seguido pelo tratamento com IPA, que apresentou uma redução de 39,69%. Ao comparar os machos induzidos ao DM2 com os machos saudáveis, notamos que os primeiros apresentaram reduções nos níveis de AST nos tratamentos com I e IPA, com reduções de 32,27% e 19,23%, respectivamente.

Em relação a albumina sérica, os baixos níveis podem estar associados à redução no consumo de proteínas e calorias. Além disso, essa condição pode estar relacionada ao aumento da excreção urinária de albumina, a qual se associa a um maior risco de insuficiência renal terminal, independentemente de fatores como a relação albumina-creatinina, taxa de filtração glomerular e outros riscos à saúde (WALTHER, 2018). A doença renal diabética, uma das complicações mais comuns do diabetes, ocorre devido ao metabolismo anormal da glicose (DAI, 2022). É válido mencionar que, no presente estudo, não foram coletadas amostras urinárias para determinar uma possível ligação com a hipótese mencionada.

Neste estudo, observou-se predominantemente reduções nos níveis séricos de albumina com diferentes tratamentos, com exceção do aumento nos

níveis de albumina sérica nos tratamentos com I e IA, que apresentaram acréscimos de 26,00% e 24,00%, respectivamente, em machos saudáveis.

Nos machos induzidos, os tratamentos (I, IP e IPA) resultaram em níveis de albumina abaixo do valor de referência para machos, estabelecido em $2,35 \pm 0,12$. Ao comparar machos saudáveis com machos induzidos, notou-se reduções nos níveis de albumina nos tratamentos I e IPA em machos induzidos. Em relação às fêmeas saudáveis, observou-se níveis reduzidos com o tratamento IPA, e ao comparar o grupo de fêmeas saudáveis com o grupo de fêmeas induzidas, o tratamento IA reduziu os níveis de albumina nas fêmeas induzidas. No entanto, essas reduções ainda permanecem acima da média proposta por Silva-Santana et al. (2020), onde as fêmeas apresentaram um nível sérico de albumina de $2,10 \pm 0,47$.

A albumina sérica não apenas avalia a saúde renal, mas também é considerada uma proteína de fase aguda negativa. Suas concentrações diminuem em resposta a processos inflamatórios, o que pode estar relacionado com os resultados observados (MAGGIORE, 2005).

5.3. Parâmetros hematológicos

O aumento do índice de massa corporal (IMC) possui relação com menores concentrações de ferro sérico (PURDY, 2021). A associação entre obesidade, deficiência de ferro e contagem de glóbulos vermelhos pode estar presente, mas permanece incerta em relação ao seu mecanismo. O mecanismo mais aceito, indica que o estado inflamatório crônico associado a obesidade é responsável por causar o aumento sérico da hepcidina o que resulta na redução da absorção do ferro na dieta. A hepcidina é um hormônio peptídico produzido em grande parte pelo fígado, que controla a atividade da ferroportina-1, um exportador de ferro. O aumento dos níveis séricos de hepcidina resulta na redução da absorção de ferro por meio da regulação negativa do exportador e do aumento do sequestro de ferro nos enterócitos, hepatócitos e macrófagos que armazenam ferro, levando à redução da biodisponibilidade do ferro (PURDY, 2021). No geral, poucas alterações foram observadas nos diferentes grupos.

Tabela 3. Hemograma comparando o efeito do tratamento com iogurte, iogurte+araçá, iogurte+probiótico, iogurte+probiótico+araçá e controle em grupos de camundongos saudáveis e induzidos ao diabetes tipo 2 após 30 dias de tratamento.

	Fêmeas Saudáveis					Fêmeas induzidas ao DM2				
	Controle	I*	IP	IA	IPA	Controle	I	IP	IA	IPA
RBC** (x10⁶/μL)	6,62±1,78 ^b	8,23±0,69 ^{ab}	7,67±0,62 ^{ab}	10±0,21 ^a	8,23±0,40 ^{ab}	6,62±2,73 ^a	7,9±0,97 ^a	6,4±1,95 ^a	8,7±0,14 ^a	8,1±0,02 ^a
HBG (g/dL)	10,4±2,1 ^b	12,9±0,35 ^{ab}	11,5±1,04 ^b	14,9±0,91 ^a	12±0,32 ^{ab}	12,7±1,13 ^a	11,4±1,41 ^a	10,5±2,15 ^a	11,3±2,05 ^a	11,8±0,07 ^a
HCT (%)	33,6±8,06 ^a	41±3,11 ^a	37,7±3,34 ^a	49±4,24 ^a	40,23±1,59 ^a	42,5±1,97 ^a	37,9±4,87 ^a	31,9±8,59 ^a	34,8±8,33 ^a	39,3±1,27 ^a
MCV (fL)	51±1,55 ^a	49,8±0,45 ^a	49,2±0,52 ^a	49,7±0,42 ^a	48,9±0,79 ^a	50,8±3,95 ^a	47,8±0,49 ^a	50,4±2,83 ^a	49,5±1,87 ^a	48,4±1,69 ^a
MCH (pg)	15,8±1,15 ^{a*}	15,76±0,92 ^a	15±0,54 ^a	15,05±0,07 ^a	14,6±0,35 ^a	20,6±6,78 ^a	14,3±0,14 ^b	16,9±2,10 ^{ab}	16,2±0,40 ^{ab}	14,6±0,14 ^{ab}
MCHC (g/dL)	31,1±1,89 ^a	31,6±1,58 ^a	30,4±0,90 ^a	30,2±0,35 ^a	30±0,40 ^a	29,9±4,03 ^a	30,5±0,07 ^a	33,4±2,86 ^a	32,9±2,00 ^a	30,1±0,77 ^a
PLT (x10⁶/μL)	950±59 ^b	1231±132 ^{ab}	1439±366 ^{ab}	705±49 ^b	1613±167 ^{a*}	925±35,3 ^a	1067±373 ^a	1265±443 ^a	1457±284 ^a	760±222 ^a
	Machos Saudáveis					Machos induzidos ao DM2				
RBC (x10⁶/μL)	8,54±0,14 ^a	8,19±0,07 ^a	6,97±2,07 ^a	8,23±0,37 ^a	7,91±0,77 ^a	7,10±1,43 ^a	8,55±0,21 ^a	7,93±0,86 ^a	8,47±0,09 ^a	6,65±1,33 ^a
HBG (g/dL)	12,8±0,25 ^a	12,4±0,15 ^a	12,4±0,55 ^a	12,2±0,23 ^a	12,45±0,12 ^a	11,6±0,84 ^a	12,5±0,07 ^a	12,0±0,77 ^a	12,4±0,36 ^a	10,9±0,83 ^a
HCT (%)	42,7±0,80 ^a	40,6±0,50 ^a	42±1,01 ^a	40,8±1,8 ^a	38,8±3,34 ^a	36,7±5,79 ^a	41,95±0,30 ^a	39,9±2,82 ^a	41,3±0,85 ^a	35,7±3,67 ^a
MCV (fL)	49,9±0,15 ^a	49,6±0,75 ^a	51,9±2,18 ^a	49,5±0,1 ^a	49,4±1,03 ^a	48,8±4,39 ^a	48,7±0,81 ^a	50,4±1,90 ^a	48,8±0,60 ^a	51,6±5,58 ^a
MCH (pg)	15,0±0,05 ^a	15,1±0,29 ^a	18,9±5,91 ^a	14,8±0,47 ^a	15,7±1,67 ^a	14,3±3,45 ^a	14,5±0,40 ^a	15,1±0,77 ^a	14,6±0,30 ^a	15,6±2,15 ^a
MCHC (g/dL)	30,1±0,10 ^a	30,4±0,39 ^a	29,5±2,01 ^a	30±0,88 ^a	31,9±2,59 ^a	28,7±4,78 ^a	29,7±0,32 ^a	30±0,35 ^a	29,9±0,32 ^a	30,3±0,86 ^a
PLT (x10⁶/μL)	900±40 ^{ab}	1785±162 ^{ab}	1006±291 ^{ab}	750±56 ^b	1933±46 ^a	1144±38 ^a	1056±205 ^a	1771±41 ^a	1490,5±538 ^a	1404±590 ^a

*I: iogurte; IP: iogurte probiótico; IA: iogurte com araçá; IPA: iogurte probiótico suplementado com extrato de araçá vermelho. **Eritrócitos totais (RBC), hemoglobina (HBG), hematócrito (HCT), volume corpuscular médio (MCV), hemoglobina corpuscular média (MCH), concentração de hemoglobina corpuscular média (MCHC) e plaquetas (PLT). Letras iguais na linha para cada grupo, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$). *Diferença significativa comparando o mesmo tratamento entre os grupos saudáveis e induzidos ao DM2.

Os níveis de eritrócitos (RBC) e hemoglobina (HBG) apresentaram aumento significativo no tratamento IA do grupo de fêmeas saudáveis, em comparação com o controle do mesmo grupo. Esses achados sugerem um efeito benéfico do tratamento IA nos parâmetros hematológicos analisados.

Os níveis de hemoglobina corpuscular média (MCH) não apresentaram variações significativas em machos e fêmeas saudáveis, assim como nos machos induzidos, porém, em fêmeas induzidas o tratamento I resultou em níveis menores de MCH em relação ao controle do mesmo grupo. Vale destacar que, quando comparadas com o grupo de fêmeas saudáveis e os valores de referência de Silva-Santana et al. (2020), os valores de MCH encontram-se dentro da normalidade para as fêmeas ($14,10 \pm 2,56$).

No que diz respeito às plaquetas (PLT), observou-se um aumento significativo no tratamento IPA em ambos os grupos de fêmeas e machos saudáveis. No entanto, no grupo dos induzidos ao DM2, não foram identificadas diferenças significativas entre os tratamentos e os grupos de controle. Em comparação, as fêmeas induzidas tiveram uma redução nos níveis de plaquetas no tratamento com IPA em relação às fêmeas saudáveis de aproximadamente 52,83%. Embora a obesidade esteja associada ao aumento da contagem de plaquetas devido à influência da IL-6 e outras interleucinas na produção de trombopoietina, hormônio que estimula a produção de plaquetas, esses resultados não revelaram diferenças significativas entre os grupos saudáveis e induzidos em relação ao aumento de plaquetas nos grupos de controle, tanto em machos quanto em fêmeas (PURDY, 2021).

Para concluir, a análise dos resultados sugere que o tratamento IA pode ter efeito benéfico no aumento dos eritrócitos e hemoglobina, enquanto o tratamento IPA pode ter efeitos benéficos na redução de plaquetas. Além disso, embora tenha sido observada uma redução nos níveis de MCH em um dos tratamentos, a ausência de variações significativas em outros parâmetros pode indicar uma resposta estável aos tratamentos nos grupos estudados. Esses achados destacam a importância dos tratamentos, tanto de forma isolada com IA, quanto em combinação com IPA, na possível melhoria da saúde hematológica. No entanto, para uma conclusão mais robusta sobre a eficácia dos tratamentos, são necessários estudos adicionais que possam avaliar

possíveis benefícios a longo prazo e compreender mais profundamente as interações entre os tratamentos e os parâmetros hematológicos.

5.4. Expressão gênica de adipocinas no fígado

Na obesidade, a via pró-inflamatória dos macrófagos é altamente ativada, conduzindo a produção de adipocinas. Estas, podem agir de forma parácrina ou endócrina, atuando em outros órgãos como: fígado e músculo esquelético (LEFRANC, 2018).

Os resultados obtidos da expressão gênica de adipocinas estão descritos na figura 3. Observou-se que fêmeas e machos induzidos ao DM2 não demonstraram diferença significativa entre os tratamentos e o controle do mesmo grupo. Esse resultado pode indicar que no grupo de induzidos os tratamentos não foram efetivos. Nos animais saudáveis observou-se aumento na expressão das adipocinas IL-1 β em machos e fêmeas, e IL-6 e TNF- α em fêmeas.

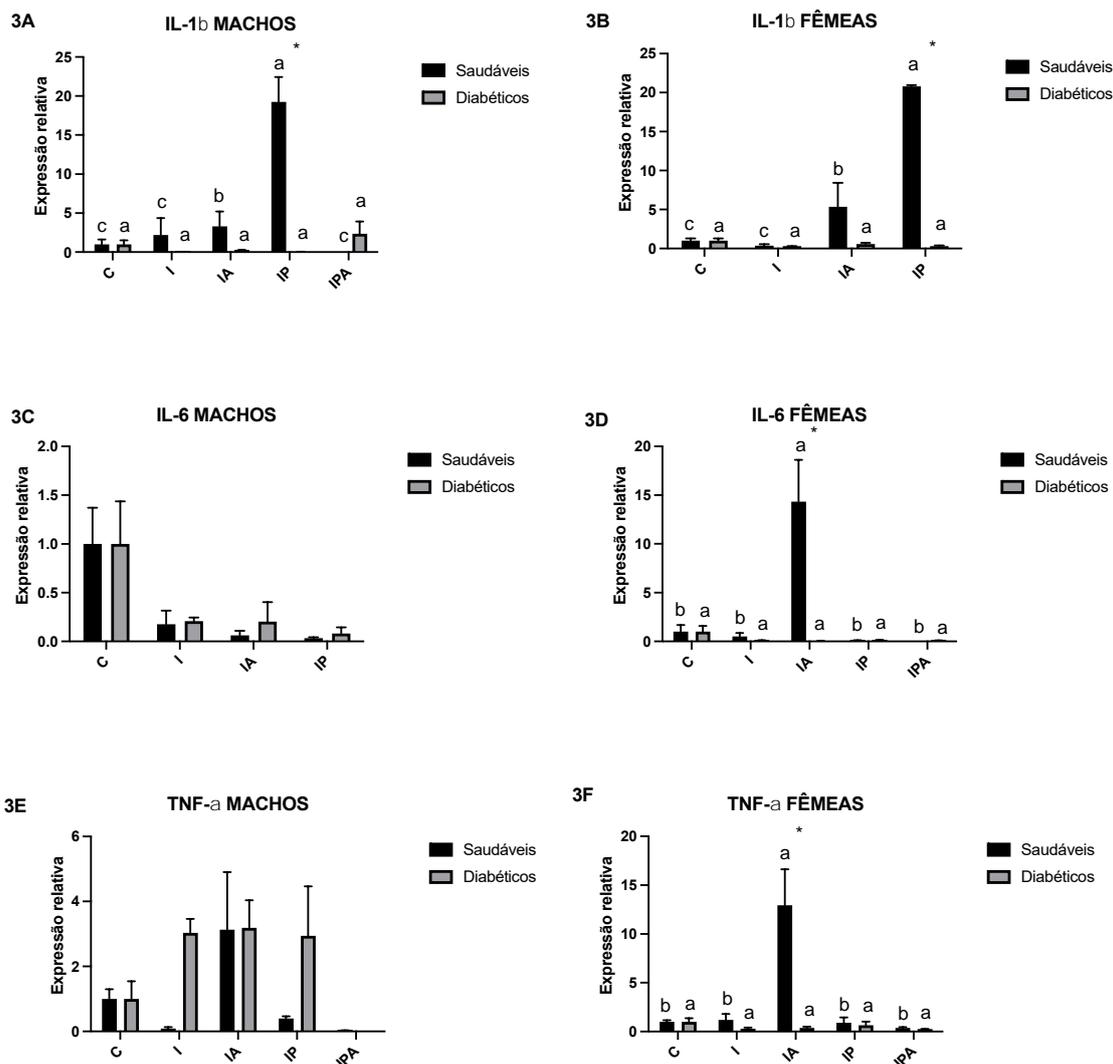


Figura 3. Expressão de genes pró-inflamatórios (IL-1 β ; IL-6; TNF- α).

IL-1 β machos (A); IL-1 β fêmeas (B); IL-6 machos (C); IL-6 fêmeas (D); TNF- α machos (E); TNF- α fêmeas (F).

I: iogurte; IP: iogurte probiótico; IA: iogurte com araquá; IPA: iogurte probiótico suplementado com extrato de araquá vermelho.

*Tratamento apresenta diferença significativa entre os grupos saudável e diabético ($p < 0.05$).

Letras minúsculas iguais ou ausentes não diferem entre si, para o fator tratamento, dentro de cada grupo (saudável e diabético) pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

Em relação a IL-1 β , nos machos saudáveis observou-se aumento na expressão dessa citocina no tratamento com IP. Estudo anterior, concluiu que a IL-1 β prejudica a sinalização da insulina nos tecidos periféricos e reduz a sensibilidade à insulina e a secreção nas células β (LI, 2022). Ao realizar a avaliação entre os grupos, ou seja, saudáveis e induzidos, observou-se que houve redução significativa na expressão deste mesmo tratamento (IP) nos machos induzidos em comparação aos saudáveis. Nas fêmeas saudáveis a

expressão do gene IL-1 β foram elevados no tratamento com IP. Expressão reduzida deste gene (IL-1 β) foi observada no grupo induzido após o tratamento com IP.

Ao avaliar IL-6 observou-se aumento da expressão em fêmeas saudáveis no tratamento com IA. Expressão reduzida foi observada em fêmeas induzidas, no tratamento com IA em comparação com as saudáveis. Em machos saudáveis não houve diferença significativa entre os tratamentos e entre os grupos.

Quanto ao TNF- α verificou-se aumento da expressão nas fêmeas saudáveis após tratamento com IA, e redução no grupo induzido. A administração de extrato de jaboticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) rico em compostos fenólicos dentre estes, o ácido elágico, substância que também é encontrada no araçá vermelho, promoveu redução de TNF- α tanto no tecido adiposo epididimal quanto no tecido hepático de camundongos C57BL/6 (CUNHA, 2016). Em machos saudáveis não houve diferença significativa na expressão entre os tratamentos e entre os grupos.

Portanto, a redução na expressão de IL-1 β , IL-6 e TNF- α no grupo induzido demonstrou ser benéfica, visto que, além de melhorar a inflamação hepática podem contribuir para a homeostase da glicemia.

Ao analisar a expressão das adipocinas PPAR- γ 1 e IL-10 (figura 4), não foi observada diferença significativa entre os tratamentos e controle, em ambos os grupos machos e fêmeas tanto saudáveis quanto os induzidos. Essas adipocinas possuem caráter anti-inflamatório e indicam que os tratamentos não influenciaram no aumento da expressão destes genes. De acordo com De Luca (2008); Leon-Cabrera (2015) e Li (2022A) a redução na expressão de IL-10 e PPAR- γ está correlacionada com resistência à insulina.

Ademais, os resultados para os genes leptina e FTO não foram expressos para as amostras e, portanto, não estão dispostos nos gráficos apresentados.

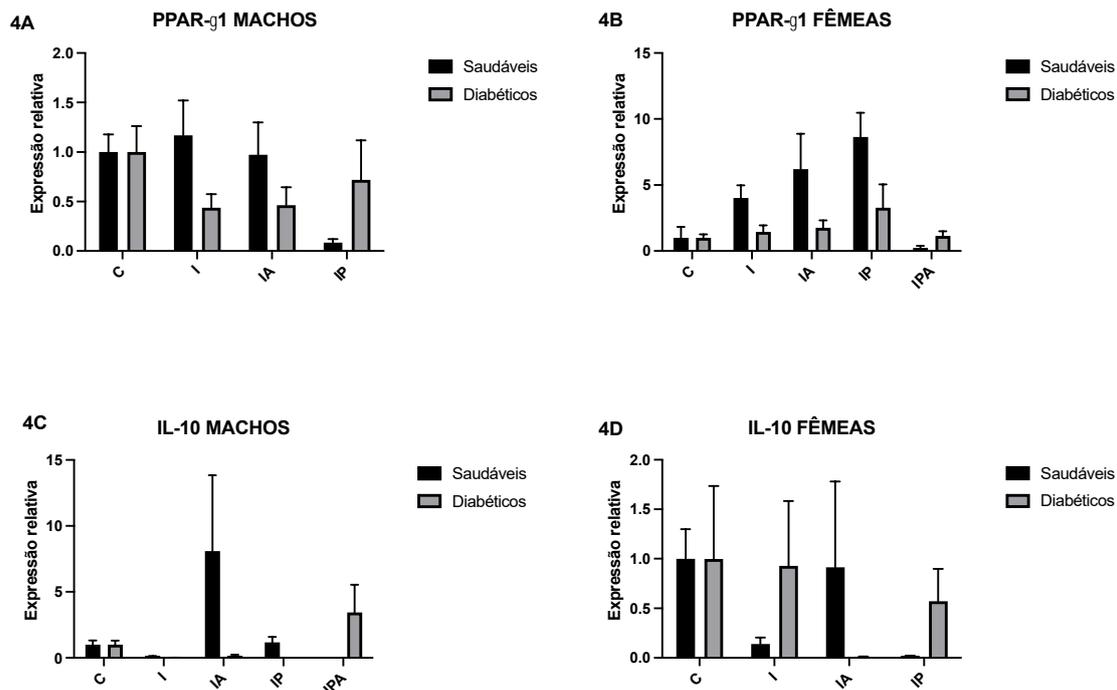


Figura 4. Expressão de genes relacionados a adipogênese.

PPAR- γ 1 machos (A); PPAR- γ 1 fêmeas (B); IL-10 machos (C); IL-10 fêmeas (D).

I: iogurte; IP: iogurte probiótico; IA: iogurte com araquá; IPA: iogurte probiótico suplementado com extrato de araquá vermelho.

Letras ausentes não diferem entre si, para o fator tratamento, dentro de cada grupo (saudável e diabético) pelo teste de Tukey ($p < 0,05$).

5.5. Parâmetros inflamatórios

A ferritina, contagem de leucócitos, proteína C reativa (PCR) e velocidade de hemossedimentação (VHS) são comumente utilizadas como marcadores de inflamação e infecção. Além desses, as proteínas séricas, incluindo as globulinas, também podem ser utilizadas como indicadores de processos inflamatórios (SILVA-SANTANA, 2020; PEREIRA, 2022). As proteínas totais, englobam todas as proteínas presentes no sangue, incluindo a albumina e globulinas (alfa, beta e gama). Tais proteínas desempenham diversas funções como a manutenção da pressão sanguínea, transporte de hormônios, minerais e lipídios (RESTEL,2012). As concentrações de proteínas totais podem aumentar em resposta a processos inflamatórios, assim como as globulinas, com especial ênfase no aumento da fração de α -globulina (SILVA, 2006; SILVA, 2008; SILVA-SANTANA, 2020;). Os parâmetros inflamatórios analisados neste estudo estão apresentados na Tabela 4.

Ao examinar as concentrações de proteínas totais e globulinas totais, notou-se reduções significativas em fêmeas saudáveis que receberam o tratamento IA. Especificamente, houve uma redução de 16,39% nos níveis de proteínas totais e de 42,08% nos níveis de globulinas totais em comparação com o grupo controle de cada um dos grupos.

No grupo de fêmeas induzidas, observou-se reduções igualmente significativas. Com o tratamento I, houve uma redução de 18,18% nas proteínas totais e uma notável redução de 50% nas globulinas totais em relação ao grupo controle. Além disso, o tratamento IPA resultou em uma redução de 12,73% nas concentrações de proteínas totais.

Comparando os dois grupos, as fêmeas induzidas apresentaram uma redução de aproximadamente 32,84% nas concentrações de proteínas totais em relação ao grupo saudável quando tratadas com I. Adicionalmente, o tratamento IPA resultou em uma redução de cerca de 17,24% em relação ao grupo saudável. É importante destacar que, ao analisar as globulinas totais, o tratamento I apresentou uma redução notável de cerca de 57,14% em relação ao grupo saudável.

Tabela 4. Determinação dos parâmetros inflamatórios realizados em todos os animais do experimento após 30 dias de tratamento.

	Fêmeas saudáveis					Fêmeas induzidas ao DM2			
	Controle	I	IP	IA	IPA	Controle	I	IP	IA
Proteínas totais (g.dL ⁻¹)	6,1±0,03 ^{b*}	6,7±0,02 ^{a*}	5,45±0,21 ^{bc*}	5,1±0,16 ^{c*}	5,8±0,06 ^{bc*}	5,5±1,0 ^b	4,5±0,12 ^c	6,24±0,19 ^a	5,6±0,12 ^b
Globulinas totais (g.dL ⁻¹)	2,4±0,03 ^a	3,5±0,20 ^{a*}	2,35±0,7 ^{a*}	1,39±0,26 ^{b*}	3,09±0,43 ^a	3,0±0,77 ^a	1,5±0,4 ^b	3,29±0,12 ^a	2,8±0,04 ^a
WBC* x10 ³ /μL)	12,1±0,96 ^a	10,0±2,83 ^a	8,4±2,28 ^{a*}	7±0,50 ^a	11,5±2,09 ^a	19±2,75 ^a	10,6±0,63 ^{ab}	15,6±1,86 ^{ab}	10,3±2,02 ^b
	Machos saudáveis					Machos induzidos ao DM2			
Proteínas totais (g.dL ⁻¹)	4,1±0,08 ^{b*}	5,6±0,07 ^{a*}	3,8±0,04 ^{c*}	5,8±0,05 ^{a*}	3,7±0,7 ^{c*}	5,6±0,78 ^a	4,48±0,11 ^b	4,9±0,02 ^a	4,8±0,09 ^{ab}
Globulinas totais (g.dL ⁻¹)	1,64±0,22 ^{b*}	2,5±0,14 ^a	1,51±0,01 ^{b*}	2,69±0,15 ^{a*}	0,88±0,16 ^{c*}	2,81±0,15 ^a	2,35±0,06 ^{ab}	2,78±0,12 ^{ab}	2,02±0,35 ^b
WBC x10 ³ /μL)	21,7±3,23 ^a	21±1,87 ^a	18,2±4,14 ^a	19±7,30 ^a	18,1±5,08 ^a	19,75±1,3 ^a	11,8±1,06 ^a	16,1±2,82 ^a	14,7±0,50 ^a

*WBC: Leucócitos totais.

Letras iguais na linha para cada grupo, não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

*Diferença significativa comparando o mesmo tratamento entre os grupos saudáveis e induzidos ao DM2.

Nos machos saudáveis submetidos a diferentes tratamentos, observaram-se reduções significativas nos níveis de proteínas totais e globulinas totais em comparação com os grupos de controle correspondentes. Com o tratamento IP, houve uma diminuição de aproximadamente 7,32% nas concentrações de proteínas totais em relação ao controle do mesmo grupo. Da mesma forma, o tratamento com IPA resultou em uma redução de cerca de 9,76% em relação ao controle do grupo saudável. Além disso, foi notada uma acentuada queda de aproximadamente 46,34% nos níveis de globulinas totais com o tratamento IPA em relação ao controle do mesmo grupo.

No grupo de machos induzidos, o tratamento I levou a uma redução de cerca de 20% nas concentrações de proteínas totais em comparação com o controle do mesmo grupo. O tratamento com IPA também apresentou uma redução significativa, aproximadamente 16,07%, em relação ao controle do grupo induzido. Em relação às globulinas totais, observou-se que o tratamento IA resultou em uma diminuição de aproximadamente 28,11% em relação ao controle do mesmo grupo.

Ao comparar os dois grupos (machos saudáveis e induzidos), foi evidenciado que os machos induzidos apresentaram uma redução de cerca de 20% nas concentrações de proteínas totais em relação ao grupo saudável quando tratados com I. O tratamento IA também demonstrou uma redução, aproximadamente 17,24%, em relação ao grupo saudável. Em relação às globulinas totais, notou-se que o tratamento com IA resultou em uma redução de cerca de 24,91% em relação ao grupo saudável.

Em resumo, os diferentes tratamentos (I, IP, IA e IPA) tiveram impactos variados nas concentrações de proteínas totais e globulinas totais em diferentes grupos de camundongos. O tratamento I foi mais eficaz na redução de proteínas e globulinas totais em fêmeas diabéticas, o tratamento IPA foi mais eficaz em reduzir as globulinas totais em machos saudáveis, enquanto o tratamento IA também teve impacto significativo em diferentes grupos tanto na redução de proteínas totais quanto de globulinas. Já o tratamento IP teve menor impacto em relação aos demais tratamentos.

Os leucócitos (WBC) desempenham um papel crucial em processos imunológicos e inflamatórios, sendo responsáveis por mediar as respostas imune inata e adaptativa (SILVA-SANTANA, 2020). No contexto deste estudo,

observou-se uma redução significativa de aproximadamente 45,79% nos níveis de leucócitos em fêmeas diabéticas quando comparadas ao grupo controle, após o tratamento com IA. Essa redução pode indicar um potencial benefício na redução da inflamação crônica.

6. Conclusões

A dieta hipercalórica administrada resultou em maior consumo por parte das fêmeas saudáveis e induzidas. No entanto, tanto as fêmeas quanto os machos induzidos não ganharam peso adicional significativo em relação aos grupos saudáveis.

Diante da análise dos parâmetros bioquímicos e inflamatórios, torna-se evidente que cada tratamento teve um impacto distinto e mais proeminente em determinados marcadores. O tratamento com IPA promoveu reduções notáveis em diversos parâmetros, com ênfase na significativa redução da enzima AST machos induzidos. Além disso, ao comparar os grupos saudáveis e induzidos, observou-se que esse tratamento reduziu os níveis de AST em machos induzidos. O tratamento IPA também diminuiu as plaquetas em fêmeas induzidas e as globulinas totais em machos saudáveis.

O tratamento IP merece destaque especial devido às reduções extremamente expressivas, superando 70%, na enzima ALT em fêmeas induzidas. Além disso, ao comparar os grupos saudáveis e induzidos, esse tratamento proporcionou uma notável redução nos níveis de ALT tanto em machos quanto em fêmeas induzidas. Além desses benefícios, o tratamento IP também se mostrou eficaz na redução da glicemia, tanto em machos quanto em fêmeas induzidas, e contribuiu para a redução da IL-1 β em ambos os grupos, machos e fêmeas induzidas.

No que diz respeito ao tratamento IA, observou-se uma redução significativa nos níveis de ALT em machos induzidos, além de um aumento nos eritrócitos e hemoglobina em fêmeas saudáveis. Este tratamento também demonstrou sua eficácia ao reduzir os níveis de IL-6 e TNF- α em fêmeas induzidas, bem como a diminuição das proteínas e globulinas totais em diferentes grupos. Adicionalmente, o tratamento IA resultou na redução de leucócitos em fêmeas diabéticas.

Por fim, o tratamento com I reduziu os níveis de AST em machos induzidos, além de contribuir para a diminuição das proteínas e globulinas totais em fêmeas diabéticas. A diversidade de respostas observadas entre os tratamentos e grupos sugere que essas intervenções foram benéficas tanto quando aplicadas individualmente quanto em combinação na redução dos efeitos metabólicos da obesidade, incluindo a inflamação e comorbidades, como o diabetes *mellitus*.

7. Referências

- ALANDER, M.; SATOKARI, R.; KORPELA, R.; SAXELIN, M.; VILPPONEN-SALMELA, T.; MATTILA-SANDHOLM, T.; VON WRIGHT, A. Persistence of colonization of human colonic mucosa by a probiotic strain, *Lactobacillus rhamnosus* GG, after oral consumption. **Applied and environmental microbiology**, v. 65, n. 1, p. 351-354, 1999.
- ALHARBI, Y. M.; SAKR, S. S.; ALBARRAK, S. M.; ALMUNDARIJ, T. I.; BARAKAT, H.; HASSAN, M. F. Antioxidative, Antidiabetic, and Hypolipidemic Properties of Probiotic-Enriched Fermented Camel Milk Combined with *Salvia officinalis* Leaves Hydroalcoholic Extract in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. **Antioxidants**, v. 11, n. 4, p. 668, 2022.
- ALZAMIL, H. Elevated serum TNF- α is related to obesity in type 2 diabetes *mellitus* and is associated with glycemic control and insulin resistance. **Journal of obesity**, 2020.
- ANDRADE, J. C.; ASCENCAO, K.; GULLON, P.; HENRIQUES, S. M.; PINTO, J. M.; ROCHA-SANTOS, T. A.; FREITAS, A.C.; GOMES, A. M. Production of conjugated linoleic acid by food-grade bacteria: A review. **International Journal of Dairy Technology**, v. 65, n. 4, p. 467-481, 2012.
- AVTANSKI, D.; PAVLOV, V. A.; TRACEY, K. J.; PORETSKY, L. Characterization of inflammation and insulin resistance in high-fat diet-induced male C57BL/6J mouse model of obesity. **Animal models and experimental medicine**, v. 2, n. 4, p. 252-258, 2019.
- BARAKAT, B.; ALMEIDA, M.E. Biochemical and immunological changes in obesity. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 708, p. 108951, 2021.
- BELLA, L. M.; FIERI, I.; TESSARO, F. H.; NOLASCO, E. L.; NUNES, F. P.; FERREIRA, S. S.; AZEVEDO, C. B.; MARTINS, J.O. Vitamin D modulates hematological parameters and cell migration into peritoneal and pulmonary cavities in alloxan-diabetic mice. **BioMed Research International**, 2017.
- BERTONHI, L. G.; DIAS, J. C. R. Diabetes *mellitus* tipo 2: aspectos clínicos, tratamento e conduta dietoterápica. **Revista Ciências Nutricionais Online**, v. 2, n. 2, p. 1-10, 2018.
- BLAHOVA, J.; MARTINIAKOVA, M.; BABIKOVA, M.; KOVACOVA, V.; MONDOCKOVA, V.; OMELKA, R. Pharmaceutical drugs and natural therapeutic products for the treatment of type 2 diabetes *mellitus*. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 8, p. 806, 2021.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise em Saúde e Vigilância de Doenças Não Transmissíveis. **VIGITEL BRASIL – 2019: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico - estimativas sobre**

frequência e distribuição sociodemográfica de fatores de risco e proteção para doenças crônicas nas capitais dos 26 estados brasileiros e no Distrito Federal em 2019. Brasília, Distrito Federal, 2020. Disponível

em: [https://abeso.org.br/wp-](https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2021/07/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco-1-2.pdf)

[content/uploads/2021/07/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco-1-2.pdf](https://abeso.org.br/wp-content/uploads/2021/07/vigitel_brasil_2019_vigilancia_fatores_risco-1-2.pdf). Acessado em: 10 jan. 2023

BRUNKWALL, L.; ORHO-MELANDER, M. The gut microbiome as a target for prevention and treatment of hyperglycaemia in type 2 diabetes: from current human evidence to future possibilities. **Diabetologia**, v. 60, n. 6, p. 943-951, 2017.

CARDOSO, J. D. S.; TEIXEIRA, F.C; DEMELLO, J. E.; SOARES DE AGUIAR, M. S.; OLIVEIRA, P.S; SARAIVA, J.T; VIZZOTTO, M.; GRECCO, F.B.; LENCINA, C.L.; SPANEVELLO, R.M.; TAVARES, R.G.; STEFANELLO, F. M. *Psidium cattleianum* fruit extract prevents systemic alterations in an animal model of type 2 Diabetes *mellitus*: comparison with metformin effects. **Biomarkers**, p. 1-11, 2022.

CASTRO, B. B. A. D.; ARRIEL, K.; RENÓ, P.; PINHEIRO, H. S. Modelos experimentais de obesidade: análise crítica do perfil metabólico e da aplicabilidade. **HU rev**, p. 199-210, 2018.

CAXAMBÚ, A. L. R. L.; CARROCINI, M.M. S.; THOMAZELLI, F. C. S. Prevalência das alterações de enzimas hepáticas relacionadas à doença hepática gordurosa não- alcoólica em pacientes com diabetes *mellitus*.

Arquivos Catarinenses de Medicina, v. 44, n. 1, p. 3-13, 2015.

CHEN, L.; CHEN, R.; WANG, H.; LIANG, F. Mechanisms linking inflammation to insulin resistance. **International journal of endocrinology**, 2015.

COBEA. **Princípios éticos na experimentação animal**. 2004. [Acesso 2021 dez 09]. Disponível em: <<http://www.cobea.org.br>>.

COMAN, M.M.; OANCEA, A.M.; VERDENELLI, M.C.; CECCHINI, C.; BAHRIM, G.E.; ORPIANESI, C.; CRESCI, A.; SILVI, S. Polyphenol content and *in vitro* evaluation of antioxidant, antimicrobial and prebiotic properties of red fruit extracts. **European food research and technology**, v. 244, n. 4, p. 735-745, 2018.

CORRÊA, L. C.; SANTOS, C. A. F.; LIMA, G. P. P.; RODRIGUES, M. A.; COSTA, T. P. P. Genetic similarity among accessions of guava and Brazilian guava araçazeiros based on AFLP markers. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 859-867, 2011.

CUNHA, C.; UECKER, J. N.; JASKULSKI, I. B.; ROSOLEN, M. D.; BORDINI, F. W.; ANDREAZZA, R.; HUBNER, S.D.O.; FIORENTINI, A.M.; SILVA, W.P.D.; PIENIZ, S. Probiotic Characterization And Safety Assessment of *Lactococcus Lactis* Subsp. *Lactis* R7 Isolated From Ricotta Cheese. **Research Square**, 2021.

CUNHA, M. G. D. **Avaliação do efeito de extratos de compostos fenólicos da jabuticaba Sabará (*Myrciaria jaboticaba* (Vell.) Berg) administrados a camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica com alto teor de sacarose**. 2016. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

DA SILVA MALVEIRA, A.; DOS SANTOS, R. D.; DA SILVA MESQUITA, J. L.; RODRIGUES, E. L.; DE CARVALHO GUEDINE, C. R. Prevalência de obesidade nas regiões Brasileiras. **Brazilian Journal of Health Review**, v. 4, n. 2, p. 4164-4173, 2021.

- DAI, Y.; QUAN, J.; XIONG, L.; LUO, Y.; YI, B. Probiotics improve renal function, glucose, lipids, inflammation and oxidative stress in diabetic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. **Renal Failure**, v. 44, n. 1, p. 862-880, 2022.
- DE CARVALHO MARCHESIN, J.; CELIBERTO, L. S.; ORLANDO, A. B.; DE MEDEIROS, A. I.; PINTO, R. A.; ZUANON, J. A. S.; SPOLIDORIO, L.C.; DOS SANTOS, A.; TARANTO, M. P.; CAVALLINI, D.C.U. A soy-based probiotic drink modulates the microbiota and reduces body weight gain in diet-induced obese mice. **Journal of functional foods**, v. 48, p. 302-313, 2018.
- DE LUCA, C.; OLEFSKY, J.M. Inflammation and insulin resistance. **FEBS letters**, v. 582, n. 1, p. 97-105, 2008.
- DE OLIVEIRA, C. B. C.; BRITO, L. A.; FREITAS, M. A.; DE SOUZA, M. P. A.; DA CUNHA RÊGO, J. M.; DE ARAÚJO MACHADO, R. J. Obesidade: inflamação e compostos bioativos. **Journal of Health & Biological Sciences**, v. 8, n. 1, p. 1-5, 2020.
- DENIZLI, M.; CAPITANO, M. L.; KUA, K. L. Maternal obesity and the impact of associated early-life inflammation on long-term health of offspring. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, p. 1348, 2022.
- DING, L.N.; DING, W.Y.; NING, J., WANG, Y.; YAN, Y.; WANG, Z.B. Effects of Probiotic Supplementation on Inflammatory Markers and Glucose Homeostasis in Adults With Type 2 Diabetes *mellitus*: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Frontiers in pharmacology**, v. 12, 2021.
- DOMINGUES, L. H. P. **Avaliação do potencial tecnológico de araçá-vermelho (*Psidium cattleianum Sabine*): estudos dos processos de extração sólido-líquido e clarificação por membranas**. Dissertação de mestrado. 2019.
- DONATH, M. Y.; SHOELSON, S. E. Type 2 diabetes as an inflammatory disease. **Nature reviews immunology**, v. 11, n. 2, p. 98-107, 2011.
- DOS SANTOS PEREIRA, E.; VINHOLES, J.; FRANZON, R.C.; DALMAZO, G.; VIZZOTTO, M.; NORA, L. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, v. 258, p. 95-103, 2018.
- DOS SANTOS PEREIRA, E.; VINHOLES, J.R.; CAMARGO, T.M.; NORA, F.R.; CRIZEL, R.L.; CHAVES, F.; NORA L.; VIZZOTO, M. Characterization of araçá fruits (*Psidium cattleianum Sabine*): Phenolic composition, antioxidante activity and inhibition of α -amylase and α -glucosidase. **Food Bioscience**, v. 37, p. 100665, 2020.
- ESTIVALETI, J.M.; GUZMAN-HABINGER, J.; LOBOS, J.; AZEREDO, C.M.; CLARO, R.; FERRARI, G.; ADAMI, F.; REZENDE, L.F.M. Time trends and projected obesity epidemic in Brazilian adults between 2006 and 2030. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 1-8, 2022.
- FAO/WHO. **Working group report on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food**. London, Ontario, Canada, v. 30, 2002.
- FARNWORTH, E.R. The evidence to support health claims for probiotics. **The Journal of Nutrition**, v. 138, n. 6, p. 1250S-1254S, 2008.
- FERRARI, G.; GIANNICHI, B.; RESENDE, B.; PAIVA, L.; ROCHA, R.; FALBEL, F.; RACHE, B.; ADAMI, F.; REZENDE, L.F.M. The economic burden of overweight and obesity in Brazil: perspectives for the Brazilian Unified Health System. **Public Health**, v. 207, p. 82-87, 2022.
- FISHBEIN, M. H.; MOGREN, C.; GLEASON, T.; STEVENS, W. R. Relationship of hepatic steatosis to adipose tissue distribution in pediatric nonalcoholic fatty

- liver disease. **Journal of pediatric gastroenterology and nutrition**, v. 42, n. 1, p. 83-88, 2006.
- FISHER, E.; SCHULZE, M. B.; STEFAN, N.; HÄRING, H. U.; DÖRING, F.; JOOST, H. G.; AL-HASANI, H.; BOEING, H.; PISCHON, T. Association of the *FTO* rs9939609 single nucleotide polymorphism with C-reactive protein levels. **Obesity**, v. 17, n. 2, p. 330-334, 2009.
- FONTANA, L.; EAGON, J.C.; TRUJILLO, M.E.; SCHERER, P.E.; KLEIN, S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. **Diabetes**, v.56, n. 4, p. 1010–1013, 2007.
- FREEMAN, A.M.; PENNING, N. Insulin Resistance. **StatPearls**. Treasure Island, FL, USA, 2020.
- GALICIA-GARCIA, U.; BENITO-VICENTE, A.; JEBARI, S.; LARREA-SEBAL, A.; SIDDIQI, H.; URIBE, K. B.; OSTOLAZA, H.; MARTÍN, C. Pathophysiology of type 2 diabetes *mellitus*. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 17, p. 6275, 2020.
- GAO, J.; LI, X.; ZHANG, G.; SADIQ, F.A.; SIMAL-GANDARA, J.; XIAO, J.; SANG, Y. Probiotics in the dairy industry—Advances and opportunities. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 2021.
- GOMES, J. M. G.; DE ASSIS COSTA, J.; ALFENAS, R.D. C. G. Metabolic endotoxemia and diabetes *mellitus*: A systematic review. **Metabolism**, v. 68, p. 133-144, 2017.
- GWOZDZ, E. P. **IOGURTE GREGO COM ARAÇÁ VERMELHO (*Psidium cattleianum* Sabine): PROPRIEDADES FÍSICO QUÍMICAS, BIOATIVAS E SENSORIAIS**. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) –Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI Erechim. Erechim, p.107.2021.
- HARZALLAH, A.; HAMMAMI, M.; KEPCZYŃSKA, M.A.; HISLOP, D.C.; ARCH, J.R.; CAWTHORNE, M.A.; ZAIBI, M.S. Comparison of potential preventive effects of pomegranate flower, peel and seed oil on insulin resistance and inflammation in high-fat and high-sucrose diet-induced obesity mice model. **Archives of physiology and biochemistry**, v. 122, n. 2, p. 75-87, 2016.
- HELLER, K.J. Probiotic bacteria in fermented foods: product characteristics and starter organisms. **The American journal of clinical nutrition**, v. 73, n. 2, p. 374s-379s, 2001.
- HUANG, C.S.; YIN, M.C.; CHIU, L.C. Antihyperglycemic and antioxidative potential of *Psidium guajava* fruit in streptozotocin-induced diabetic rats. **Food and chemical toxicology**, v. 49, n. 9, p. 2189-2195, 2011.
- HUANG, K.; LIANG, Y.; MA, Y.; WU, J.; LUO, H.; YI, B. The Variation and Correlation of Serum Adiponectin, Nesfatin-1, IL-6, and TNF- α Levels in Prediabetes. **Frontiers in endocrinology**, v. 13, p. 58, 2022.
- HUDA, M.N.; KIM, M.; BENNETT, B.J. Modulating the microbiota as a therapeutic intervention for type 2 diabetes. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, p. 153, 2021.
- HUSSAIN, T.; TAN, B.; YIN, Y.; BLACHIER, F.; TOSSOU, M. C.; RAHU, N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us?. **Oxidative medicine and cellular longevity**, v. 2016, 2016.
- IKUNI, N.; KWAN LAM, Q. L.; LU, L.; MATARESE, G.; CAVA, A. L. Leptin and inflammation. **Current immunology reviews**, v. 4, n. 2, p. 70-79, 2008.
- JASKULSKI, I. B.; UECKER, J.; BORDINI, F.; MOURA, F.; GONÇALVES, T.; CHAVES, N. G.; CAMARGO, F.; GRECCO, F.B.; FIORENTINI, A.M.; DA

- SILVA, W.P.; ANDREAZZA, R.; PIENIZ, S. *In vivo* action of *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* isolate (R7) with probiotic potential in the stabilization of cancer cells in the colorectal epithelium. **Process Biochemistry**, v. 91, p. 165-171, 2018.
- JAYASHREE, B.; BIBIN, Y.S.; PRABHU, D.; SHANTHIRANI, C.S.; GOKULAKRISHNAN, K.; LAKSHMI, B.S.; MOHAN, V.; BALASUBRAMANYAM, M. Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. **Molecular and cellular biochemistry**, v. 388, n. 1, p. 203-210, 2014.
- KANG, G.G.; FRANCIS, N.; HILL, R.; WATERS, D.; BLANCHARD, C.; SANTHAKUMAR, A.B. Dietary polyphenols and gene expression in molecular pathways associated with type 2 diabetes *mellitus*: A Review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 1, p. 140, 2019.
- KAWAI, T.; AUTIERI, M.V.; SCALIA, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 320, n. 3, p. C375-C391, 2021.
- KIM, Y. A.; KEOGH, J. B.; CLIFTON, P. M. Probiotics, prebiotics, synbiotics and insulin sensitivity. **Nutrition research reviews**, v. 31, n. 1, p. 35-51, 2018.
- KOCH, S.; FACHINETTO, J. M.; BIANCHI, V. Distribuição geográfica potencial atual e futura de Araçá (*Psidium Catlleianum*) para a América do Sul. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 2, p. 16268-16277, 2021.
- KUMAR, A.; SHARMA, E.; MARLEY, A.; SAMAAN, M. A.; BROOKES, M. J. Iron deficiency anaemia: pathophysiology, assessment, practical management. **BMJ open gastroenterology**, v. 9, n. 1, p. e000759, 2022.
- LAFONTAN, M. Adipose tissue and adipocyte dysregulation. **Diabetes & metabolism**, v. 40, n. 1, p. 16-28, 2014.
- LAND LAIL, H.; FERESIN, R.G.; HICKS, D.; STONE, B.; PRICE, E.; WANDERS, D. Berries as a treatment for obesity-induced inflammation: Evidence from preclinical models. **Nutrients**, v. 13, n. 2, p. 334, 2021.
- Lee, Y.S.; Li, P.; Huh, J.Y.; Hwang, I.J.; Lu, M.; Kim, J.I.; ham, m.; talukdar, s.; chen, a.; lu, w.j.; Bandyopadhyay, g.k.; Schwendener, r.; Olefsky, j.; Kim, j.b. Inflammation is necessary for long-term but not short-term high-fat diet-induced insulin resistance. **Diabetes**, v. 60, n. 10, p. 2474-2483, 2011.
- LEFRANC, C.; FRIEDERICH-PERSSON, M.; PALACIOS-RAMIREZ, R.; CAT, A. N. D. Mitochondrial oxidative stress in obesity: role of the mineralocorticoid receptor. **Journal of Endocrinology**, v. 238, n. 3, p. R143-R159, 2018.
- LEON-CABRERA, S.; ARANA-LECHUGA, Y.; ESQUEDA-LEÓN, E.; TERÁN-PÉREZ, G.; GONZALEZ-CHAVEZ, A.; ESCOBEDO, G.; VELÁZQUEZ MOCTEZUMA, J. Reduced systemic levels of IL-10 are associated with the severity of obstructive sleep apnea and insulin resistance in morbidly obese humans. **Mediators of Inflammation**, v. 2015, 2015.
- LI, H.; MENG, Y.; HE, S.; TAN, X.; ZHANG, Y.; ZHANG, X.; WANG, L.; ZHENG, W. Macrophages, Chronic Inflammation, and Insulin Resistance. **Cells**, v. 11, n. 19, p. 3001, 2022.
- LI, X.; WATANABE, K.; KIMURA, I. Gut microbiota dysbiosis drives and implies novel therapeutic strategies for diabetes *mellitus* and related metabolic diseases. **Frontiers in immunology**, v. 8, p. 1882, 2017.
- LIANG, H.; HUSSEY, S.E.; SANCHEZ-AVILA, A.; TANTIWONG, P.; MUSI, N. Effect of lipopolysaccharide on inflammation and insulin action in human muscle. **PloS one**, v. 8, n. 5, p. e63983, 2013.

- LIANG, T.; XIE, X.; WU, L.; LI, L.; YANG, L.; GAO, H.; DENG, Z.; ZHANG, X.; CHEN, X.; ZHANG, J.; DING, Y.; WU, K. Comparative analysis of the efficacies of probiotic supplementation and glucose-lowering drugs for the treatment of type 2 diabetes: A systematic review and meta-analysis. **Frontiers in Nutrition**, v. 9, 2022.
- MAGGIORE, U.; CRISTOL, J. P.; CANAUD, B.; DUPUY, A. M.; FORMICA, M.; POZZATO, M.; PANICHI, V.; CONSANI, C.; METELLI, M. R.; SERENI, L.; NITTI, C. D.; DAVID, S.; TETTA, C. Comparison of 3 automated assays for C-reactive protein in end-stage renal disease: clinical and epidemiological implications. **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, v. 145, n. 6, p. 305-308, 2005.
- MAKAROVA, K. S.; KOONIN, E. V. Evolutionary genomics of lactic acid bacteria. **Journal of bacteriology**, v. 189, n. 4, p. 1199-1208, 2007.
- MAKKI, K.; FROGUEL, P.; WOLOWCZUK, I. Adipose tissue in obesity-related inflammation and insulin resistance: cells, cytokines, and chemokines. **International Scholarly Research Notices**, v. 2013, 2013.
- MARGINĂ, D.; UNGURIANU, A.; PURDEL, C.; NIȚULESCU, G.M.; TSOUKALAS, D.; SARANDI, E.; THANASOULA, M.; BURYKINA, T.L.; TEKOS, F.; BUHA, A.; NIKITOVIC, D.; KOURETAS, D.; TSATSAKIS, A.M. Analysis of the intricate effects of polyunsaturated fatty acids and polyphenols on inflammatory pathways in health and disease. **Food and Chemical Toxicology**, v. 143, p. 111558, 2020.
- MARQUES-VIDAL, P.; SCHMID, R.; BOCHUD, M.; BASTARDOT, F.; VON KÄNEL, R.; PACCAUD, F.; GLAUS, J.; PREISIG, M.; WAEBER, G.; VOLLENWEIDER, P. Adipocytokines, hepatic and inflammatory biomarkers and incidence of type 2 diabetes. the CoLaus study. **PloS one**, v. 7, n. 12, p. e51768, 2012.
- MAVROGIANNAKI, A. N.; MIGDALIS, I. N. Nonalcoholic fatty liver disease, diabetes *mellitus* and cardiovascular disease: newer data. **International journal of endocrinology**, v. 2013, 2013.
- MAYORAL, L.P.C.; ANDRADE, G.M.; MAYORAL, E.P.C.; HUERTA, T.H.; CANSECO, S.P.; CANALES, F.J.R.; CABRERA-FUENTES, H.A.; CRUZ, M.M.; SANTIAGO, A.D.P.; ALPUCHE, J.J.; ZENTENO, E.; RUÍZ, M.; CRUZ, R.M.; JERONIMO, J.; PEREZ-CAMPOS, E. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. **The Indian journal of medical research**, v. 151, n. 1, p. 11, 2020.
- MEDINA, A.L.; HAAS, L.I.R.; CHAVES, F.C.; SALVADOR, M.; ZAMBIAZI, R.C.; DA SILVA, W.P.; NORA, L.; ROMBALDI, C.V. Araçá (*Psidium cattleianum Sabine*) fruit extracts with antioxidant and antimicrobial activities and antiproliferative effect on human cancer cells. **Food Chemistry**, v. 128, n. 4, p. 916-922, 2011.
- MENEZES, P. E.; DORNELLES, L. L.; DE OLIVEIRA FOGAÇA, A.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; BERTAGNOLLI, S. M. M. Composição centesimal, compostos bioativos, atividade antioxidante e caracterização fenólica da polpa de goiaba. **Disciplinarum Scientia| Saúde**, v. 17, n. 2, p. 205-217, 2016.
- MIZUNO, T.M. Fat mass and obesity associated (*FTO*) gene and hepatic glucose and lipid metabolism. **Nutrients**, v. 10, n. 11, p. 1600, 2018.
- MOHAMADSHAHI, M.; VEISSI, M.; HAIDARI, F.; SHAHBAZIAN, H.; KAYDANI, G.A.; MOHAMMADI, F. Effects of probiotic yogurt consumption on inflammatory

- biomarkers in patients with type 2 diabetes. **BiolImpacts: BI**, v. 4, n. 2, p. 83, 2014.
- MOHAMMED, M.S.; SENDRA, S.; LLORET, J.; BOSCH, I. Systems and WBANs for controlling obesity. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2018, 2018.
- MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. Chronic inflammation in obesity and the metabolic syndrome. **Mediators of inflammation**, v. 2010, 2010.
- NOMURA, M.; KOBAYASHI, M.; NARITA, T.; KIMOTO-NIRA, H.; OKAMOTO, T. Phenotypic and molecular characterization of *Lactococcus lactis* from milk and plants. **Journal of Applied Microbiology**, v. 101, n. 2, p. 396-405, 2006.
- OLIVEIRA, P.S.; CHAVES, V.C.; SOARES, M.S.P.; BONA, N.P.; MENDONÇA, L.T.; CARVALHO, F.B.; GUTIERRES, J.M.; VASCONCELLOS, F.A.; VIZZOTTO, M.; VIEIRA, A.; SPANEVELLO, R.M.; REGINATTO, F.H.; LENCINA, C.L.; STEFANELLO, F.M. Southern Brazilian native fruit shows neurochemical, metabolic and behavioral benefits in an animal model of metabolic syndrome. **Metabolic brain disease**, v. 33, n. 5, p. 1551-1562, 2018.
- ORTIZ-MARTÍNEZ, M.; GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, M.; MARTAGÓN, A.J, HLAVINKA, V.; WILLSON, R.C.; RITO-PALOMARES, M. Recent Developments in Biomarkers for Diagnosis and Screening of Type 2 Diabetes *mellitus*. **Current Diabetes Reports**, v.22, n. 3, p. 95-115, 2022.
- OUWEHAND, A.C.; SALMINEN, S.; ISOLAURI, E. Probiotics: an overview of beneficial effects. **Springer Netherlands**, v. 82, p. 279-289, 2002.
- PATEL, S. Exotic tropical plant *Psidium cattleianum*: a review on prospects and threats. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 11, n. 3, p. 243-248, 2012.
- PENNA, P. M.; HERMSDORFF, H. H. M.; SARON, M. L. G. O papel de adipocinas na relação entre obesidade e resistência à insulina: uma revisão integrativa. **Cadernos UniFOA**, v. 15, n. 42, p. 131-141, 2020.
- PEREIRA, E. S.; RAPHAELLI, C. O.; RADÜNZ, M.; CAMARGO, T. M.; VIZZOTTO, M. Biological activity and chemical composition of native fruits: a review. **Agrociencia Uruguay**, v. 25, n. NSPE2, 2021.
- PEREIRA, J. L.; SAMPAIO, P. C.; SHINZATO, V. I.; SASSO, S.; DO ESPÍRITO SANTO, B. L. S.; SANTANA, L. F.; RESTEL, I.T.; FREITAS, K.D.C. Ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos submetidos à dieta hiperlipídica. **Ciência & Saúde**, v. 11, n. 1, p. 51-57, 2018.
- POLACOW, V.O.; LANCHÁ JUNIOR, A.H. Dietas hiperglicídicas: efeitos da substituição isoenergética de gordura por carboidratos sobre o metabolismo de lipídios, adiposidade corporal e sua associação com atividade física e com o risco de doença cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 51, p. 389-400, 2007.
- PURDY, J.C.; SHATZEL, J.J. The hematologic consequences of obesity. **European Journal of Haematology**, v. 106, n. 3, p. 306-319, 2021.
- RAJKUMAR, H.; MAHMOOD, N.; KUMAR, M.; VARIKUTI, S. R.; CHALLA, H. R.; MYAKALA, S. P. Effect of probiotic (VSL#3) and omega-3 on lipid profile, insulin sensitivity, inflammatory markers, and gut colonization in overweight adults: a randomized, controlled trial. **Mediators of inflammation**, 2014.
- RESTEL, T.I. **Avaliação ponderal, hematológica e bioquímica em camundongos *mus musculus*, linhagem swiss, machos e fêmeas de diferentes idades, do biotério central da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campo Grande, MS**. Dissertação de mestrado, 2012.

ROCHA, W. S.; LOPES, R. M.; SILVA, D. B. D.; VIEIRA, R. F.; SILVA, J. P. D.; AGOSTINI-COSTA, T. D. S. Compostos fenólicos totais e taninos condensados em frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, p. 1215-1221, 2011.

ROSOLEN, M.D. **Microencapsulação simbiótica de *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* R7 usando soro de queijo e inulina por spray drying e aplicação em diferentes matrizes alimentares.** Tese de doutorado, 2020.

SAAD, M.J.A.; SANTOS, A.; PRADA, P.O. Linking gut microbiota and inflammation to obesity and insulin resistance. **Physiology**, 2016.

SABICO, S.; AL-MASHHARAWI, A.; AL-DAGHRI, N. M.; YAKOUT, S.; ALNAAMI, A. M.; ALOKAIL, M. S.; MC TERNAN, P. G. Effects of a multi-strain probiotic supplement for 12 weeks in circulating endotoxin levels and cardiometabolic profiles of medication naïve T2DM patients: a randomized clinical trial. **Journal of translational medicine**, v. 15, n. 1, p. 1-9, 2017.

ŞAHIN, K.; ŞAHINTÜRK, Y.; KÖKER, G.; KÖKER, G. Ö.; BOSTAN, F.; KÖK, M.; UYAR, S.; ÇEKIN, A, H. Metformin with Versus without Concomitant Probiotic Therapy in Newly Diagnosed Patients with Type 2 Diabetes or Prediabetes: A Comparative Analysis in Relation to Glycemic Control, Gastrointestinal Side Effects, and Treatment Compliance. **The Turkish Journal of Gastroenterology**, v. 33, n. 11, p. 925, 2022.

SALEM, V.; AL HUSSEINI, N.; ABDUL RAZACK, H.I.; NAOUM, A.; SIMS, O.T.; ALQAHTANI, S.A. Prevalence, risk factors, and interventions for obesity in Saudi Arabia: A systematic review. **Obesity Reviews**, v. 23, n. 7, p. e13448, 2022.

PEREIRA, M. D. S.; COSTA, R. M. D. M.; AQUINO, M. D. A. D. A. **Proteína C reativa (PCR) e velocidade de hemossedimentação (VHS) como biomarcadores nos processos inflamatórios: revisão de literatura integrativa.** Trabalho de conclusão de curso, 2022.

SBD - Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes: 2019-2020.** São Paulo. 2019.

SCHEITHAUER, T.P.; RAMPANELLI, E.; NIEUWDORP, M.; VALLANCE, B.A, VERCHERE, C.B, VAN RAALTE, D.H.; HERREMA, H. Gut microbiota as a trigger for metabolic inflammation in obesity and type 2 diabetes. **Frontiers in immunology**, p. 2546, 2020.

SHAKOOR, H.; FEEHAN, J.; APOSTOLOPOULOS, V.; PLATAT, C.; AL DHAHERI, A.S.; ALI, H.I. Immunomodulatory effects of dietary polyphenols. **Nutrients**, v. 13, n. 3, p. 728, 2021.

SHOELSON, S.E.; LEE, J.; GOLDFINE, A.B. Inflammation and insulin resistance. **The Journal of clinical investigation**, v. 116, n. 7, p. 1793-1801, 2006.

SILVA, E.B.D. **Avaliação leucocitária, relação albumina/globulina, proteína plasmática e fibrinogênio de bovinos da raça nelore, confinados e terminados a pasto.** Dissertação de mestrado, 2006.

SILVA, R.O.D.P.; LOPES, A.D.F.; FARIA, R.M.D.D. Eletroforese de proteínas séricas: interpretação e correlação clínica. **Revista Médica de Minas Gerais**, v.18, n. 2, p. 116-122, 2008.

SILVA-SANTANA, G.; BAX, J.C.; FERNANDES, D.C.S.; BACELLAR, D.T.L.; HOOPER, C.; DIAS, A.A.S.O.; SILVA, C.B.; SOUZA, A.M.D.; RAMOS, S.; SANTOS, R.A.; PINTO, T.R.; RAMÃO, M.A.; MATTOS-GUARALDI, A.L. Clinical hematological and biochemical parameters in Swiss, BALB/c, C57BL/6

- and B6D2F1 *Mus musculus*. **Animal Models and Experimental Medicine**, v. 3, n. 4, p. 304-315, 2020.
- SILVESTRIS, E.; DE PERGOLA, G.; ROSANIA, R.; LOVERRO, G. Obesity as disruptor of the female fertility. **Reproductive Biology and Endocrinology**, v. 16, n. 1, p. 1-13, 2018.
- SON, M.; WU, J. Egg white hydrolysate and peptide reverse insulin resistance associated with tumor necrosis factor- α (TNF- α) stimulated mitogen-activated protein kinase (MAPK) pathway in skeletal muscle cells. **European journal of nutrition**, v. 58, n. 5, p. 1961-1969, 2019.
- SONG, A.A.L.; IN, L.L.; LIM, S.H.E.; RAHIM, R.A. A review on *Lactococcus lactis*: from food to factory. **Microbial cellfactories**, v. 16, n. 1, p. 1-15, 2017.
- SOUZA, C.T.D. Envolvimento da inflamação subclínica e do estresse oxidativo na resistência à insulina associada a obesidade. **HU rev**, p. 211-220, 2018.
- SPERETTA, G.F.; LEITE, R.D.; DE OLIVEIRA DUARTE, A.C. Obesidade, inflamação e exercício: foco sobre o TNF- α e IL-10. **Revista Hospital Universitário Pedro Ernesto**, v. 13, n. 1, 2014.
- SPILLER, F.; CARLOS, D.; SOUTO, F.O.; DE FREITAS, A.; SOARES, F.S.; VIEIRA, S.M.; PAULA, F.J.A.; ALVES-FILHO, J.C.; CUNHA, F.Q. α 1-Acid glycoprotein decreases neutrophil migration and increases susceptibility to sepsis in diabetic mice. **Diabetes**, v. 61, n. 6, p. 1584-1591, 2012.
- TAKIKAWA, M.; INOUE, S.; HORIO, F.; TSUDA, T. Dietary anthocyanin-rich bilberry extract ameliorates hyperglycemia and insulin sensitivity via activation of AMP-activated protein kinase in diabetic mice. **The Journal of nutrition**, v. 140, n. 3, p. 527-533, 2010.
- TERPOU, A.; PAPADAKI, A.; LAPPA, I.K.; KACHRIMANIDOU, V.; BOSNEA, L.A.; KOPSAHELIS, N. Probiotics in Food Systems: Significance and Emerging Strategies Towards Improved Viability and Delivery of Enhanced Beneficial Value. **Nutrientes**, v. 11, n. 7, pág. 1591, 2019.
- TILG, H.; MOSCHEN, A.R. Inflammatory mechanisms in the regulation of insulin resistance. **Molecular medicine**, v. 14, n. 3, p. 222-231, 2008.
- TOMIC, D.; SHAW, J.E.; MAGLIANO, D.J. The burden and risks of emerging complications of diabetes *mellitus*. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 18, n. 9, pág. 525-539, 2022.
- TOSHIMITSU, T.; GOTOU, A.; SASHIHARA, T.; HACHIMURA, S.; SHIOYA, N.; SUZUKI, S.; ASAMI, Y. Effects of 12-week ingestion of yogurt containing *Lactobacillus plantarum* OLL2712 on glucose metabolism and chronic inflammation in prediabetic adults: a randomized placebo-controlled trial. **Nutrients**, v. 12, n. 2, p. 374, 2020.
- TRENTIN, R.S.; DOS SANTOS, J.S. Benefícios do Emprego de Substâncias Funcionais no Desenvolvimento de Produtos. **Ensaio e Ciência: Ciências Biológicas, Agrárias e da Saúde**, v. 24, n. 3, p. 283-288, 2020.
- VAN GAAL, LUC F.; MERTENS, ILSE L.; DE BLOCK, CHRISTOPHE E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 875-880, 2006.
- VERMA, A.K.; RAJKUMAR, V.; BANERJEE, R.; BISWAS, S.; DAS, A.K. Guava (*Psidium guajava* L.) powder as an antioxidant dietary fibre in sheep meat nuggets. **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 26, n. 6, p. 886, 2013.

- VERRUCK, S.; PRUDENCIO, E. S.; DA SILVEIRA, S. M. Compostos bioativos com capacidade antioxidante e antimicrobiana em frutas. In: **Revista do Congresso Sul Brasileiro de Engenharia de Alimentos**. 2018.
- VINHOLES, J.; LEMOS, G.; BARBIERI, R.L.; FRANZON, R.C.; VIZZOTTO, M. In vitro assessment of the antihyperglycemic and antioxidant properties of araçá, butiá and pitanga. **Food bioscience**, v. 19, p. 92-100, 2017.
- WALTHER, C.P.; GUTIÉRREZ, O.M.; CUSHMAN, M.; JUDD, S.E, LANG, J.; MCCLELLAN, W.; MUNTNER, P.; SARNAK, M.J.; SHLIPAK, M.G.; WARNOCK, D.G.; KATZ, R.; IX, J.H. Serum albumin concentration and risk of end-stage renal disease: the REGARDS study. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 33, n. 10, p. 1770-1777, 2018.
- YANG, X.; TAO, S.; PENG, J.; ZHAO, J.; LI, S.; WU, N.; WEN, Y.; XUE, Q.; YANG, C.X.; PAN, X.F. High-sensitivity C-reactive protein and risk of type 2 diabetes: A nationwide cohort study and updated meta-analysis. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 37, n. 8, p. e3446, 2021.
- YANG, Y.; SMITH JR, D. L.; KEATING, K. D.; ALLISON, D. B.; NAGY, T. R. Variations in body weight, food intake and body composition after long-term high-fat diet feeding in C57BL/6J mice. **Obesity**, v. 22, n. 10, p. 2147-2155, 2014.