

NATALIA MEDINA RAMÍREZ

**MODULAÇÃO DOS FATORES DE RISCO METABÓLICO ASSOCIADOS À
OBESIDADE, POR CHÁ DE FOLHAS DE MANGUEIRA (*Mangifera indica* L.
variedade Ubá), EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS - BRASIL
2015**

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

Medina Ramírez, Natalia, 1986-

M491m
2015

Modulação dos fatores de risco metabólico associados à obesidade, por chá de folhas de mangueira (*Mangifera indica* L. variedade Ubá), em ratos alimentados com dieta hiperlipídica / Natalia Medina Ramírez. – Viçosa, MG, 2015.
xx, 80f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Sônia Machado Rocha Ribeiro.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Matéria médica vegetal. 2. Fitoterapia. 3. *Mangifera indica*. 4. Compostos bioativos. 5. Obesidade. 6. Expressão gênica. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Programa de Pós-graduação em Ciência da Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 615.321

NATALIA MEDINA RAMÍREZ

MODULAÇÃO DOS FATORES DE RISCO METABÓLICO ASSOCIADOS À OBESIDADE, POR CHÁ DE FOLHAS DE MANGUEIRA (*Mangifera indica* L. variedade Ubá), EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciência da Nutrição, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de fevereiro de 2015

Maria Eliza de Castro Moreira

João Paulo Viana Leite

Maria Inês de Souza Dantas

José Humberto de Queiroz
(Coorientador)

Sônia Machado Rocha Ribeiro
(Orientadora)

*Aos familiares, amigos e cada pessoa que
contribui com minha felicidade e formação.*

*“Cuando se abre nuestra visión interior, se
ensancha nuestro horizonte”*

Louse L. Hay

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, José Marino e Maria Eunice, pelo apoio incondicional em cada etapa da minha vida, pelo amor e por serem uns excelentes guias.

Aos meus irmãos, Lorena e Camilo, por serem um exemplo de luta e por contribuir para realizar meus projetos de vida.

Aos meus sobrinhos, Tomás e Mateo, por serem minha força e por me ensinar a sorrir cada dia.

Ao meu namorado David, pelo amor, apoio incondicional e por tantos momentos de felicidade.

Aos meus grandes amigos por me incentivarem e me acompanharam neste caminho.

À professora Sônia Machado Rocha por sua maravilhosa orientação e disposição para me ajudar, me guiar e me compartilhar seus conhecimentos. Muito obrigada por fazer desta experiência, algo inesquecível.

Aos professores: Hércia Stampini, João P. Viana, José H. de Queiroz, Maria I. Dantas, Andréia Q. Ribeiro e Laércio A. Benjamin pelo auxílio neste trabalho e seu olhar científico.

Aos colegas de trabalho dos Laboratórios de Nutrição Experimental do Departamento de Nutrição e Saúde, Metabolismo e Fermentação e Biodiversidade do Departamento de Bioquímica Agrícola, da Universidade Federal de Viçosa. Especialmente agradeço a Renata Lopes, a Maria Eliza Castro e a Letícia Monteiro pela constante ajuda, amizade, paciência e carinho.

Aos professores e funcionários do Departamento de Nutrição e Saúde, pela constante ajuda e acolhimento.

À PPGCN e a Universidade Federal de Viçosa, pela oportunidade do mestrado.

À CAPES pela concessão da bolsa de mestrado e à FAPEMIG pelo apoio financeiro ao projeto.

Agradeço a todos os que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho.

MUITO OBRIGADA!

SUMARIO

RESUMO	xvii
ABSTRACT	xix
LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE TABELAS	xii
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS	xiv
INTRODUÇÃO GERAL	1
CAPITULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	
1. Síndrome metabólica: mecanismos e alterações	
1.1.Componentes da SM.....	4
1.1.1. Obesidade abdominal.....	4
1.1.2. Dislipidemia aterogênica.....	5
1.1.3. Elevada pressão arterial.....	5
1.1.4. Resistência insulínica.....	5
1.2.Patogênese e mecanismos fisiopatológicos da síndrome metabólica.....	5
1.3.Metabolismo dos adipócitos na síndrome metabólica.....	8
1.4.Hiperplasia e Hipertrofia do tecido adiposo.....	10
1.5.Mecanismos de inflamação e de estresse oxidativo.....	11
1.5.1. Inflamação.....	11
1.5.2. Estresse oxidativo (EO)	12
1.5.3. Genes envolvidos em mecanismos inflamatórios e na homeostase redox.....	13
2. Compostos bioativos da Mangifera indica.	
2.1.Mangiferina.....	14
2.2.Outros compostos.....	15

3. Consumo de chás e seu uso no controle das alterações metabólicas associadas à obesidade.....	15
--	-----------

Conclusão.....	17
-----------------------	-----------

Referências bibliográficas	18
---	-----------

CAPITULO 2. AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE EXTRAÇÃO DE MANGIFERINA E ANÁLISES QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E SENSORIAL DO CHÁ DE FOLHAS DE *Mangifera indica* L., VARIEDADE UBÁ

Resumo	31
Abstract.....	32
1. Introdução.....	32
2. Materiais e métodos.....	35
2.1.Reagentes.....	35
2.2.Material vegetal.....	35
2.3.Desenvolvimento do chá avaliando três técnicas de preparo.....	35
2.3.1. Preparo dos chás.....	35
2.3.2. Quantificação da Mangiferina.....	36
2.4.Caracterização físico-química do chá obtido por decocção.....	37
2.4.1. Quantificação de fenólicos totais (FT)	37
2.4.2. Avaliação da atividade antioxidante (AA)	37
2.5.Avaliação da estabilidade oxidativa do chá.....	38
2.6.Análise sensorial.....	38
2.6.1. Preparo dos chás.....	38
2.6.2. Teste.....	38
2.7.Análise estatística.....	38
3. Resultados e discussão.....	39
3.1.Concentração de mangiferina nos chás preparados por três diferentes técnicas.....	39
3.2.Caracterização físico-química do chá.....	41
3.3.Estabilidade.....	43
3.4.Análise sensorial.....	44
Conclusão.....	45
Referências.....	45

CAPITULO 3. EFEITO ANTI-OBESIDADE DO CHÁ DE FOLHAS DE *Mangifera indica* L. var. UBÁ EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.

Resumo.....	51
Abstract.....	52
1. Introdução.....	53
2. Materiais e métodos.....	54
2.1.Preparo do chá	54
2.2.Experimento, animais e dietas.....	55
2.3.Parâmetros avaliados.....	55
2.3.1. Consumo da dieta, chá e parâmetros biométricos.....	55
2.3.2. Constituintes bioquímicos do sangue.....	56
2.3.3. Teste de tolerância oral à glicose e HOMA-IR.....	56
2.3.4. Concentrações de TNF- α e IL-10 no plasma.....	56
2.3.5. Análise histológica de hepatócitos e adipócitos.....	56
2.3.6. Nível de expressão de genes no tecido adiposo epididimal.....	58
2.4. Análise estatística.....	57
3. Resultados.....	58
3.1.Consumo da dieta, chá e parâmetros biométricos.....	58
3.2.Efeito do chá sobre os parâmetros bioquímicos séricos.....	59
3.3.Efeito do consumo do chá no metabolismo da glicose.....	59
3.4.Efeito anti-inflamatório e pro-inflamatório do chá.....	60
3.5.Efeito do chá nos tecidos hepático e epididimal	60
3.5.1. Hepatócitos.....	60
3.5.2. Adipócitos.....	61
3.6.Efeito do chá no metabolismo de lipídios.....	63
4. Discussão.....	63
5. Conclusão.....	66
6. Referências.....	67
 ANEXOS	
Anexo 1.....	73
Anexo 2.....	76
Anexo 3.....	77

Anexo 4.....	78
Anexo 5.....	79
Anexo 6.....	80

LISTA DE FIGURAS

CAPITULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

- Figura 1.** Interações de componentes moleculares e o tecido adiposo na síndrome metabólica.....6
- Figura 2.** Biomarcadores e mecanismos fisiopatológicos na síndrome metabólica.....8
- Figura 3.** Regulação da lipólise e lipogênese nos adipócitos.....11
- Figura 4.** Hiperplasia e Hipertrofia adipócitos na obesidade.....12

CAPITULO 2. AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE EXTRAÇÃO DE MANGIFERINA E ANÁLISES QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E SENSORIAL DO CHÁ DE FOLHAS DE *Mangifera indica* L., VARIEDADE UBÁ.

- Figura 1.** Estrutura da mangiferina.....33
- Figura 2.** Conteúdo de mangiferina nos chás utilizando as três técnicas de preparo e três relações da droga vegetal/ solvente a partir de (a) folhas novas e (b) folhas maduras de *M. indica*39
- Figura 3.** Cromatograma do chá de folhas de *M. indica* e padrão de mangiferina.41
- Figura 4.** Estabilidade do conteúdo de (a) Mangiferina, (b) Fenólicos Totais e (c) Atividade de retirada de Radical dos chás, nos dois métodos de conservação (Refrigeração 4 ± 2 °C e Temperatura ambiente 20 ± 2 °C) e nos tempos (0, 24 e 48 horas).43

CAPITULO 3. EFEITO ANTI-OBESIDADE DO CHÁ DE FOLHAS DE *Mangifera indica* L. var. UBÁ EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.

- Figura 1.** a) Teste de tolerância oral à glicose e b) Índice de HOMA-IR.....60

Figura 2. Concentrações plasmáticas ($\text{pg}\cdot\mu\text{m}^{-1}$) de IL-10 e TNF- α em ratos alimentados com dieta controle (AIN93), hiperlipídica (HFD) e hiperlipídica suplementada com chá (HFD-TT).....	62
Figura 3. Histologia do tecido hepático de ratos alimentados com a) AIN93, dieta controle; b) HFD, dieta hiperlipídica; c) HFD-TT; dieta hiperlipídica suplementada com chá; d) Relação núcleo-plasmática dos hepatócitos.....	62
Figura 4. Histologia do tecido adiposo epididimal de ratos alimentados com a) AIN93, dieta controle; b) HFD, dieta hiperlipídica; c) HFD-TT; dieta hiperlipídica suplementada com chá. Medições do d) tamanho do adipócito, e) diâmetro equivalente, f) número de adipócitos.....	63
Figura 5. Níveis de expressão de mRNA de receptor ativado do peroxissoma (PPAR- γ), ácido graxo sintase (FAS) e lipoproteína lipase (LPL) determinadas por RT-PCR.....	64

LISTA DE TABELAS

CAPITULO 1. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Tabela 1. Critérios para diagnóstico da síndrome metabólica.....	4
Tabela 2. Biomarcadores associados à síndrome metabólica.....	7
Tabela 3. Genes envolvidos em mecanismos da inflamação e do estresse oxidativo....	14
Tabela 4. Principais Compostos Bioativos da <i>Mangifera indica</i> L.....	16

CAPITULO 2. AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DE EXTRAÇÃO DE MANGIFERINA E ANÁLISES QUÍMICA, ANTIOXIDANTE E SENSORIAL DE CHÁ COM FOLHAS DE *Mangifera indica* L., VARIEDADE UBÁ.

Tabela 1. Condições de preparo dos chás com folhas de <i>M. indica</i>	36
Tabela 2. Conteúdo de mangiferina nos chás de folhas de <i>M. indica</i> preparados por três técnicas, usando dois tipos de folha e três relações da droga vegetal/ solvente.....	40
Tabela 3. Valores médios de pH, conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante do chá de folhas de <i>M. indica</i> ao 5% (relação da droga vegetal / solvente).....	42
Tabela 4. Valores médios das pontuações da escala hedônica, dos diferentes chás de folhas de <i>M. indica</i>	45

CAPITULO 3. EFEITO ANTI-OBESIDADE DO CHÁ DE FOLHAS DE *Mangifera indica* L. var. UBÁ EM RATOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.

Tabela 1. Oligonucleotídeos utilizados na análise de PCR tempo real.....	57
---	----

Tabela 2. Influência do chá de folhas <i>M. indica</i> no consumo de dieta, energia consumida, ganho de peso, peso dos órgãos e nos parâmetros biométricos.	58
Tabela 3. Efeito do chá de folhas de <i>M. indica</i> nos parâmetros bioquímicos em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, após 8 semanas de tratamento s.....	59
Tabela 4. Efeito do chá de folhas de <i>M. indica</i> sobre o parâmetros morfométricos do fígado de ratos Wistar machos adultos alimentados com dieta hiperlipídica, após 8 semanas de tratamento.....	62

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

AA	Atividade antioxidante
AAR	Atividade de retirada de radical
AGL	Ácidos graxos livres
AGS	Ácidos graxos saturados
AP-1	Proteína ativadora 1
AQP	Aquaporina
ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
AUR	Ácido úrico
CAT	Capacidade antioxidante total
CBA	Composto bioativo
Cd	Cluster de diferenciação
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CRE	Creatinina
CT	Colesterol total
DP	Desvio padrão
EAQ	Equivalentes de ácido gálico
EP	Erro padrão
EO	Estresse oxidativo
ERO	Espécies reativas de oxigênio
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
FABP	Proteína de ligação de ácidos graxos
FAS	Ácido graxo sintase
FAT	Transportador de ácidos graxos
FFA	Ácidos graxos livres
FT	Fenólicos totais
GAPDH	Gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase
GLU	Glicose
GLUT 4	Transportador 4 de glicose
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HFD	Dieta hiperlipídica

HGF-1	Fator de crescimento do hepatócito
IMC	Índice de massa corporal
IL-1,6,10	Interleucinas 1,6 e 10
IRF-3	Fator regulatório do interferon tipo 3
IRS	Substrato do receptor de insulina
JNK	Quinases c-Jun N-terminal
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LHS	Lípase hormônio sensível
LIF	Fator inibidor de leucemia
LP	Leptina
LPL	Lipoproteína lipase
MCP1	Proteína quimiostática de monócitos
MIMF	Fator inibitório da migração de macrófagos
PAI1	Inibidor ativador plasminógeno
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NPY	Neuropeptídeo Y
PC	Perímetro de cintura
PCR	Proteína C reativa
PPAR-γ	Receptor ativado do peroxissoma gama
QM	Quilomicrons
RI	Resistência insulínica
SAA3	Polipoproteína A3
SM	Síndrome metabólica
SRT	Sirtuina
TAK 1	Quinase ativada 1
TG	Triacilgliceróis
TLR	Receptores tipo Toll
TNF-α	Fator alfa de necrose tumoral
TTOG	Teste de tolerancia oral à glicose
UCP	Proteína de desacople mitocondrial
VLDL	Lipoproteína de muito baixa densidade

UNIDADES

pg - µg - mg - g - Kg

µm - mm - cm

mmol

dL - mL

Picogramas – Microgramas – Miligramas –

Gramas – Quilogramas

Micrometros – Milímetros – Centímetros

Milimol

Decilitro – mililitro

RESUMO

MEDINA RAMÍREZ, Natalia, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2015. **Modulação dos fatores de risco metabólico associados à obesidade, por chá de folhas de mangueira (*Mangifera indica* L. variedade ubá), em ratos alimentados com dieta hiperlipídica.** Orientadora: Sônia Machado Rocha Ribeiro. Coorientadores: Hércia Stampini Duarte Martino e José Humberto de Queiroz.

A obesidade é uma alteração metabólica caracterizada pelo acúmulo de gordura corporal, sendo causada por fatores genéticos e ambientais (comportamento alimentar inadequado, sedentarismo). Está associada aos processos de inflamação, estresse oxidativo, doenças cardiovasculares, diabetes tipo 2, hipertensão arterial e dislipidemia. O presente estudo teve como objetivo desenvolver um chá de folhas de *Mangifera indica* L. da variedade Ubá, e avaliar seus efeitos na modulação de fatores de risco associados à obesidade, em ratos alimentados com dieta hiperlipídica. Este trabalho foi realizado nos Laboratórios de Nutrição Experimental, Desenvolvimento de Novos Produtos, Biodiversidade e Metabolismo e Fermentação da Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais (Brasil). Foram preparados chás com folhas jovens e maduras da *M. indica*, processadas (secas e trituradas) em concentrações de 1,25; 2,5 e 5% (g.mL⁻¹) utilizando as técnicas de infusão, decocção e ultrassom. Foi determinada a concentração de mangiferina (por CLAE), sendo selecionado o chá com maior eficácia na obtenção desta xantona para o estudo de efeitos biológicos. O chá com teor elevado de mangiferina foi caracterizado determinando-se pH, fenólicos totais (utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu) e atividade antioxidante (teste de retirada do radical DPPH). Também foi analisada a estabilidade oxidativa do chá por meio da quantificação de mangiferina, fenólicos totais e atividade antioxidante, utilizando dois tratamentos de conservação (refrigeração 4 ± 2°C e temperatura ambiente 20 ± 2°C) nos tempos 0, 24 e 48 horas. Finalmente, uma análise sensorial foi realizada para avaliar a aceitação do chá pelos consumidores. Para o ensaio biológico, ratos machos Wistar adultos foram alimentados com dieta hiperlipídica (n=16) durante sete semanas para induzir a obesidade. Finalizado este período, os ratos foram divididos considerando a homogeneidade dos fatores de risco metabólico (peso corporal, glicemia de jejum e Índice Lee) em dois grupos (n=8): dieta hiperlipídica (HFD) e dieta hiperlipídica suplementada com 50 mL de chá, em substituição à água (HFD-TT). Um grupo controle (n=8) recebeu dieta AIN-93 M. O experimento teve duração de 8 semanas.

Foram avaliados parâmetros biométricos, bioquímicos e histomorfométricos. Além disso, foi realizado o teste de tolerância à glicose, controle de consumo de dieta e do chá, e foi determinado o nível de expressão de PPAR- γ , FAS e LPL no tecido adiposo epididimal. Os resultados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA) seguida dos testes Tukey ou Dunnett (paramétricos) e Dunn's (não paramétricos). Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão ou média \pm erro padrão. O nível de significância utilizado em todas as análises foi $P < 0,05$. Houve diferenças significantes na concentração de mangiferina entre os tipos de folha para as três concentrações nas três técnicas ($P < 0,05$). O chá preparado por decocção utilizando folhas novas na concentração 5% (m/v), apresentou o maior valor de mangiferina ($0,72 \pm 0,08 \text{ mg.mL}^{-1}$). O chá apresentou estabilidade durante 48 horas após seu preparo em ambos os tratamentos avaliados e houve aceitação da bebida pelo consumidor. Alterações como tecido adiposo total aumentado, adipócitos com maior tamanho e acúmulo de lipídeos no tecido hepático, foram observadas nos animais alimentados com a dieta hiperlipídica. Foi observado que a dieta hiperlipídica, elevou os níveis da citocina pro-inflamatória TNF- α e reduziu a expressão de PPAR- γ . O chá teve efeitos anti-inflamatórios por meio da elevação dos níveis da citocina IL-10 e expressão de mRNA de LPL e PPAR- γ . Análises histomorfométricas evidenciaram os efeitos modulatórios do chá na redução do acúmulo de lipídeos e gotículas de gordura no tecido hepático e epididimal. Concluiu-se que o chá de folhas de *M. indica* é viável para ser consumido como bebida fonte de compostos bioativos, tendo efeitos anti-obesidade por meio da regulação da expressão de genes que melhoram o estado metabólico dos tecidos adiposo epididimal e hepático.

ABSTRACT

MEDINA RAMÍREZ, Natalia, M.Sc, Universidade Federal de Viçosa, February of 2015. **Modulation of metabolic risk associated to obesity, by *Mangifera indica* L. leaves tea in rats fed by high fat diet.** Adviser: Sônia Machado Rocha Ribeiro. Co-advisers: Hércia Stampini Duarte Martino and José Humberto de Queiroz.

Obesity is a metabolic disorder characterized by the body fat accumulation, caused by genetic and environmental factors (inadequate eating habits, sedentary lifestyle, and smoking). It is associated with inflammatory processes, oxidative stress, cardiovascular diseases, type II diabetes, hypertension and dyslipidemia. This study aimed to develop a *Mangifera indica* L. leaves tea, Ubá variety and the effects in the modulation of risk factors associated with obesity in rats fed by high-fat diet. This work was performed at the Experimental Nutrition and New Product Development Laboratories, Federal University of Viçosa, Minas Gerais (Brazil). Teas were prepared from young and mature leaves of *Mangifera indica* L., processed (crushed and dried) at the concentrations of 1.25, 2.5 and 5% (g.mL⁻¹) using infusion, decoction and ultrasound techniques. It was determined the concentration of mangiferin by HPLC, being selected the tea with greater efficiency in obtaining this xanthone for the biological effects study. Tea with high mangiferin content was characterized determining pH, density, total phenolics (using the Folin-Ciocalteu) and antioxidant activity (DPPH test). The oxidative stability of tea was analyzed by quantification of mangiferin, total phenolics and antioxidant activity, using two preservation treatments (cooling 4 ± 2 ° C and room temperature 20 ± 2 ° C) at the times 0, 24 and 48 hours. Sensorial analysis was performed to evaluate the acceptance of tea by consumers. For the assay, Wistar adult male rats were fed by high fat diet for seven weeks to induce obesity. After, they were divided, considering the homogeneity of metabolic risk factors (body weight, fasting glucose and Lee Index), in two groups (n = 8): fat diet (HFD) and high-fat diet supplemented with 50 ml of tea, replacing the water (HFD-TT). A control group (n = 8) received the AIN-93 diet M. The experiment lasted 8 weeks. We evaluated biometric, biochemical and morphometric variables. In addition, it was tested the glucose tolerance, control of food intake and energy, and it was determined the level of gene expression in epididymis adipose tissue. The results were analyzed by analysis of variance (ANOVA) followed by Dunnett's or Tukey's test (parametric) and Dunn's (non-parametric). Data were expressed as mean \pm standard deviation or mean \pm

standard error. The significance level for all analyses was $P < 0.05$. There were significant differences in mangiferin concentration between the types of sheet for the three techniques in three concentrations ($P < 0.05$). The tea decoction prepared by using new leaves in the concentration 5% (w / v), had the highest value of mangiferin (0.72 ± 0.08 mg.mL⁻¹). The tea was stable for 48 hours after its preparation in both treatments and was well accepted by the consumer. Changes such as increased overall adipose tissue, adipocytes with larger size and lipid accumulation in the liver tissue were attributed to high-fat diet. In addition it was observed that the high fat diet, raised levels of pro-inflammatory cytokine TNF- α and reduce the PPAR- γ expression. The tea demonstrated anti-inflammatory effects by elevating the cytokine IL-10 levels and LPL and PPAR- γ mRNA expression. Histomorphometric analyzes showed the modulatory effects of tea on reducing the lipids accumulation and fat droplets in liver and epididymal tissue. It is concluded that the *M. indica* leaves tea is feasible to be consumed as a beverage source of bioactive compounds having anti-obesity effects through the genes expression regulation, improving the metabolic state of visceral adipose and liver tissue.

INTRODUÇÃO GERAL

A Síndrome Metabólica (SM) engloba uma série de alterações metabólicas desencadeadas pelo estresse oxidativo, inflamação e excesso de adiposidade corporal, sendo que estas constituem alvos de ações terapêuticas no controle da síndrome (DEVALARAJA *et al.*, 2011). A SM também pode ser precursora no desenvolvimento de doenças cardiovasculares, diabetes mellitus tipo 2, hipertensão e dislipidemia, uma vez que a resistência insulínica parece ser um mecanismo que sustenta a fisiopatologia de tais enfermidades (SIRDAH *et al.*, 2012). O estresse oxidativo e a inflamação são dois importantes mecanismos envolvidos nas alterações metabólicas da obesidade, relacionadas com as doenças cardiovasculares e o diabetes (OTANI, 2011).

A manga (*Mangifera indica* L.) é uma das frutas comestíveis mais conhecidas e cultivadas no mundo. Na atualidade ocupa o quarto lugar na produção mundial de frutas sendo cultivada em mais de 100 países tanto tropicais como subtropicais (FAOSTAT, 2011). Dentre as variedades cita-se a manga Ubá, presente na zona da Mata Mineira, no estado de Minas Gerais (Brasil). Esta variedade de manga, possui excelentes qualidades de sabor e aroma, sendo aceita pelo consumidor para consumo *in natura*, e também muito utilizada na agroindústria, principalmente na fabricação de sucos. A manga Ubá é reconhecida por seu teor de compostos bioativos, com grande potencial funcional (BENEVIDES *et al.*, 2008). Estudos com mangas identificaram diversos compostos, incluindo flavonoides, xantonas (mangiferina), galotaninos e benzofenonas (DORTA *et al.*, 2014). Yakubu *et al.* (2015), reportaram que o extrato aquoso de folhas de *M. indica* apresentou atividade antidiarreica em ratos. Por outro lado, Brito (2013) avaliou o efeito de um extrato etanólico com folhas de *M. indica* na modulação da expressão dos receptores CB1, PPAR γ e adipocinas em ratos alimentados com dieta de cafeteria, encontrando efeitos benéficos auxiliando o tratamento dos fatores de risco da síndrome metabólica, como é a obesidade.

A mangiferina pertence ao grupo das xantonas sendo, um composto fenólico característico da família Anacardiaceae. Estudos evidenciaram as atividades farmacológicas desta xantona, incluindo as anti-inflamatórias, antioxidantes, antidiabetes, imunomodulatórias e antitumorais (DUANGA *et al.*, 2011).

Estudos *in vitro*, *in vivo* e *ex vivo* mostraram que compostos fenólicos podem modular a expressão de genes envolvidos em vias inflamatórias e de adipogênese, atenuando

parâmetros de risco metabólico na obesidade e diminuindo a ingestão alimentar (ALVES N.G *et al.*, 2012).

A compreensão sobre os efeitos de compostos bioativos em alvos moleculares no tecido adiposo humano para uso terapêutico na obesidade é ainda difícil, devido às limitações para realização de estudos *in vivo*. O uso de ratos alimentados com dieta de cafeteria foi apontado como um modelo adequado para estudar a síndrome metabólica humana, pois há presença de inflamação no tecido adiposo e alterações hepáticas que simulam a esteatose presente na obesidade humana (SAMPEY *et al.*, 2011). Na atualidade tem sido estudado o efeito de chás na obesidade induzida com dieta hiperlipídica denominada HFD (High Fat Diet) em ratos. Foram demonstradas atividades inibitórias, supressoras e anti-inflamatórias de alguns compostos bioativos de chás Goishi, Verde e Preto (LI SHEN *et al.*, 2012; JOBU *et al.*, 2013; YAJIMA, 2014). O potencial de compostos bioativos para modular a expressão gênica na síndrome metabólica tem sido investigado por meio de modelos animais. A obesidade induzida em ratos por dieta hiperlipídica (HFD) e dieta de cafeteria é considerada um modelo robusto para estudar a síndrome metabólica (IDF, 2005).

O excesso de adiposidade corporal é um dos componentes da síndrome metabólica, a qual apresenta crescente prevalência na população atual. O interesse em buscar estratégias terapêuticas para o controle desta doença é devido aos seus efeitos negativos sobre a saúde, qualidade de vida e custo do tratamento de suas comorbidades. Dentro deste contexto, existe um grande interesse nos alimentos com propriedades funcionais, ricos em compostos fenólicos e com potencial antioxidante. Dentre eles, destacam-se as bebidas naturais, incluindo sucos e infusões contendo frutas e variedade de plantas, as quais podem ser utilizadas como fonte de fitoquímicos antioxidantes e anti-inflamatórios, que possam ser coadjuvantes no controle do risco metabólico da obesidade.

A ideia de buscar um produto alimentício que possa ser utilizado como coadjuvante no tratamento da obesidade, surge da necessidade de controlar as alterações metabólicas presentes nestes indivíduos, os quais muitas vezes dificultam tanto a redução de peso corporal, quanto o controle do risco de comorbidades. Estudar uma bebida feita com as folhas da mangueira (*M. indica*, variedade Ubá), é uma alternativa tanto para conhecer seu potencial funcional e para modular os fatores de risco da síndrome metabólica, como para propor inovações no setor da agroindústria de bebidas naturais no Brasil e agregar valor aos produtos alimentícios.

CAPITULO 1

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1. Síndrome metabólica: mecanismos e alterações

A síndrome metabólica (SM) foi aventada na década de 80, apontando a associação de fatores de risco metabólico presentes na obesidade com as doenças cardiovasculares. Atualmente, denomina-se síndrome metabólica a um conjunto de fatores presentes na obesidade e que aumentam o risco de desenvolver doenças cardiovasculares ou diabetes tipo 2 (GRUNDY *et al.*, 2004).

Não há um critério unânime acerca da definição da SM, a qual inclui um conjunto de alterações metabólicas, constituídas por vários componentes: obesidade abdominal, dislipidemia aterogênica, elevação de pressão arterial, resistência insulínica e intolerância à glicose, estados pro-inflamatório e protrombótico (SIRDAH *et al.*, 2012; BREMER; JIALAL, 2013). A SM e a obesidade são entidades clínicas complexas e heterogêneas, associadas ao componente genético, cuja expressão é influenciada pelos fatores ambientais, sociais, culturais, econômicos e outros (GARCIA *et al.*, 2008). Fatores genéticos (genes reguladores de lipólise, termogênese, metabolismo da glicose) e ambientais (sedentarismo, obesidade central e abdominal, dieta rica em gorduras e carboidratos) são os principais fatores associados à presença da SM, sendo responsáveis pelo aumento da sua prevalência na população atual (ALBORNOZ; PÉREZ, 2012).

Ainda não há consenso quanto aos critérios para definir ou identificar clinicamente a SM, embora haja concordância quanto aos seus componentes, mas há diferenças na proposição dos valores de pontos de corte para alguns parâmetros. A Associação Americana de Saúde propôs no ATP III (Adult Treatment Panel III) que se pelo menos três dos cinco componentes associados à SM estiverem presentes, seu diagnóstico poderia ser estabelecido (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). A Tabela 1 apresenta os critérios para diagnóstico clínico da SM em adultos, segundo três organismos reconhecidos mundialmente.

Tabela 1

Critérios para diagnóstico da síndrome metabólica em adultos.

ENTIDADE	PARÂMETROS				
	Obesidade Abdominal	Triacilgliceróis (mg/dL)	Pressão arterial (mmHg)	Glicose de jejum (mg/dL)	HDL (mg/dL)
Associação Americana de Saúde (ADA, 2014)	PC: Homens: >102 Mulheres: >88	Homens: ≥150 Mulheres: ≥150	Homens: ≥130/ ≥85 Mulheres: ≥130/ ≥85	Homens: ≥100 Mulheres: ≥100	Homens: <40 Mulheres: <50
Organização Mundial de Saúde (WHO, 1998)	IMC > 30,0	Adultos: >150	Adultos: ≥ 140/90	Adultos: ≥100	Homens: <35 Mulheres: <40
Federação internacional de diabetes (IDF, 2005)	PC: Homens: ≥ 94 Mulheres: ≥ 84	≥ 150 [1.7 mmol/L]	Adultos: ≥130/ ≥85	≥ 100 [5.6 mmol/L]	

PC: Perímetro de cintura (cm); IMC: índice de massa corporal (kg/m²); HDL: lipoproteína de alta densidade.

1.1. Componentes da SM

1.1.1. Obesidade abdominal

Há evidências de que a deposição da gordura na região abdominal, referida como visceral, epididimal, omental ou intra-abdominal, é um fator mais importante na associação entre obesidade e síndrome metabólica do que o excesso de gordura corporal isoladamente, medido como índice de massa corporal (VAZQUEZ *et al.*, 2007; FABBRINI *et al.*, 2010; KAWAI; ROSEN, 2010; DESPRÉS, 2012; GUEBRE-EGZIABHER, 2013; TCHERNOF; DESPRÉS *et al.*, 2013). A Organização Mundial de Saúde (2015) estabeleceu que um indivíduo apresenta obesidade se tiver o índice de massa corporal superior a 30.

O aumento da adiposidade abdominal está associada também ao aumento das citocinas pro-inflamatórias (REYES, 2010) tais como fator alfa de necrose tumoral (TNF- α), interleucina 6 (IL-6) e proteína quimioestática de monócitos (MCP-1), levando a um estado de inflamação de baixo grau (KONRAD, 2012; TCHERNOF; DESPRÉS *et al.*, 2013).

1.1.2. Dislipidemia aterogênica

A dislipidemia associada com o risco cardiometabólico é caracterizada por aumento de trigliceridemia (≥ 150 mg/dL) e baixas concentrações plasmáticas de lipoproteína de alta densidade (HDL < 40) (SALAZAR *et al.*, 2014; ADA, 2014).

1.1.3. Elevada pressão arterial

Por causa de sua associação com a obesidade, a hipertensão foi incluída na lista de componentes da SM, embora alguns investigadores acreditem que a mesma apresenta menos envolvimento com os mecanismos de risco metabólico, em comparação com os demais componentes. A elevação de níveis pressóricos ocorre comumente em indivíduos portadores de resistência insulínica, condição na qual há elevação da concentração de ácidos graxos livres (AGL) no plasma, com a presença de esteatose hepática e dislipidemia aterogênica (GRUNDY, 2004).

1.1.4. Resistência insulínica

Resistência insulínica (RI) é uma condição em que existe uma captação inadequada da glicose dependente da insulina, sendo que o pâncreas continua produzindo a insulina, mas a sua ação está prejudicada e a concentração de glicose no sangue permanece elevada, caracterizando a intolerância à glicose, o que favorece o desenvolvimento de doenças tais como as cardiovasculares e o diabetes (BLOOMGARDEN, 2005).

A concentração de insulina no sangue é resultante do equilíbrio entre a sua produção pelo pâncreas e a sua captação ou degradação pelo fígado e outros tecidos, incluindo o renal e os periféricos (músculo e tecido adiposo) (HOME, 2008; ARDER *et al.*, 2013)

O aumento de AGL no sangue inibe a captação da insulina e altera os dois mecanismos anteriores que controlam sua concentração no sangue. Um estado hiperinsulinêmico causa diminuição dos receptores de insulina por meio de regulação gênica, o que contribui para a diminuição da remoção de insulina do meio circulante e manutenção do estado hiperinsulinêmico (STEARNS, 2012).

1.2. Patogênese e mecanismos fisiopatológicos da síndrome metabólica

Na síndrome metabólica há a interação multifatorial que envolve principalmente alterações do metabolismo dos adipócitos, resistência insulínica e vários outros fatores tais como disfunção hepática, vascular e imunológica, os quais são mediadores do mecanismo fisiopatológico da SM (Figura 1).

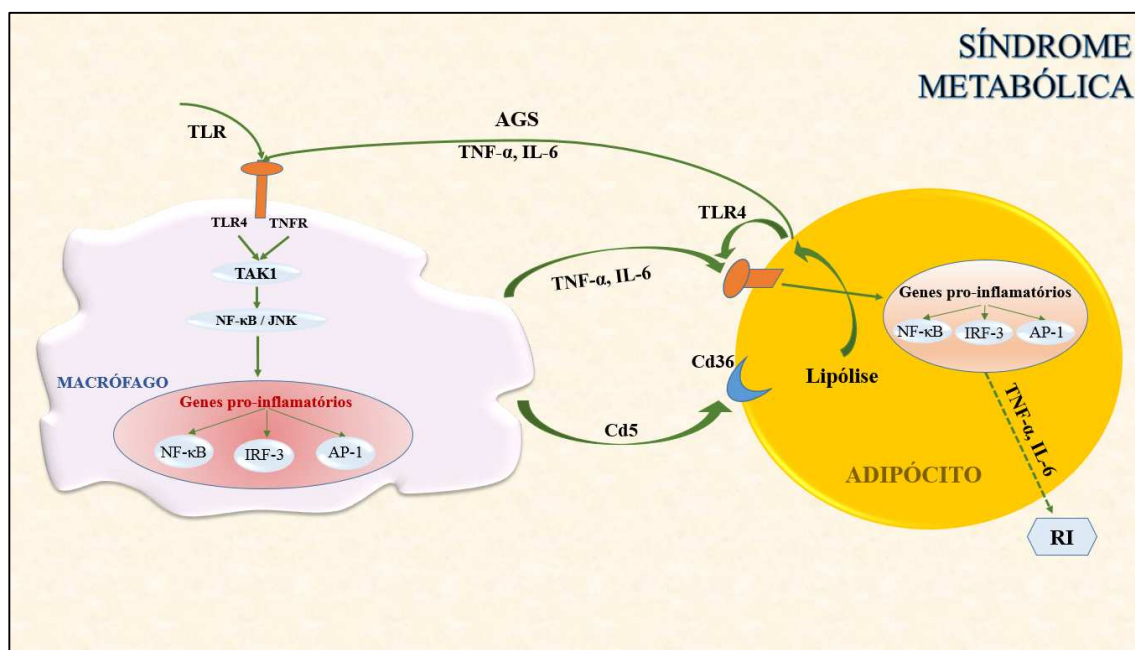


Figura 1. Interações de componentes moleculares e o tecido adiposo na síndrome metabólica.

Abreviações: AGS: ácidos graxos saturados; AP-1: proteína ativadora 1; Cd: cluster de diferenciação; IL-6: interleucina 6; IRF-3: Fator regulatório do interferon tipo 3; JNK: Quinases c-Jun N-terminal; NF- κ B: fator nuclear kappa B; TAK1: Quinase ativada 1; TNF- α : fator alfa de necrose tumoral; TLR: receptores tipo Toll.

Fonte: Adaptado (Nature Medicine, 2013).

Ácidos graxos saturados da dieta (AGS) ativam os receptores de tipo Toll (Toll like receptor TLR 2/4) nos macrófagos do tecido adiposo, levando a uma ativação da cascata dos sinalizadores inflamatórios IRF-3/AP-1/NF- κ B. Isto induz a produção de citocinas inflamatórias tais como IL-1 β e TNF- α que inibem a ação da insulina nos adipócitos. Os macrófagos liberam Cd5 induzindo à expressão de quimiocinas numa forma dependente de TLR4, favorecendo a formação de monócitos inflamatórios e macrófagos do tecido adiposo. A inflamação de baixo grau ou subclínica se estabelece no tecido adiposo e em nível sistêmico afetando outros órgãos como o fígado e músculo, produzindo a resistência insulínica (RI).

Com a RI são desencadeados problemas cardiovasculares, diabetes, arteriosclerose, e outras (NATURE MEDICINE, 2013). Alguns biomarcadores envolvidos na homeostase energética, inflamação e resistência insulínica na síndrome metabólica são descritos na Tabela 2 e os mecanismos de interação dos mesmos com a síndrome metabólica são apresentados na Figura 2. Destaca-se que fatores genéticos e ambientais participam da

Tabela 2

Biomarcadores associados à síndrome metabólica.

Marcador	Efeitos e mecanismos de ação
<i>Adiponectina</i>	Proteína com efeito antiaterogênico. À medida que aumenta a obesidade os níveis de adiponectina no plasma diminuem e aumenta a resistência insulínica. Melhora a sensibilidade à insulina, efeito anti-inflamatório e antiapoptótico. Portanto, melhora a resistência insulínica e a tolerância à glicose.
<i>Resistina</i>	Proteína específica do adipócito associada à resistência insulínica. Pode contribuir para a inflamação sistêmica.
<i>Interleucina 6 (IL-6)</i>	Citocina pro-inflamatória e diminui a sensibilidade insulínica. Contribui para o aumento do colágeno na parede celular e aumenta a síntese de fibrinogênio, favorecendo a hipertensão. Participa da lipólise de triacilgliceróis aumentando a liberação de AGL, que está fortemente relacionado à resistência insulínica.
<i>Leptina (LP)</i>	Efeito anorexigênico, com efeito na diminuição do apetite. Favorece ativação do sistema nervoso simpático que leva à retenção de sódio, vasoconstrição elevando a pressão arterial.
<i>Fator alfa de necrose tumoral (TNF-α)</i>	Citocina pro-inflamatória. Favorece a resistência insulínica ao alterar a capacidade de fosforização de resíduos de tirosina no receptor (IRS-1), necessário para a produção do sinal intracelular do hormônio.
<i>Receptor ativado do peroxissoma (PPARγ)</i>	Induz a diferenciação de adipócitos e acúmulo de lipídios mediante a regulação de genes da adipogênese e a absorção e metabolismo de lipídios. Diminui a lipólise e regula a expressão de proteínas relacionadas à resistência insulínica. Favorece a termogênese estabilizando o sistema nervoso simpático.
<i>Sirtuina (SRT)</i>	Aumenta a biogênese mitocondrial, o metabolismo no músculo e a gliconeogênese no fígado. Atua em conjunto com o outros genes, favorecendo a secreção de insulina e melhoram o metabolismo.
<i>Proteína C reativa</i>	Proteína de fase aguda, sintetizada pelo fígado e participa da cascata de inflamação. Favorece os eventos agudos coronários.

Fonte (MORENO, 1997; NATALI; FERRANNINI, 2005; PEREZ; MEDINA, 2011; ZAFRIRA *et al.*, 2013)

síndrome metabólica, desencadeando várias alterações no metabolismo, o que leva ao rompimento da homeostase metabólica. A elevação crônica dos ácidos graxos livres (AGL) circulantes causa a lipotoxicidade e a glicotoxicidade e favorecendo o aumento das citocinas inflamatórias (TNF- α e IL-6) com a diminuição da adiponectina, favorecendo a resistência insulínica. O estado pro-inflamatório com aumento de lipoproteína de baixa densidade (LDL – *Low Density Lipoprotein*) e triacilgliceróis favorece a dislipidemia e a disfunção endotelial, levando à hipertensão arterial.

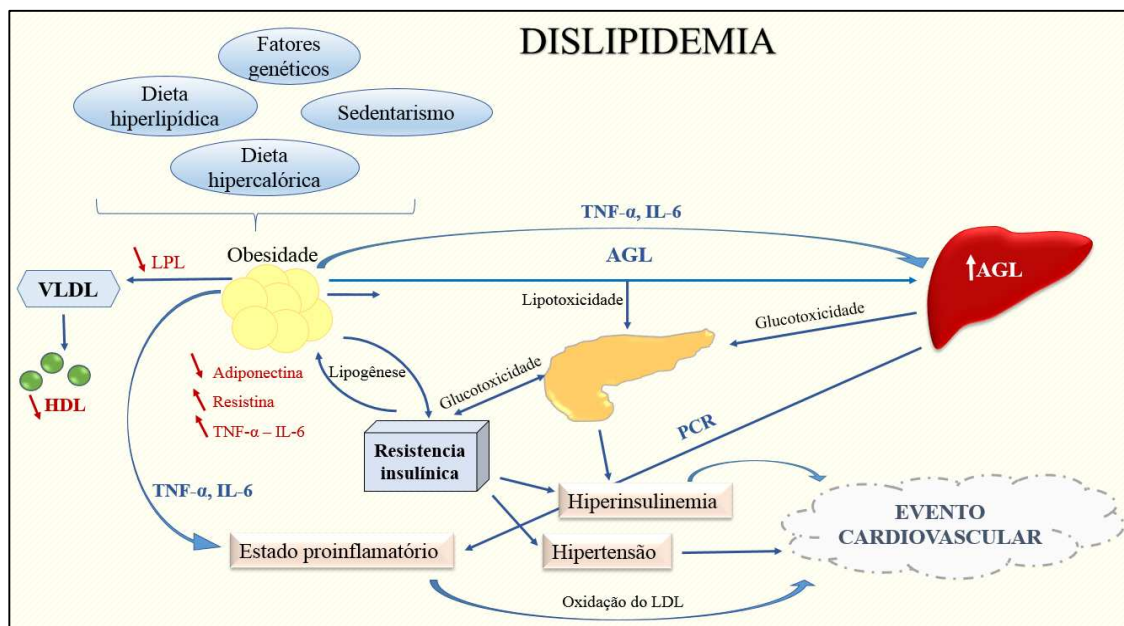


Figura 2 - Biomarcadores e mecanismos fisiopatológicos na síndrome metabólica.

Abreviações: AGL: ácidos graxos livres; HDL: lipoproteína de alta densidade; IL-6: interleucina 6; LPL: lipase lipoproteica; PCR: proteína C reativa; TNF- α : fator alfa de necrose tumoral.

Fonte: Adaptado (LÓPEZ *et al.*, 2004; RENDON; LURBE, 2007; BASTIDAS *et al.*, 2011)

1.3. Metabolismo dos adipócitos na síndrome metabólica

O adipócito tem como função principal o armazenamento de lipídios, como reserva energética, especificamente triacilgliceróis e colesterol esterificado. Entretanto, participa da regulação do equilíbrio energético do organismo, por meio da secreção de peptídeos ou hormônios com ação endócrina, e autócrina. Existem dois tipos de adipócitos, o branco e o marrom. O primeiro é especializado em armazenar lipídios como reserva energética a longo prazo e se caracteriza por ter uma vesícula única de gordura, ocupando todo o volume celular e deixando o citosol, organelas e o núcleo numa pequena área periférica. O segundo, tem menor quantidade de gordura armazenada em maior número de vesículas de menor tamanho, apresentando maior quantidade de mitocôndrias; sua função principal é gerar calor e regular a homeostase energética do organismo (TARIQ *et al.*, 2013).

Os adipócitos interagem com outros tecidos metabolicamente ativos por meio da liberação de fatores de secreção (adipocinas) que são expressas em níveis baixos nos adipócitos saudáveis. Estes fatores regulam respostas metabólicas relacionadas ao suprimento de nutrientes e produção de oxigênio para o tecido adiposo branco, o fígado

e o músculo (melhoram a sensibilidade à insulina), células do pâncreas e miócitos (garantem sobrevivência e função) e o epitélio (NATURE MEDICINE, 2013).

A homeostase dos adipócitos é mantida por vias metabólicas: lipólise e lipogênese. A lipólise é a via de mobilização do lipídio por meio da hidrólise das ligações ésteres nos triacilgliceróis (TG), resultando na formação de ácidos graxos livres (AGL) e glicerol. É uma via metabólica estimulada por diferentes hormônios catabólicos como, glucagon, epinefrina, norepinefrina, hormônio do crescimento e cortisol, por meio de um sistema de tradução de sinais. A lipólise desempenha um papel fundamental na obtenção de energia e na oxidação de triacilgliceróis e ocorre mediante a ativação da enzima lipase hormônio sensível (LHS), pela adrenalina. Os produtos da lipólise, ácidos graxos e glicerol, são liberados na circulação sanguínea para serem utilizados por outros tecidos; os ácidos graxos são oxidados liberando energia e o glicerol é conduzido ao fígado para participar na síntese de glicose (VERNON, 1992; FRÜHBECK *et al.*, 2014; SCHWEIGER *et al.*, 2014).

A lipogênese é uma reação bioquímica na qual os carboidratos e proteínas em excesso, são convertidos em ácidos graxos e esterificados para formar triacilgliceróis e gordura de reserva. Este processo ocorre principalmente no período pós-prandial e sua função principal é armazenar o excesso de energia consumido. O principal órgão lipogênico é o fígado e a principal enzima envolvida na lipogênese é a acetil CoA carboxilase. A lipogênese ocorre no citoplasma das células e necessita de um excesso de carboidratos para ocorrer (SCHUTZ, 2004; LAFONTAN, 2014). Estes dois processos constituem vias metabólicas diferenciadas porque a lipogênese está relacionada com a síntese de triacilgliceróis e a lipólise com o catabolismo dos triacilgliceróis. Basicamente, a lipogênese favorece um aumento do tecido adiposo e a lipólise o reduz (Figura 3). Na lipogênese, a insulina se une ao seu receptor situado na superfície dos adipócitos e estimula o deslocamento de GLUT4 para a membrana celular, possibilitando a captação de glicose pela célula. A glicose intracelular é convertida em glicerol-3-fosfato. A insulina ativa a LPL situada na superfície do endotélio vascular, liberando os ácidos graxos, a partir dos quilomicrons e VLDL. Os ácidos graxos são transferidos aos adipócitos por meio de transportadores de ácidos graxos (FAT), proteína transportadora de ácidos graxos (FATP) e proteína de ligação de ácidos graxos (FABP). Finalmente os ácidos graxos estão esterificados em triacilgliceróis.

Na lipólise, as catecolaminas estimulam os receptores adrenérgicos localizados na superfície celular dos adipócitos, conduzindo a translocação da lipase hormônio sensível

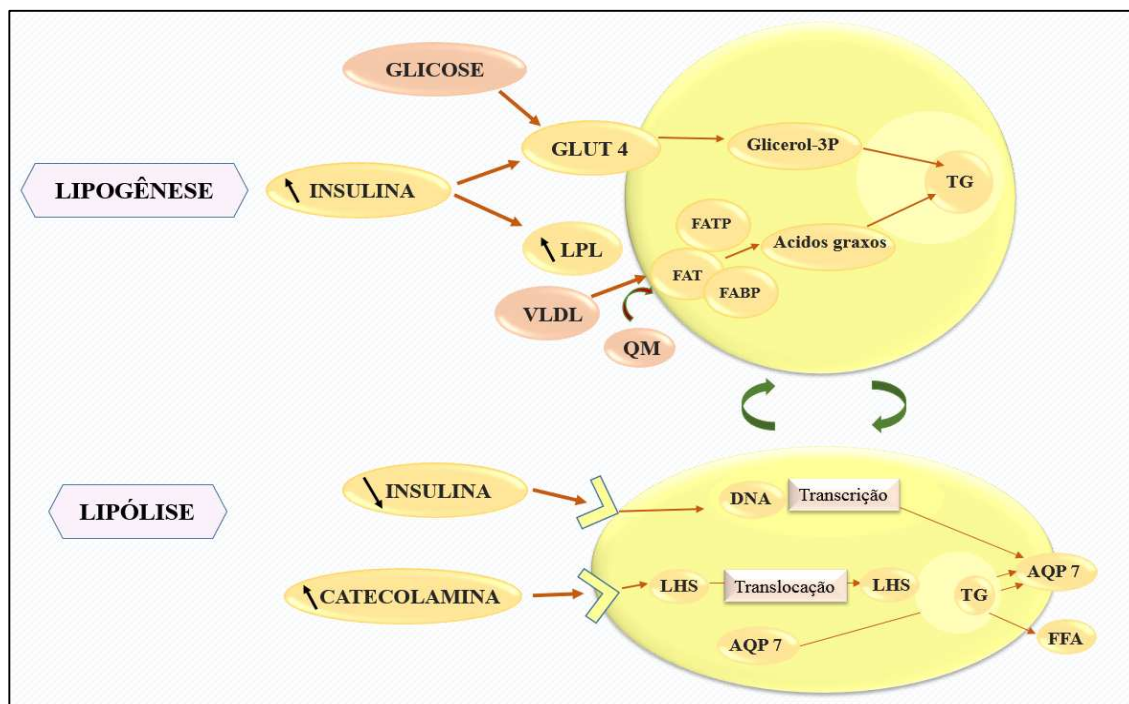


Figura 3. Regulação da lipólise e lipogênese nos adipócitos.

Abreviações: AQP7: aquaporina 7; FABP: proteína de ligação de ácidos graxos; FFA: ácidos graxos livres; FAT: transportador de ácidos graxos; FATP: proteína transportadora de ácidos graxos; Glicerol-3-P: glicerol-3-fosfato; GLUT4: transportador 4 de glicose; LHS: lípase hormônio sensível; LPL: lipase lipoproteica; QM: quilomicrons; TG: triacilgliceróis; VLDL: Lipoproteínas de muito baixa densidade.

Fonte: Adaptado (MAEDA *et al.*, 2008).

(LHS) para as partículas de lipídios, e os estímulos relacionados a este evento conduzem a inserção da aquaporina (AQP7) na membrana celular. Os níveis de mRNA de AQP7 se elevam em resposta à diminuição da atividade da cascata de sinalização da insulina. Estas duas vias de regulação diferentes asseguram a liberação eficiente de glicerol dos adipócitos, em condições de jejum (MAEDA *et al.*, 2008).

1.4. Hiperplasia e Hipertrofia do tecido adiposo

O desequilíbrio crônico entre o alto consumo e baixo gasto energético pelo organismo dos mamíferos causa uma alteração no armazenamento de energia na forma de depósitos intracelulares de triacilgliceróis nos adipócitos. O incremento da gordura corporal é manifestado pelo acúmulo de lipídios intracelulares no adipócito, aumentando seu tamanho; este fenômeno é conhecido como hipertrofia e causa uma diminuição de adiponectina e um aumento de adipocinas inflamatórias, com redução no fluxo sanguíneo, permitindo a infiltração de macrófagos.

Na Hiperplasia, o acúmulo de lipídios intracelulares no tecido adiposo ocorre em duas etapas: um aumento do número de preadipócitos e a diferenciação deste em adipócitos maduros (por meio da secreção de adiponectina), levando ao aumento do número de adipócitos. Ao contrário da hipertrofia, na hiperplasia há aumento de adiponectina e redução de adipocinas inflamatórias (Figura 4) (FERRANTI; MOZAFFARIAN, 2009; FLORES *et al.*, 2011).

Um estudo mostrou que adipócitos hipertróficos e hiperplásicos apresentam uma menor densidade dos receptores de insulina e maior número de receptores adrenérgico 3β , o que facilita a infiltração dos monócitos no estroma adiposo, iniciando o processo inflamatório entre os adipócitos (DENG; SCHERER, 2010). Outros estudos sugerem que os fatores $TNF-\alpha$, HGF-1 e $PPAR-\gamma$, estimulam a hiperplasia, já que têm efeitos na transcrição de genes de proteínas envolvidas neste mecanismo (AVRAM *et al.*, 2007; BAHCECI *et al.*, 2007).

1.5. Mecanismos de inflamação e de estresse oxidativo

1.5.1. Inflamação

A inflamação é um processo que ocorre em resposta a uma elevada secreção de citocinas e substâncias inflamatórias. Inicia-se com o reconhecimento dos sinais, que podem ser de origem infecciosos ou inflamatórios, ocasionando a ativação celular e síntese de proteínas. À medida que aumenta o tecido adiposo modifica-se a produção de

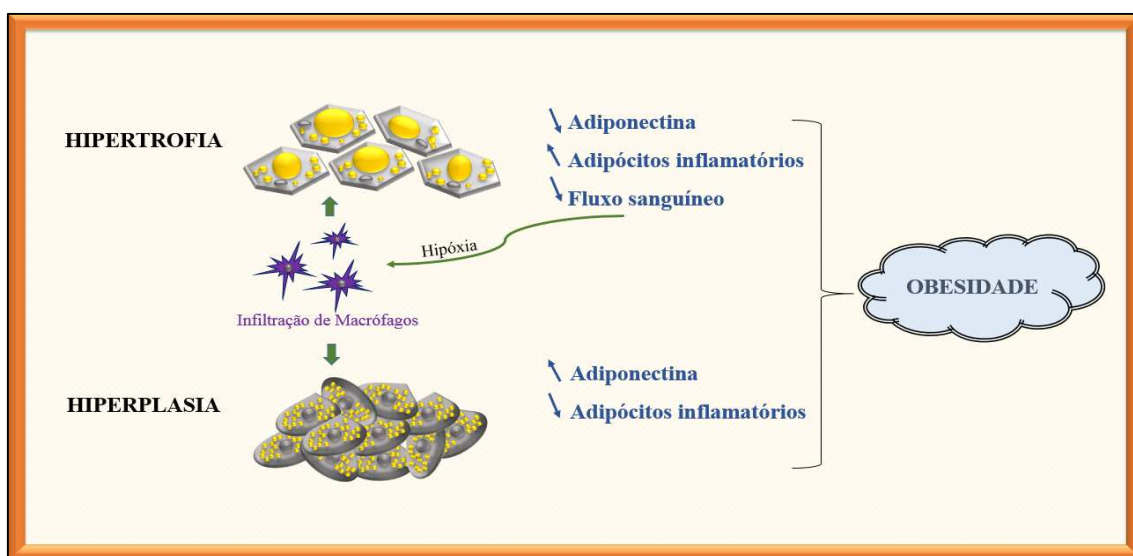


Figura 4. Hiperplasia e hipertrofia de adipócitos na obesidade.

Fonte: Adaptado (TORRES *et al.*, 2012).

adipocinas e são desencadeados vários processos fisiopatológicos relacionados com a inflamação. Neste processo ocorre um aumento de adipocinas, quimiocinas e outros. Vários fatores reguladores da inflamação expressos nos adipócitos são TNF- α , IL-6, inibidor ativador plasminógeno (PAI-1), proteína quimioatática de monócitos-1 (MCP1), IL-1 β , IL-8, 10, 15, fator inibidor de leucemia (LIF), fator de crescimento do hepatócito (HGF), a polipoproteína A3 (SAA3), fator inibitório da migração de macrófagos (MIMF), moduladores inflamatórios como leptina, adiponectina e resistina, assim como a proteína C reativa (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1995; BLANCAS *et al.*, 2010).

Um estudo realizado em adolescentes com obesidade central, mostrou que este tipo de obesidade, reduz o nível de adiponectina no plasma por meio do aumento de adipocinas pro-inflamatórias como o TNF- α , IL-1 β e leptina, sugerindo a existência do equilíbrio entre a adiponectina e a leptina para controlar os processos inflamatórios (EL-WAKKADA *et al.*, 2013). Estudos demonstraram que a leptina, IL-6 e TNF- α , aumentam na obesidade e os efeitos inflamatórios alteram a sinalização celular (STELZERA *et al.*, 2012; ARNOLDUSSEN *et al.*, 2014). Outros estudos sugerem que a sirtuina e a adiponectina têm efeito anti-inflamatório, antioxidante e regulam a secreção de citocinas pro-inflamatórias (FANTUZZI, 2008; FERNANDES *et al.*, 2012; CHENG *et al.*, 2014).

1.5.2. Estresse oxidativo (EO)

O estresse oxidativo é um estado da célula no qual a homeostase de óxido-redução intracelular (equilíbrio entre pro-oxidantes e antioxidantes) se encontra alterada em favor do estado oxidante. Este desequilíbrio ocorre quando há uma excessiva produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) e/ou deficiência nos mecanismos antioxidantes, conduzindo ao dano celular. O estresse oxidativo está presente em processos patológicos como a obesidade, diabetes, doença cardiovascular, dislipidemia, câncer e processos aterogênicos (MATSUDA; SHIMOMURA, 2013). Está caracterizado pela grande diminuição da capacidade redutora dos pares redox como a glutatona, podendo causar morte celular e uma oxidação moderada (apoptose) ou intensa (necrose). Há comprovações de que o promotor da hemoxigenase (HO-1) tem pontos de união aos fatores de transcrição AP-1, AP-2 e NF-kB que também são ativados pelo EO, resultando na síntese de várias proteínas conhecidas como enzimas de resposta ao estresse. É importante considerar a participação de enzimas como defesas antioxidantes na regulação da resposta ao estresse oxidativo. A superoxidase dismutase, catalase, peroxidases,

tiorredoxinas, peroxirredoxinas, quinonas, redutase e oxigenase podem prevenir o estresse oxidativo (RÍOS, 2003; FERNANDÉZ *et al.*, 2011).

Há evidências que o estresse oxidativo está presente nos seguintes mecanismos celulares: disfunção mitocondrial, alterações em proteínas críticas para manter a homeostase e a função muscular, retículo endoplasmático, apoptose celular, senescência celular e sinalização celular anormal (WU *et al.*, 2014).

Fatores dietéticos alteram o equilíbrio entre lipogênese e lipólise, influenciam o estado inflamatório e interferem na homeostase redox do organismo. Um estudo demonstrou que uma dieta alta em gorduras afeta a tolerância à glicose, a sinalização da insulina hepática, atividade de transcrição e tradução que favorecem a lipogênese, a produção de citocinas, a sinalização pro-inflamatória e o estresse oxidativo, por meio da ação de TNF- α , SIRT-1, NF- κ B, proteína kinase e outros (PENG *et al.*, 2012). Outros estudos apresentaram uma forte relação entre a dieta consumida e o desenvolvimento do estresse oxidativo. Eles sugerem que uma dieta rica em compostos antioxidantes pode melhorar o estado oxidativo e uma dieta alta em gorduras favorece a sua presença (CARRILLON *et al.*, 2003; SUWANNAPHET *et al.*, 2010; COLACINO *et al.*, 2014; NEWSOME *et al.*, 2014).

1.5.3. Genes envolvidos em mecanismos inflamatórios e na homeostase redox

A síndrome metabólica é considerada uma entidade poligênica multifatorial, na qual participam interações metabólicas, hormonais, genéticas e o estilo de vida. Inúmeros genes são considerados de importância nos mecanismos moleculares envolvidos na patogênese e fisiopatologia da SM (GONZALES, 2003). São citados:

- * *Resistência insulínica*: TNF- α , IRS-1, adiponectina, interleucinas (IL-6,10), PPAR- γ -1,2, resistina.
- * *Obesidade*: NPY (potente estimulador do apetite), UCP-1,2, TNF- α , NF- κ B.
- * *Inflamação e estresse oxidativo*: TNF- α , leptina, IL-6, visfatina, resistina, NF- κ B.
- * *Dislipidemia*: LPL, FAS.

Na Tabela 3 são apresentados alguns genes que participam dos processos de inflamação e de estresse oxidativo.

Tabela 3

Genes envolvidos em mecanismos da inflamação e do estresse oxidativo.

Gene	Atividade
<i>Adiponectina</i>	Antioxidante, anti-inflamatória
<i>Leptina</i>	Pro-inflamatória, oxidativa
<i>Fator α de necrose tumoral</i>	Inflamatória, oxidativa
<i>Interleucina 6</i>	Pro-inflamatória, oxidativa
<i>Visfatina</i>	Inflamatória
<i>Resistina</i>	Pro-inflamatório,
<i>Superóxido dismutase</i>	Antioxidante, anti-inflamatória
<i>Catalase</i>	Antioxidante
<i>Glutationa</i>	Antioxidante
<i>Fator nuclear kappa B</i>	Pro-inflamatório

Fonte (ADEGHATE, 2008; MIRANDA; REZA, 2008; COSTA *et al.*, 2013).

2. Compostos bioativos da *Mangifera indica*.

A manga, da família *Anacardiaceae*, gênero *Mangifera* e espécie *indica*, é uma das frutas tropicais mais produzidas e comercializadas no mundo. É uma fruta nativa da Ásia, tem sido cultivada na Índia por mais de 4000 anos e atualmente é cultivada e naturalizada na maioria dos países tropicais, incluído Brasil. Várias partes da planta tem sido usadas como adstringente, anticéptico, anti-inflamatório, e para tratar anemia, hipertensão, reumatoide e asma (OJEWOLE, 2005; MOHAN *et al.*, 2013). Estudos avaliaram extratos etanólicos e aquosos a partir das folhas de *M. indica*, reportando efeitos antidiabéticos e antidiarreicos em ratos (BHOWMIK *et al.*, 2009; YACUBU; SALIMON, 2015). A seguir são relacionados os principais compostos da *M. indica*.

2.1. *Mangiferina*

A Mangiferina é uma glicosilxantona presente em várias plantas medicinais e frutíferas da família *Anacardiaceae* como a manga. Este composto bioativo tem mostrado atividade biológica benéfica incluindo a antioxidante, anti-obesidade, anti-inflamatória, neuroprotetora, imunomodulatória e hepatoprotetora (GARCÍA *et al.*, 2011; DAS *et al.*, 2012). Este composto, está sendo amplamente estudado devido ao seu potencial no

tratamento e redução de risco de doenças, principalmente as relacionadas às alterações metabólicas. Foi demonstrado em modelo animal de obesidade induzida por dieta hiperlipídica que a mangiferina regulou 87 das 865 proteínas quantificadas, sendo muitas delas envolvidas em vias metabólicas do metabolismo energético, incluindo a biogênese mitocondrial, lipogênese e melhora de função hepática (LIM *et al.*, 2014). Também foi comprovado que a mangiferina regula a glioxilase impedindo a nefropatia diabética (LIU *et al.*, 2013), tem efeito anti-inflamatório na lesão pulmonar aguda por meio da regulação da heme oxigenase-1 (GONG *et al.*, 2013), modula a expressão de genes envolvidos em vias de inflamação e proteção antioxidante relacionados com a dor neuropática (GARRIDO *et al.*, 2010) e exerce atividade antitumoral nas células do câncer de mama regulando catequinas e metaloproteinases (LI *et al.*, 2013).

Cuba produz um extrato aquoso a partir dos galhos do tronco da mangueira e casca da *M. indica*, denominado de Vimang[®], sendo este caracterizado por ter propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes e imunomodulatórias evidenciadas em estudos clínicos (GARRIDO *et al.*, 2004; RODEIRO *et al.*, 2006; PARDO *et al.*, 2006-2008; MOHAN *et al.*, 2013). Análises químicas identificaram compostos fenólicos, flavonoides, ésteres, galotaninos e mangiferina, no extrato do Vimang[®] (CAPOTE *et al.*, 1998; SINGH *et al.*, 2015). Guerra *et al.* (2010) reportaram que o extrato do Vimang[®], não induz efeitos tóxicos em ratos, nas doses de mangiferina de aproximadamente 20-2000 mg.kg⁻¹, sugerindo que poderia ser utilizado em seres humanos.

2.2. Outros compostos

Polpa, folhas, galhos, flores, casca e sementes de *M. indica* são utilizadas para a elaboração de produtos fitoterapêuticos, sendo administrados com fins medicinais (RIBEIRO; SCHIEBER, 2010). Na Tabela 4 são apresentados alguns compostos bioativos e fitoconstituintes encontrados na *M. indica*.

3. Consumo de chás: e seu uso no controle das alterações metabólicas associadas à obesidade.

Desde a antiguidade, o chá tem sido utilizado para manter e melhorar a saúde humana. Estudos vêm apresentando algumas infusões com plantas aromáticas, frutos e outros como uma alternativa coadjuvante no tratamento e redução do risco da obesidade. O chá é uma das bebidas mais consumidas no mundo. Trata-se de uma preparação feita a partir

Tabela 4Principais compostos bioativos da *Mangifera indica* L.

Compostos	Parte da <i>Mangifera indica</i> L.
<i>Fenólicos</i> : antocianinas	Casca, polpa, folhas, sementes, galhos
<i>Flavonoides</i> : quercetina,	Galhos
<i>Xantonas</i> : mangiferina	Casca, polpa, folhas
<i>Catequinas e galotaninos</i>	Polpa
<i>Ácidos</i> : gálico, cumárico, caféico, ferúlico, ascórbico.	Polpa, casca, folhas
<i>Terpenoides</i> : limoneno, sesquiterpenos, terpineno.	Flores, folhas, casca, galhos

Fonte (RIBEIRO; SCHIEBER, 2010; LUO *et al.*, 2014).

de matérias-primas alimentares provenientes de fontes naturais como flores, folhas e frutos. A medicina Chinesa, por exemplo, recomenda o uso das plantas para tratar dores, melhorar a digestão, depressão, desintoxicação, sugerindo ser energizante, capaz de atuar no aumento da longevidade (SALEH *et al.*, 2013).

As propriedades farmacológicas mais importantes dos chás mate, goishi, verde e preto são: antioxidantes, anti-inflamatório, antimutagênico, anti-obesidade (ARÇARI *et al.*, 2009), ação hipoglicemiante, efeitos redutores da hipercolesterolemia e aterosclerose (HONGLI *et al.*, 2012; JOBUI *et al.*, 2013).

O desenvolvimento de terapêuticos para o tratamento da obesidade e de suas comorbidades tem sido lento, comparado com a velocidade de aumento da ocorrência dessas desordens metabólicas (LIM *et al.*, 2014).

O uso de chás e infusões como coadjuvante no tratamento da obesidade tem se popularizado, ultimamente. Atualmente, o mercado oferece chás, sendo os mesmos amplamente disponibilizados para o consumo e são classificados de acordo com seus métodos de preparação. Chás não fermentados, semi-fermentados, fermentados e post-fermentados tem sido estudados, como fonte substâncias tais como polifenóis, catequinas, xantonas e outros compostos bioativos (MORIYAMA; TAKEDA, 2008; JOBUI *et al.*, 2013).

Estudos em extratos ricos em polifenóis e taninos provenientes dos chás verde, preto, de ervas ou de frutas como a uva, tem reportado que estes compostos são inibidores da lipase pancreática, principal responsável pela digestão de triacilgliceróis, monoacilgliceróis e ácidos graxos (CHAKRABARTI, 2009; TAGLIAZUCCHI *et al.*,

2010; SERGENT *et al.*, 2012). Também foi demonstrado que as antocianinas têm importantes atividades biológicas incluindo as antioxidantes, anticancerígenas, anti-inflamatórias, além de ter a capacidade de controlar macrófagos e proteger do estresse oxidativo e a apoptose (BADSHAH *et al.*, 2013; WUA *et al.*, 2013; LEE *et al.*, 2014).

Compostos fenólicos, incluindo as xantonas, têm efeitos inibidores na síntese de ácidos graxos (ZHONG *et al.*, 2010), antioxidantes, anticancerígenos, antimicrobianos, anti-inflamatórios, antialérgicos, analgésicos (KERIO *et al.*, 2013; IBRAHIM *et al.*, 2014) e antipiréticos (SINGH *et al.*, 2011).

Conclusão

A síndrome metabólica gera um conjunto de alterações no metabolismo levando ao desenvolvimento de múltiplas doenças, que representam um problema de saúde pública atual e cuja prevalência está aumentando. Tais doenças compreendem a obesidade, as cardiovasculares, dislipidemia, diabetes tipo II, resistência insulínica e outras.

A obesidade está caracterizada pelo aumento de peso e acúmulo de gordura corporal, produtos de uma alimentação inadequada, sedentarismo ou fatores genéticos. Nesta doença são observadas alterações metabólicas influenciadas por diferentes mecanismos e vias celulares. Atrofias nos adipócitos, apoptose, estresse oxidativo e inflamação são as principais alterações da obesidade.

A *M. indica* tem potencial como fonte de compostos bioativos com atividades funcionais. Seu principal constituinte, a mangiferina, pode ser utilizado como fitoterápico anti-inflamatório, antioxidante e anti-obesidade seja isolado ou em extrato.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA. American Diabetes Association. Diabetes Type II; 2014 [Citado 2014]; Disponível em: <http://www.diabetes.org/?loc=util-header-es>.

ALBORNOZ, R. e PÉREZ, I. Nutrición y Síndrome Metabólico. **Nutrición Clínica y Hospitalaria**, v.32, n.3, p.92-97. 2012.

ALVES N.G, SAMANTA T. VALDÉS S.T., SILVEIRA C.M., *et al.* Studies on Mechanistic Role of Natural Bioactive Compounds in the Management of Obesity An Overview. **The Open Nutraceuticals Journal**, v.5, p.193-206. 2012.

ADEGHATE, E. Visfatin: structure, function and relation to diabetes mellitus and other dysfunctions. **Current Medicinal Chemistry**, v.15, n.18, p.1851-1862. 2008.

ADER, M., STEFANOVSKI, D., KIM, S. P., *et al.* Variable hepatic insulin clearance with attendant insulinemia is the primary determinant of insulin sensitivity in the normal dog. **Obesity** (Silver Spring). PubMed, v. PubMed PMID: 24123967. Epub 2013/10/15. Eng. 2013.

ARÇARI D.P., BARTCHEWSKY W., DOS SANTOS T.W., *et al.* Antiobesity effects of yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) in high-fat diet-induced obese mice. **Obesity**, v.17, p.2127–2133. 2009.

ARNOLDUSSEN, I., KILIAAN, A. J. e GUSTAFSON, D. R. Obesity and dementia: Adipokines interact with the brain. **European Neuropsychopharmacology: Elsevier** 2014.

AVRAM, M. M., SHARPE, A. e JAMES, W. D. Subcutaneous fat in normal and diseased states: 3. Adipogenesis: From stem cell to fat cell. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.56, n.3, p.472–492. 2007.

BADSHAH, H., ULLAH, I., EUN, S. E., *et al.* Anthocyanins attenuate body weight gain via modulating neuropeptide Y and GABAB1 receptor in rats hypothalamus. **Neuropeptides, Elsevier**, v.47, n.5, p.347-353. 2013.

BAHCECI, M., GOKALP, D., BAHCECI, S., *et al.* The correlation between adiposity and adiponectin, tumor necrosis factor alpha, interleukin-6 and high sensitivity C-reactive protein levels. Is adipocyte size associated with inflammation in adults? **Journal of Endocrinological Investigation**, v.30, n.3, p.210-214. 2007.

BASTIDAS, R., CASTAÑO, J., ENRIQUEZ, M., *et al.* Relación entre Hipertensión arterial y obesidad en pacientes hipertensos atendidos en ASSBASALUD E.S.E, Manizales (Colombia). **Archivos de Medicina**, v.11, n.2, p.150-158. 2011.

BENEVIDES, S., RAMOS, A. M., STRINGHETA, P. C., *et al.* Qualidade da manga e polpa da manga Ubá. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.28, n.3, p.571-578. 2008.

BHOWMIK, A., ALI KHAN, L., AKHTER, M., *et al.* Studies on the antidiabetic effects of *Mangífera indica* stem-barks and leaves on nondiabetic, type 1 and type 2 diabetic model rats **Journal of the Bangladesh Pharmacological Society**, v.4, p.110-114. 2009.

BLANCAS, G., ALMANZA, J. C., LÓPEZ, R. I., *et al.* La obesidad como un proceso inflamatorio. **Boletín Médico, sciELO**, v.67, n.2, p.88-97. 2010.

BLOOMGARDEN, Z. T. Insulin Resistance: Causes and Consequences. **International Review of Neurobiology**. HARRIS RA, J. P.: Elsevier. 65: 1-24 p. 2005.

BREMER, A. A. e JIALAL, I. Adipose Tissue Dysfunction in Nascent Metabolic Syndrome. **Journal of Obesity**, v.2013, p.1155. 2013.

BRITO, L. F. **Efeito do extrato das folhas de manga ubá (*Mangífera indica* L.) e da mangiferina na modulação da expressão dos receptores CB1, PPAR γ e adipocinas em ratos alimentados com dieta de cafeteria.** 2013. 114p. Dissertação (Doutorado),

Post-Graduação em Bioquímica Agrícola. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa (MG). 2013.

CAPOTE, R., GUARDADO, I., NOVOA, H., et al. Chemical–analytical characterization of aqueous extract of *Mangífera indica* L. **Revista Cubana de Química**, v.10, n.111–120. 1998.

CARILLON, J., ROMAIN, C., BARDY, G., et al. Cafeteria diet induces obesity and insulin resistance associated with oxidative stress but not with inflammation: improvement by dietary supplementation with a melon superoxide dismutase. **Free Radical Biology and Medicine**, v.65, p. 254–261. 2013.

CHAKRABARTI R. Pharmacotherapy of obesity: Emerging drugs and targets. **Expert Opinion on Therapeutic Targets**, v.13, p.195-207. 2009.

CHENG, Y., TAKEUCHI, H., SONOBE, Y., et al. Sirtuin 1 attenuates oxidative stress via upregulation of superoxide dismutase 2 and catalase in astrocytes. **Journal of Neuroimmunology**, v.269, n.1-2, p.38-43. 2014.

COLACINO, J. A., ARTHUR, A., FERGUSON, K., et al. Dietary antioxidant and anti-inflammatory intake modifies the effect of cadmium exposure on markers of systemic inflammation and oxidative stress. **Environmental Research**, v.131, p.6-12. 2014.

COSTA, L. A., BADAWI, A. e EL-SOHEMY, A. Nutrigenética y modulación del estrés oxidativo. **Annales Nestlé**, v.60, n.3, p.27-36. 2012.

DAS J., GHOSH J., ROY A., et al. Mangiferin exerts hepatoprotective activity against D-galactosamine induced acute toxicity and oxidative/nitrosative stress via Nrf2–NFκB pathways. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.260, p.35-47. 2012.

DENG, Y. e SCHERER, P. E. Adipokines as novel biomarkers and regulators of the metabolic syndrome. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1212, p.E1-E19. 2010.

DESPRÉS, J. Body fat distribution and risk of cardiovascular disease: an update. **Circulation**, v.126, n.10, p.1301-13. 2012.

DEVALARAJA S., JAIN S. e YADAV H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. **Food Research International, Elsevier**. 2011.

DORTA E., GONZÁLEZ M., LOBO M., *et al.* Screening of phenolic compounds in by-product extracts from mangoes (*Mangifera indica* L.) by HPLC-ESI-QTOF-MS and multivariate analysis for use as a food ingredient. **Food Research International, Elsevier**, v.57, p.51-60. 2014.

DUANGA X., WANGA Q., ZHOUB X., *et al.* Mangiferin: A possible strategy for periodontal disease to therapy. **Medical Hypotheses**, v.76, n.4, p.486-488. 2011.

EL-WAKKADA, A., EL-MORSI, N., SIBAIHA, H., *et al.* Proinflammatory, anti-inflammatory cytokines and adipokines in students with central obesity. **Cytokine**, v.61, n.2, p.682-687. 2013.

FABBRINI, E., SULLIVAN, S. e KLEIN, S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: biochemical, metabolic, and clinical implications. **Hepatology**. v.51, n.2, p.679-89. 2010.

FANTUZZI, G. Adiponectin and inflammation: Consensus and controversy *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, v.121, n.2, p.326–330. 2008.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations FAO Agriculture Statistics 2011. [Citado 2014]; Disponível em: <http://www.fao.org/corp/statistics/en/>

FERNANDES, C. A., FIEVEZ, L., NEYRINCK, A. M., *et al.* Sirtuin inhibition attenuates the production of inflammatory cytokines in lipopolysaccharide-stimulated macrophages. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.420, n.4, p.857-861. 2012.

FERNÁNDEZ, A., MADRIGAL, E., BAUTISTA, M., et al. Inflammation, Oxidative Stress, and Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v.12, p.3117-3132. 2011.

FERRANTI, S. e MOZAFFARIAN, D. La tormenta perfecta: obesidad, disfunción del adipocito y consecuencias metabólicas. **Clinical Chemistry**, v.34, n.2, p.95-108. 2009.

FLORES, J. R., RODRÍGUEZ, E. e ARANCIBIA, S. R. Consecuencias metabólicas de la alteración funcional del tejido adiposo en el paciente con obesidad. **Revista Médica del Hospital de México**, v.74, n.3, p.157-165. 2011.

FRÜHBECK, G., MÉNDEZ, L., FERNÁNDEZ, J. A., et al. Regulation of adipocyte lipolysis. **Nutrition Research Reviews**, v.2, p.1-31. 2014.

GARCÍA D., DELGADO R., BOUGARNE N., et al. Gallic acid indanone and mangiferin xanthone are strong determinants of immunosuppressive anti-tumour effects of *Mangifera indica* L. bark in MDA-MB231 breast cancer cells. **Cancer Letters, Elsevier**, v.305, p.21-31. 2011.

GARCIA, E., LLATA, M., KAUFER, M., et al. La obesidad y el síndrome metabólico como problema de salud pública. **Salud pública de México**, v.50, n.6. 2008.

GARRIDO B.B., GARRIDO G., DELGADO R., et al. A *Mangifera indica* L. Extract Could Be Used to Treat Neuropathic Pain and Implication of Mangiferin. **Molecules**, v.15, p.9035-9045. 2010.

GARRIDO, G., GONZALEZ, D., LEMUS, Y., et al. In vivo and in vitro anti-inflammatory activity of *Mangifera indica* L. extract (Vimang). **Pharmacological Research**, v.50, n.143–149. 2004.

GONG, X., ZHANG, L., JIANG, R., et al. Anti-inflammatory effects of mangiferin on sepsis-induced lung injury in mice via up-regulation of heme oxygenase-1. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, n.6, 6, p.1173-1181. 2013.

GRUNDY, S. M., BREWER, B., CLEEMAN, J. I., *et al.* Definition of Metabolic Syndrome. Report of the national Heart, Lung, and Blood. Institute American Heart Association Conference on Scientific Issues Relate do Definition. **Circulation**, v.109, p.433-338. 2004.

GUEBRE-EGZIABHER, F., ALIX, P. M., KOPPE, L., *et al.* Ectopic lipid accumulation: a potential cause for metabolic disturbances and a contributor to the alteration of kidney function. **Biochimie**, v.95, n.11, p.1971-9. 2013.

GUERRA, I. R., GARRIDO, G. G., FIGUEREDO, J. M., *et al.* Toxicological evaluation of *Mangifera indica* L. extract (Vimang), a new Cuban product with antioxidant properties. **Toxicology Letters**, v.196, Supplement, n.0, 7/17/, p.S94. 2010.

HOME, P. D. e PACINI, G. Hepatic dysfunction and insulin insensitivity in type 2 diabetes mellitus: a critical target for insulin-sensitizing agents. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v.10, n.9, p.699-718. 2008.

HONGLI, G., ZHAOCHUN, L., XIAOLAN, Q., *et al.* Effects of Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*) on vascular endothelial function and liver lipoprotein receptor gene expression in hyperlipidemic rats. **Fitoterapia, Elsevier**, v.84, p.264-272. 2012.

HOTAMISLIGIL, G. S., ARNER, P., CARO, J. F., *et al.* Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor-alpha in human obesity and insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v.95, p.2409-2415. 1995.

IBRAHIM M.Y., MARIOD A.A., MOHAN S., *et al.* α -Mangostin from *Garcinia mangostana* Linn: an updated review of its pharmacological properties. **Arabian Journal of Chemistry, Elsevier**. 2014.

IDF. INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, I. D. F. The IDF consensus worldwide definition of the metabolic syndrome 2005. [Citado 2014]; Disponível em: <http://www.idf.org/metabolic-syndrome>

JOBU, K., YOKOTA, J., S.YOSHIOKA, *et al.* Effects of Goishi tea on diet-induced obesity in mice. **Food Research International, Elsevier**, v.54, p.324-329. 2013.

KAWAI, M., DE PAULA, F. J. e ROSEN, C. J. New insights into osteoporosis: the bone-fat connection. **Journal of Internal Medicine**, v.272, n.4, p.317-2921. 2012.

KERIO L.C., WACHIRA F.N., WANYOKO J.K., *et al.* Total polyphenols, catechin profiles and antioxidant activity of tea products from purple leaf coloured tea cultivars. **Food Chemistry**, v.136, p.1405-1413. 2013.

KONRAD, D. Visceral fat and metabolic inflammation: the portal theory revisited. **Obesity Reviews**, v.2, p.30-9. 2012.

LAFONTAN, M. Adipose tissue and adipocyte dysregulation. **Diabetes & Metabolism**, v.40, n.1, p.16–28. 2014.

LEE S.G., KIM B.K., YANG Y., *et al.* Berry anthocyanins suppress the expression and secretion of proinflammatory mediators in macrophages by inhibiting nuclear translocation of NF- κ B independent of NRF2-mediated mechanism. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.25, n.4, p.404-411. 2014.

LI SHEN C., CAO J.J., DAGDA R.Y., *et al.* Green tea polyphenols benefits body composition and improves bone quality in long-term high-fat diet–induced obese rats. **Nutrition Research**, v.32, n.6, p.448-457. 2012.

LI, H., HUANG, J., YANG, B., *et al.* Mangiferin exerts antitumor activity in breast cancer cells by regulating matrix metalloproteinases, epithelial to mesenchymal transition, and β -catenin signaling pathway. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.272, n.1, 10/1/, p.180-190. 2013.

LIM, J., LIU, Z., APONTES, P., *et al.* Dual mode action of mangiferin in mouse liver under high fat diet. **PLoS One**. 2014 Mar 5; 9 (3): e 90137 doi: 10.1371 journal pone 0090137 e Collection 2014. 2014.

LIU, Y.-W., ZHU, X., ZHANG, L., et al. Up-regulation of glyoxalase 1 by mangiferin prevents diabetic nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. **European Journal of Pharmacology**, v.721, n.1-3, 12/5/, p.355-364. 2013.

LÓPEZ DE FEZ, C. M., GAZTELU, M. T., RUBIO, T., et al. Mecanismos de hipertensión en obesidad. **Anales del Sistema Sanitario de Navarra, SciELO**, v.27, n.2. 2004.

LUO, F., FU, Y., XIANG, Y., et al. Identification and quantification of gallotannins in mango (*Mangifera indica* L.) kernel and peel and their antiproliferative activities. **Journal of Functional Foods**, v.8, n.0, 5//, p.282-291. 2014.

MAEDA, N., FUNAHASHI, T. e SHIMOMURA, L. Metabolic impact of adipose and hepatic glycerol channels aquaporin 7 and aquaporin 9. **Nature Clinical Practice Endocrinology & Metabolism**, v.4, p.627-634. 2008.

MATSUDA, M. e SHIMOMURA, L. Increased oxidative stress in obesity: Implications for metabolic syndrome, diabetes, hypertension, dyslipidemia, atherosclerosis, and cancer. **Obesity Research & Clinical Practice**, v.7, p.e330-e341. 2013.

MIRANDA, L. M. e ALFREDO REZA, A. Obesidad, inflamación y diabetes. **Gaceta Médica de México**, v.144, n.1, p.39-46. 2008.

MOHAN, C. G., DEEPAK, M., VISWANATHA, G. L., et al. Anti-oxidant and anti-inflammatory activity of leaf extracts and fractions of *Mangifera indica*. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.6, n.4, 4/13/, p.311-314. 2013.

MORENO, M. Resistencia insulínica y obesidad. Escuela clínica de Medicina. 26 1997. [Serial na internet]. 1997; 26(1): Disponível em: <http://escuela.med.puc.cl/publ/boletin/obesidad/ResistenciaInsulinica.html>.

MORIYAMA H. e TAKEDA N. Catechin contents in microbial fermented tea, Goichi tea. **Reports of Kochi Prefectural Industrial Technology Center**, v.39, p.7-9. 2008.

MURUGANANDAN, S., SCRINIVASAN, K., GUPTA, S., *et al.* Effect of mangiferin on hyperglycemia and atherogenicity in streptozotocin diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.97, p.497-501. 2005.

NATALI, A. e FERRANNINI, E. The Metabolic Syndrome at the Beginning of the XXI Century: A Genetic and Molecular Approach. **Hypertension in the Metabolic Syndrome**. SERRANO M., C. J., CARRARO R. AND GUTIÉRREZ J.: Elsevier: 339–346 p. 2005.

NATURE MEDICINE. Metabolic Syndrome: Takeda. 2013. [Citado 2014]; Disponible em: http://www.nature.com/nm/e-poster/eposter_full.html.

NEWSOME, B., PETRIELLO, M., GU, S., *et al.* Green tea diet decreases PCB 126-induced oxidative stress in mice by up-regulating antioxidant enzymes. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.25, n.2, p.126–135. 2014.

OJEWOLE, J. A. Antiinflammatory, analgesic and hypoglycemic effects of *Mangifera indica* Linn. (Anacardiaceae) stem-bark aqueous extract. **Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology**, v.27, p.547–54. 2005.

OTANI, H. Oxidative stress as pathogenesis of cardiovascular risk associated with metabolic syndrome. **Antioxid Redox Signal**, v.15, n.7, p.1911-26. 2011.

PARDO-ANDREU, G. L., PHILIP, S. J., RIAÑO, A., *et al.* *Mangifera indica* L. (Vimang) Protection against Serum Oxidative Stress in Elderly Humans. **Archives of Medical Research**, v.37, n.1, 1, p.158-164. 2006.

PARDO-ANDREU, G. L., SÁNCHEZ-BALDOQUÍN, C., ÁVILA-GONZÁLEZ, R., *et al.* Interaction of Vimang (*Mangifera indica* L. extract) with Fe(III) improves its antioxidant and cytoprotecting activity. **Pharmacological Research**, v.54, n.5, 11, p.389-395. 2006.

PARDO-ANDREU, G. L., BARRIOS, M. F., CURTI, C., et al. Protective effects of *Mangifera indica* L extract (Vimang), and its major component mangiferin, on iron-induced oxidative damage to rat serum and liver. **Pharmacological Research**, v.57, n.1, 1, p.79-86. 2008.

PENG, Y., RIDEOUT, D., RAKITA, S., et al. Diet-induced obesity associated with steatosis, oxidative stress, and inflammation in liver. **Surgery for Obesity and Related Diseases**, v.8, n.1, p.73–81. 2012.

PÉREZ, M. R. e MEDINA, G. Obesity, adipogenesis and insulin resistance. **Endocrinología y Nutrición** (English Edition), v.58, n.7, p.360–369. 2011.

REYES, M. J. Características inflamatorias de la obesidad. **Revista Chilena de Nutrición**, v.37, n.4, p.498-504. 2010.

RÍOS, M. C. El estrés oxidativo y el destino celular. **Química viva**, v.2, n.1. 2003.

RIBEIRO, S. M. R. e SCHIEBER, A. Chapter 34 - Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.). In: PREEDY, R. R. W. R. (Ed.). **Bioactive Foods in Promoting Health**. San Diego: Academic Press, 2010. Chapter 34 - Bioactive Compounds in Mango (*Mangifera indica* L.), p.507-523

RODEIRO, I., CANCINO, L., GONZÁLEZ, J. E., et al. Evaluation of the genotoxic potential of *Mangifera indica* L. extract (Vimang), a new natural product with antioxidant activity. **Food and Chemical Toxicology**, v.44, n.10, 10, p.1707-1713. 2006.

SALAZAR, M. R., CARBAJAL, H. A., ESPECHE, W. G., et al. Reaven GM. Use of the plasma triglyceride/high-density lipoprotein cholesterol ratio to identify cardiovascular disease in hypertensive subjects. **Journal of the American Society of Hypertension**, v.8, n.10, p.724-31. 2014.

SALEH, I. G., ALI, Z., ABE, N., et al. Effect of green tea and its polyphenols on mouse liver. **Fitoterapia, Elsevier**, v.90, p.151-159. 2013.

SAMPEY B.S., VANHOOSE A.M., WINFIELD H.W., *et al.* Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. **Obesity**, v.19, n.6, p.1109-1117. 2011.

SCHUTZ, Y. Dietary fat, lipogenesis and energy balance. **Physiology & Behavior**, v.83, n.4, p.557–564. 2004.

SCHWEIGER M., EICHMANN T.O., TASCHLER U., *et al.* Measurement of Lipolysis. *Methods in Enzymology*. **Macdougald, O. A: Elsevier**. 538: 171-193 p. 2014.

SERGENT T., VANDERSTRAETEN J., WINAND J., *et al.* Phenolic compounds and plant extracts as potential natural anti-obesity substances. **Food Chemistry**, v.135, p.68-73. 2012.

SHAH, K. A., PATEL, M. B., PATEL, R. J., *et al.* *Mangifera indica* (Mango). **Pharmacognosy**, v.4, n.7, p.42-48. 2010.

SINGH, R., SINGH, S. K., MAHARIA, R. S., *et al.* Identification of new phytoconstituents and antimicrobial activity in stem bark of *Mangifera indica* (L.). **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v.105, n.0, 2/25/, p.150-155. 2015.

SINGH S.K., SINHA S.K., PRASAD S.K., *et al.* Synthesis and evaluation of novel analogues of mangiferin as potent antipyretic **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v.4, n.11, p.866–869. 2011.

SIRDAH, M. M., ABU, A. S. e LAHAM, N. A. The reliability of the National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III (NCEP/ATP III) and the International Diabetes Federation (IDF) definitions in diagnosing metabolic syndrome (MetS) among Gaza Strip Palestinians. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v.6, p.4-8. 2012.

STEARNS, A., O'RAHILLY, S., SEMPLE, R. K., et al. Metabolic insights from extreme human insulin resistance phenotypes. **Best Practice & Research: Clinical Endocrinology Metabolism**, v.26, n.2, p.145-57. 20120.

STELZERA, I., ZELZERA, S., RAGGAM, R., et al. Link between leptin and interleukin-6 levels in the initial phase of obesity related inflammation. **Translational Research**, v.159, n.2, p.118–124. 2012.

SUWANNAPHET, W., MEEPROM, A., YIBCHOK, S., et al. Preventive effect of grape seed extract against high-fructose diet-induced insulin resistance and oxidative stress in rats. **Food and Chemical Toxicology**, v.48, n.7, p.1853–1857. 2010.

TAGLIAZUCCHI D., VERZELLONI E., BERTOLINI D., *et al.* In vitro bioaccessibility and antioxidant activity of grape polyphenols. **Food Chemistry**, v.120, p.599-606. 2010.

TARIQ, A., WARREN, E., HOCHFELD, W., et al. Adipocyte and adipogenesis. **European Journal of Cell Biology**, v.92, n.6-7, p.229–236. 2013.

TORRES, F. L., FONSECA, M. H., CUNHA, A., et al. Adipose Tissue Inflammation and Insulin Resistance. **Endocrinology and Metabolism**. ARORA, S.: Medicine, Intech 2012.

VAZQUEZ, G., DUVAL, S., JACOBS, D. J., et al. Comparison of body mass index, waist circumference, and waist/hip ratio in predicting incident diabetes: a meta-analysis. **Epidemiologic Reviews**, v.29, p.115-28. 2007.

VERNON R.G. Control of lipogenesis and lipolysis. **The Control of Fat and Lean Deposition: Elsevier**, p. 59–81. 1992.

WHO. WORLD HEALTH ORGANIZATION. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Report of a WHO Consultation. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva, Switzerland: World Health organization; 1999. [Citado 2014]; Disponível em:

http://whqlibdoc.who.int/hq/1999/WHO_NCD_NCS_99.2.PDF.

WU, C. I., HSIUNG, C. e CHENG, C. Oxidative Stress and Frailty: A Closer Look at the Origin of a Human Aging Phenotype. **Aging: Oxidative Stress and Dietary Antioxidants: Elsevier**, p. 3–14. 2014.

WUA T., QI X., LIU Y., *et al.* Dietary supplementation with purified mulberry (*Morus australis* Poir) anthocyanins suppresses body weight gain in high-fat diet fed C57BL/6 mice. **Food Chemistry**, v.141, n.1, p.482-487. 2013.

YAJIMA, H. Prevention of Diet-Induced Obesity by Dietary Polyphenols Derived from *Nelumbo nucifera* and Black Tea. **Polyphenols in Human Health and Disease**. PRESS, A.: Elsevier. 1: Polyphenols in Chronic Diseases and their Mechanisms of Action: 135-142 p. 2014.

YAKUBU, M. T. e SALIMON, S. S. Antidiarrhoeal activity of aqueous extract of *Mangifera indica* L. leaves in female albino rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.163, n.0, 4/2/, p.135-141. 2015.

ZAFRIRA, B., ADIR, Y., SHEHADEH, W., *et al.* The association between obesity, mortality and filling pressures in pulmonary hypertension patients; the “obesity paradox”. **Respiratory Medicine**, v.117, n.1, p.139–146. 2013.

ZHONG H., FANG X., XI W., *et al.* Fatty acid synthase inhibitors of phenolic constituents isolated from *Garcinia mangostana*. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v.20, n.20, p.6045-6047. 2010.

CAPITULO 2

Avaliação da eficácia de extração de mangiferina e análises química, antioxidante e sensorial de chá com folhas de *Mangifera indica* L., variedade ubá.

Evaluation of usefulness on mangiferina extraction and chemicals, antioxidant and sensorial analysis of *Mangifera indica* L., variety Ubá leaves tea.

Resumo

Chás de folhas e frutos são fontes de várias classes de metabólitos secundários e o seu consumo pode trazer benefícios à saúde humana. A mangiferina, uma xantona presente em frutos, folhas, cascas e outras partes da *Mangifera indica* L., conhecida popularmente como mangueira, possui comprovadas atividades biológicas tais como antioxidante, antidiabética e imunomodulatória. O objetivo deste trabalho foi estudar o potencial de uso do chá de folhas de *M. indica* como fonte de mangiferina e de compostos fenólicos. Os chás foram preparados com folhas novas e maduras da *M. indica* (secas e trituradas) em concentrações de 1,25; 2,5 e 5% (m/v), utilizando três processos diferentes: infusão, decocção e ultrassom. A eficácia na obtenção de mangiferina foi analisada por CLAE. O chá com teor mais elevado de mangiferina foi caracterizado quanto ao teor de fenólicos totais, utilizando o reagente de Folin-Ciocalteu e atividade antioxidante (teste de retirada do radical DPPH). Foi analisada a estabilidade oxidativa do chá por meio da quantificação de mangiferina, fenólicos totais e atividade antioxidante, utilizando dois tratamentos de conservação (refrigeração $4 \pm 2^\circ\text{C}$ e temperatura ambiente $20 \pm 2^\circ\text{C}$) nos tempos 0, 24 e 48 horas. A análise sensorial foi realizada com 50 consumidores que utilizaram a escala hedônica mista de nove pontos para medir o grau de aceitação do chá. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão, sendo realizada ANOVA seguida do teste Tukey ($P < 0,05$). O tipo de folha, a técnica de preparo e a relação droga/solvente, influenciaram na concentração de mangiferina no chá. A concentração mais elevada de mangiferina ($0,72 \pm 0,08 \text{ mg.mL}^{-1}$) foi encontrada no chá preparado por decocção em 5% de concentração de droga (m/v). O chá apresentou estabilidade durante 48 horas após seu preparo em ambos os tratamentos avaliados e houve aceitação da bebida pelo consumidor. Conclui-se que o chá de folhas de *M. indica* é viável para ser consumido como bebida

fonte de compostos bioativos, constituindo estratégia para enriquecer a dieta com fitoquímicos.

Palavras-chave: Aceitação, Atividade antioxidante, Estabilidade, Fitoterápico, Mangiferina.

Abstract

Tea leaves and fruits are sources of various phytochemicals classes and their consumption may be beneficial to human health. The mangiferina xanthone prevailing in fruits, leaves, bark and other parts of *Mangifera indica* L., popularly known as hose, has proven biological activities such as antioxidant, anti-diabetic and immunomodulatory. The aim of this work was to study the potential use of *M. indica* leaves as source of mangiferin and phenolic compounds. The teas were prepared with young and mature leaves of *M. indica* (crushed and dried) at concentrations of 1.25; 2.5 and 5% (w/v) using three different processes: infusion, decoction and ultrasound. The effectiveness in obtaining mangiferin was analyzed by HPLC. Tea with higher content of mangiferin was characterized as the total phenolic content using the Folin-Ciocalteu method and antioxidant activity (DPPH radical withdrawal test). The oxidative stability of tea was analyzed by mangiferin, total phenolics and antioxidant activity quantification, using two preservation treatments (cooling 4 ± 2 ° C and room temperature 20 ± 2 ° C) at times 0, 24 and 48 hours. Sensorial analysis was performed with 50 consumers who used the nine point's hedonic scale to measure the degree of tea acceptance. Results were expressed as mean \pm standard deviation, being held ANOVA followed by Tukey's test ($P < 0.05$). The leaves type, preparation technique and drug/solvent relation, influenced the concentration of mangiferin. The highest concentration of mangiferin (0.72 ± 0.08 mg.mL⁻¹) was found in tea decoction prepared in 5% drug concentration (w / v). The tea was stable for 48 hours after its preparation in both treatments and was well accepted by the consumer. We conclude that the *M. indica* leaves tea is feasible to be consumed as a source beverage of bioactive compounds, constituting a strategy to enrich the diet with phytochemical properties.

Keywords: Acceptance, Antioxidante activity, Mangiferin, Phytotherapy, Stability.

1. Introdução

Estatísticas no Brasil mostram que, nos últimos anos, o consumo de chás preparados a partir de plantas medicinais aumentou em 16% (JVE, 2012). O crescente interesse de consumidores pelos chás pode ser devido às suas propriedades funcionais por serem fontes de compostos bioativos com potenciais ações benéficas à saúde humana.

A medicina Chinesa, por exemplo, indica o uso dos chás de partes de plantas como bebida para diferentes finalidades como a energética, sedativa, estimulante, depressão anti-hipertensiva, digestiva, desintoxicante e ainda para favorecer o aumento da longevidade. Assim, os chás constituem uma alternativa de bebidas com potencial para serem consumidas como coadjuvantes no tratamento ou redução de risco de doenças crônicas não transmissíveis (SALEH *et al.*, 2013).

Na legislação brasileira, os chás medicinais são considerados produtos tradicionais fitoterápicos, definido como “droga vegetal com fins medicinais a ser preparada por meio da infusão, decocção ou maceração em água, pelo consumidor” (RDC No-26, 2014). Chás podem conter uma miríade de substâncias, tais como fenóis simples e polifenóis, além de outros compostos bioativos (MORIYAMA; TAKEDA, 2008; CÁDIZ-GURREA *et al.*, 2014).

A mangiferina (1,3,6,7-tetrahidroxixantona-C2-β-D-glucosídeo), do grupo químico das xantonas (Figura 1), é o principal constituinte de folhas e casca do caule da *Mangifera indica* L. (*Anacardiaceae*) e possui comprovadas atividades tais como antioxidante, imunomodulatória e anti-inflamatória (MATKOWSKI *et al.*, 2013). Outros metabólitos secundários fenólicos, incluindo o ácido gálico, quercitina 3-β-D glicosídeo, tocoferol α, 3-metil-galato, propilgalato, propilbenzoato(+)-catequina, (-)-epicatequina, ácido benzoico e d-glucopiranosil, também estão presentes na espécie (RODEIRO *et al.*, 2007; PONCE *et al.*, 2012).

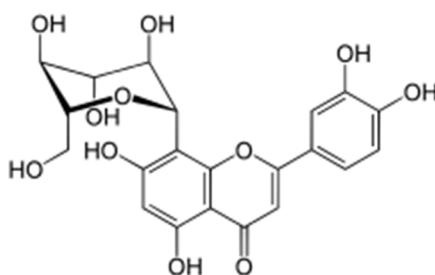


Figura 1. Estrutura da mangiferina

Na medicina tradicional, o chá de folha de manga é popularmente utilizado com fins terapêuticos em quadros de gripe, diarreia e afecções de garganta (WAUTHOZ *et al.*, 2007). Em Cuba, o VIMANG[®] é um produto comercializado como suplemento nutricional, tendo como componente majoritário a mangiferina (VALLE *et al.*, 2010). Considerando os comprovados efeitos biológicos da mangiferina, como antioxidante e anti-inflamatório, é atraente a possibilidade da utilização de bebidas fontes deste

composto bioativo para incorporar propriedades funcionais na dieta de indivíduos com doenças crônicas não transmissíveis, nas quais estão presentes a inflamação subclínica e o estresse oxidativo (MILENKOVIC *et al.*, 2013; DONATH, 2014).

Por ser considerada atualmente pela legislação brasileira, uma bebida sem fins terapêuticos, a ingestão de chás é uma estratégia para a população aumentar o consumo de compostos bioativos, o que abre uma oportunidade de mercado para o desenvolvimento de novas bebidas à base de extratos de plantas. Portanto, é interessante verificar a aceitação desses produtos pelos consumidores. Testes sensoriais são comumente utilizados para conhecer a opinião do consumidor a respeito das características de um produto e para verificar o grau de aceitação do mesmo. Teste cego e teste de expectativa são amplamente usados para esta finalidade (DELLA *et al.*, 2010; VIDIGAL *et al.*, 2011).

Além da possibilidade de se utilizar os chás como bebidas para aumentar a ingestão de compostos bioativos na dieta humana (BRASIL, 2010), a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares no Sistema Único de Saúde no Brasil incluiu o uso de plantas medicinais e da fitoterapia como prática da assistência à saúde. Diante deste cenário a Resolução do Conselho Federal de Nutricionistas, número 525/2013, regulamentou a prática da fitoterapia pelo profissional nutricionista, como complemento da prescrição dietética, reconhecendo a importância de práticas culturais que utilizam plantas medicinais com efeitos terapêuticos reconhecidos (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2013).

Pesquisas nesse âmbito são ainda escassas na área da nutrição humana, mas a sua relevância não pode ser negligenciada, considerando o grande potencial do Brasil em biodiversidade vegetal e a necessidade de se aprofundar conhecimentos sobre estratégias adjuvantes no controle e tratamento das doenças crônicas não transmissíveis. O presente trabalho teve como objetivo estudar o potencial de uso do chá de folhas de *M. indica*, mediante a comparação da concentração de mangiferina em chás obtidos por três técnicas de preparo e a caracterização química, análise de estabilidade oxidativa e aceitação por consumidores do chá que apresentou maior teor de mangiferina. Os resultados obtidos fornecem subsídios para futuros estudos envolvendo o desenvolvimento de novas bebidas com alegações de saúde e a avaliação de seus potenciais efeitos funcionais.

2. Materiais e métodos

2.1. Reagentes

Reagente de Follin-Cicalteu, 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH), etanol absoluto [CH₃CH₂OH] e mangiferina foram adquiridos da Sigma-Aldrich (USA); ácido acético P.A e acetonitrila grau HPLC foram adquiridos da Merck (São Paulo). Os demais reagentes foram de grau analítico.

2.2. Material vegetal

Foram coletadas folhas maduras (cor verde escura, situadas distantes das pontas dos galhos) e novas (cor verde clara, situadas no ápice dos galhos) de mangueiras da variedade Ubá, na zona da Mata Mineira, no estado de Minas Gerais (Brasil). Registro N^oVIC37611 no herbário da Universidade Federal de Viçosa. As folhas foram lavadas e higienizadas com solução clorada (200 mg/mL⁻¹) e depositadas em bandejas para secagem a 55 ± 2°C durante 38 horas (dados não apresentados), em estufa com circulação e ar (Marconi, MA 035). Em seguida, as amostras foram trituradas (Moinho Rotor MA-090CFT) até obter um pó fino, sendo a droga vegetal resultante embalada a vácuo em embalagens de polipropileno (Selovac 200B).

2.3. Desenvolvimento do chá avaliando três técnicas de preparo

2.3.1. Preparo dos chás

Foram preparados 18 chás, utilizando dois tipos de folhas, três técnicas de preparo e três relações droga vegetal/solvente (Tabela 1). As técnicas utilizadas foram a decocção (fervura durante 5 min a 100°C, utilizando chama direta), infusão (repouso durante 5 min em água fervente) e ultrassom utilizando sonicação a 26°C, por 15 min (Tramontina, EN 631). As concentrações propostas no estudo foram baseadas na porção individual de chás disponíveis no mercado (2,5 g.100 mL⁻¹). As amostras foram filtradas (papel filtro, Melitta N.4) a vácuo (Bomba Tecnal, modelo TE-058) e armazenadas em frascos de vidro âmbar hermeticamente fechados.

Tabela 1Condições de preparo dos chás com folhas de *M. indica*.

Tipo de folha	Técnica de preparo	Droga vegetal /solvente*
Nova	Decocção	0,0125
		0,0250
		0,0500
	Infusão	0,0125
		0,0250
		0,0500
	Ultrassom	0,0125
		0,0250
		0,0500
Madura	Decocção	0,0125
		0,0250
		0,0500
	Infusão	0,0125
		0,0250
		0,0500
	Ultrassom	0,0125
		0,0250
		0,0500

*Relação da droga vegetal /solvente (g folhas da *M. indica*.mL⁻¹ água)

2.3.2. Quantificação da Mangiferina

As análises de mangiferina foram conduzidas por CLAE no sistema Shimadzu UFLC, equipado com LC-20AD bomba binária (Tokio, Japan), SIL-AOAHT auto amostral, sistema de comunicação CBM-20A, forno de coluna CTO-20A e coluna de fase reversa C18, 150 X 4,6 mm, 4,6 µm (Shimadzu) com pré-coluna (10*4.6 mm). A mangiferina foi detectada no eluente com um detector de foto diodos UV (SP-M20A, Shimadzu, Japan) fixado em 220 e 380 nm. O chá de folhas foi filtrado sobre membrana de celulose (diâmetro de poro 0,45µm) e o volume injetado foi de 5 µL. A fase móvel constituiu-se de 2% de ácido acético em água ultrapura (solvente A) e acetonitrila (solvente B), utilizando o seguinte gradiente: 10 a 20 % de B em 20 min; 95% de B de 20 a 23 min; retornando para 10% de B em total 26 min. A temperatura de coluna foi 40°C e o fluxo foi de 1,0 (mL.min⁻¹). O conteúdo de mangiferina nos extratos foi calculado usando uma curva padrão de mangiferina. Os resultados foram expressos em miligramas de mangiferina por mililitro de chá (mg. mL⁻¹).

2.4. Caracterização físico-química do chá obtido por decocção

O chá preparado com folhas novas a 5% (m/v) pela técnica de decocção foi selecionado para as análises físico-químicas e da estabilidade, considerando que a combinação destas condições otimizou a extração da mangiferina. Foram determinados pH (pHmetro 966 Plus, BEL), fenólicos totais (FT) e atividade antioxidante (AA).

2.4.1. Quantificação de fenólicos totais (FT)

A concentração de fenólicos totais foi determinada colorimetricamente no extrato aquoso (Chá), utilizando-se o reagente de Folin-Ciocalteu (FOLIN; CIOCALTEU, 1927). Alíquotas de 100 µL do chá e 1 mL do reagente de Folin-Ciocalteu 0,25 N foram misturados e mantidos em repouso durante 3 min. Após, foi adicionado 1 mL de carbonato de sódio 1 M, deixando reagir durante 7 min. Em seguida, foram acrescentados 7 mL de água e o material foi submetido à agitação, durante 2 min. As amostras foram deixadas em repouso por 30 min, a temperatura ambiente e protegidos da exposição direta à luz. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro de microplacas UV/visible (Termo Scientific MultiSkan™ GO) em 726 nm. Os resultados foram expressos em miligrama equivalente de ácido gálico por mililitro de amostra, utilizando uma curva padrão de ácido gálico, em concentrações variando de 0,05 a 0,35 mg.mL⁻¹.

2.4.2. Avaliação da atividade antioxidante (AA)

A atividade antioxidante foi analisada pelo método de atividade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil- DPPH (BLOIS, 1958). Alíquotas de 100 µL do chá foram diluídos com 900 µL de água deionizada. Após, 100 µL desta solução foram misturados com 1,5 mL da solução de DPPH 0,1 M. A mistura foi agitada e homogeneizada, permanecendo em repouso por 30 min, na ausência de luz. Em seguida, foi feita a leitura da absorbância em espectrofotômetro de microplacas UV/visible (Termo Scientific MultiSkan™ GO.) em 517 nm, contra branco (100 µL de água com 1,5 mL de solução do DPPH 0,1 M). Os dados foram expressos em porcentagem de atividade de retirada de radical (AAR). O cálculo foi realizado utilizando-se a seguinte equação:

$$\%AAR = [(A_{\text{controle}} - A_{\text{amostras}}) / A_{\text{controle}}] * 100, \text{ sendo } A \text{ absorbância obtida.}$$

2.5. Avaliação da estabilidade oxidativa do chá

A estabilidade oxidativa do chá foi avaliada determinando-se a variação da concentração dos fenólicos totais, pela reação com o reagente de Folin-Ciocalteu, da atividade de retirada de radical (Teste do DPPH) e do conteúdo de mangiferina (CLAE), seguindo as mesmas metodologias descritas anteriormente. Foram avaliados dois tratamentos de conservação (refrigeração $4 \pm 2^\circ\text{C}$ e temperatura ambiente $20 \pm 2^\circ\text{C}$) nos tempos 0, 24 e 48 h após a preparação da bebida.

2.6. Análise sensorial

2.6.1. Preparo dos chás

Foram preparadas três amostras de chás com folhas de *M. indica* processadas e água potável, em concentração final de 5% (m/v), utilizando-se a técnica de decocção (fervura durante 5 min a 100°C , em chama direta, conforme descrito no item 2.2). Em duas das amostras foram adicionados aromatizantes artificiais, erva doce e laranja (cinco gotas para cada 50 mL chá).

2.6.2. Teste

A aceitação sensorial das bebidas foi avaliada por 50 julgadores não treinados, adultos, de ambos os gêneros, incluindo estudantes e funcionários da universidade. Amostras de 30 ml de chá ($55 \pm 3^\circ\text{C}$), foram servidas monodicamente, em xícaras de porcelana branca, tampadas com pires, codificadas com números de três dígitos aleatórios, juntamente com a ficha de avaliação e um copo de água filtrada. Utilizou-se escala hedônica mista de nove pontos, ancorada nos seus extremos, com os termos: “Desgostei extremamente” e “Gostei extremamente” (STONE; SIDEL, 1993). Foram avaliados os atributos aroma, sabor e impressão global. A pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética sob o número 845.894/2014 (ANEXO 1).

2.7. Análise estatística

O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado em esquema fatorial $2 \times 3 \times 3$ (dois tipos de folhas * três relações droga vegetal /solvente * três métodos de extração). Todos os experimentos foram realizados com três repetições em triplicata. Os dados

foram submetidos à análise de variância (ANOVA) seguido pelo teste Tukey. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. A estabilidade do chá ao longo do tempo foi analisada por regressão. Os resultados do teste de aceitação foram avaliados por análise de variância (ANOVA) utilizando modelo de delineamento em blocos casualizados (DBC), seguido pelo teste de Tukey. O nível de significância adotado em todas as análises foi ($P < 0,05$).

3. Resultados e discussão

3.1. Concentração de mangiferina nos chás preparados por três diferentes técnicas

A concentração de mangiferina dos chás foi diretamente proporcional à relação da droga vegetal/solvente, com diferenças estatisticamente significativas entre as concentrações (Figura 2a-b). Para qualquer uma das três técnicas de preparo do chá, a maior relação da droga vegetal (5%) foi a mais efetiva para a extração de mangiferina.

Os valores da concentração de mangiferina encontrados nos chás das folhas de *M. indica* processadas por três técnicas, em três relações da droga vegetal/solvente e dois tipos de folhas estão apresentados na Tabela 2. Foi observada diferença significativa no conteúdo de mangiferina entre as técnicas de preparo dos chás. O chá preparado pela técnica de decocção apresentou maiores valores na concentração de mangiferina ($0,717 \pm 0,08$ e $0,573 \pm 0,01 \text{ mg.mL}^{-1}$), utilizando folhas novas e maduras respectivamente, indicando a extração de mangiferina, por esta técnica, é mais eficiente.

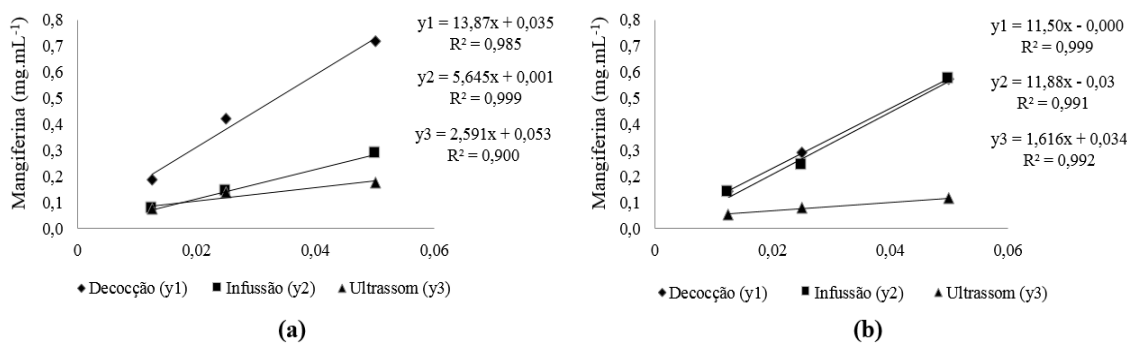


Figura 2. Conteúdo de mangiferina nos chás utilizando as três técnicas de preparo e três relações da droga vegetal/ solvente a partir de (a) folhas novas e (b) folhas maduras de *M. indica*.

Tabela 2

Conteúdo de mangiferina nos chás de folhas de *M. indica* preparados por três técnicas, usando dois tipos de folha e três relações da droga vegetal/ solvente.

Técnica	Relação droga vegetal/solvente (g folhas de <i>M. indica</i> . mL ⁻¹ de água)	Mangiferina (mg. mL ⁻¹)	
		Folha nova	Folha madura
Decocção	0,0500	0,717 ± 0,08 ^{a*}	0,573 ± 0,01
	0,0250	0,419 ± 0,04 ^{a*}	0,292 ± 0,06
	0,0125	0,184 ± 0,01 ^{a*}	0,140 ± 0,01
Infusão	0,0500	0,285 ± 0,01 ^b	0,572 ± 0,01 [*]
	0,0250	0,140 ± 0,01 ^b	0,243 ± 0,02 [*]
	0,0125	0,074 ± 0,01 ^b	0,135 ± 0,01 [*]
Ultrassom	0,0500	0,177 ± 0,02 ^{c*}	0,114 ± 0,01
	0,0250	0,137 ± 0,02 ^{b*}	0,078 ± 0,01
	0,0125	0,073 ± 0,01 ^{b*}	0,052 ± 0,01

Dados expressos como média ± DP.

^{a,b,c} P<0,05. Diferenças significativas entre as técnicas para uma mesma concentração (análise de variância seguida pelo teste Tukey).

^{*}P<0,05. Diferenças significativas entre tipos de folha dentro da técnica para uma mesma concentração (análise de variância).

Houve diferença significativa na concentração de mangiferina entre os tipos de folha para as três concentrações nas três técnicas (P<0,05), sendo encontrados maiores conteúdos de mangiferina nos chás preparados com folhas novas usando a decocção. O uso de folhas velhas favoreceu a extração de mangiferina no chá pela técnica de infusão. A extração de mangiferina por ultrassom foi menos eficiente, isto pode ser devido à influência do tempo e da temperatura, na saturação deste composto (KULKARNI; RATHOD, 2014). Chan *et. al* (2007) reportaram que as folhas novas da *Camellia sinensis* apresentaram conteúdos mais elevados de fenólicos totais e maior atividade antioxidante que as folhas maduras e indicou que, as folhas novas são caracterizadas por ter maior quantidade de compostos bioativos e nutrientes, além de maior facilidade para serem extraídos.

O aumento da concentração de mangiferina nos chás proporcional à relação droga vegetal, era um resultado esperado em função da saturação deste composto. Este resultado está de acordo com Zaleta et al. (2006) os quais comentam que, devido à baixa solubilidade da mangiferina em água, os chás de folhas de mangueira preparados com a maior relação da droga vegetal/solvente (0,05 g.mL⁻¹) favorecem a obtenção de maior conteúdo deste composto.

O fato da técnica de decocção ter sido a mais efetiva na obtenção de um chá de conteúdo mais elevado em mangiferina é interessante, considerando que a decocção é uma técnica simples e de uso comum, podendo ser utilizada com facilidade pelo consumidor. Neste estudo foi encontrado que uma porção de 240 mL do chá de folhas de

mangueira fornece uma dose de mangiferina de aproximadamente 2,46 mg.kg⁻¹, considerando um adulto de 70 Kg de peso corporal. Estudos em ratos utilizaram concentrações de mangiferina que variaram de 15-30 (LIU *et al.*, 2013) e 10-30 e 15-25 (GONG *et al.*, 2013) mg.kg⁻¹ de peso corporal, para se obter efeitos antidiabetes, anti-inflamatórios e hepatoprotetores. Entretanto, deve ser considerado que na dieta humana há outros compostos bioativos que podem favorecer a atividade biológica sinérgica, potencializando os benefícios da ingestão do chá de folhas de mangueira.

Quanto à toxicidade, um estudo em ratos sugeriu que o nível de toxicidade da mangiferina para favorecer infarto no miocárdio, está acima de 1000 mg.kg⁻¹ por dia (PRABHU *et al.*, 2006). Níveis de mangiferina de aproximadamente 2,5 mg.kg⁻¹, foram encontrados no chá de folhas de mangueira neste estudo, indicando que o chá poderia ser consumido sem ter efeitos tóxicos.

A mangiferina teve um tempo de retenção de 7,75 minutos aproximadamente no extrato e apresentou um pico único sendo compatível com o padrão (Figura 3).

3.2. Caracterização físico-química do chá

Considerando que a decocção foi a técnica de preparo do chá que otimizou a extração de mangiferina, foi preparado um chá com folhas novas de *M. indica* na concentração de

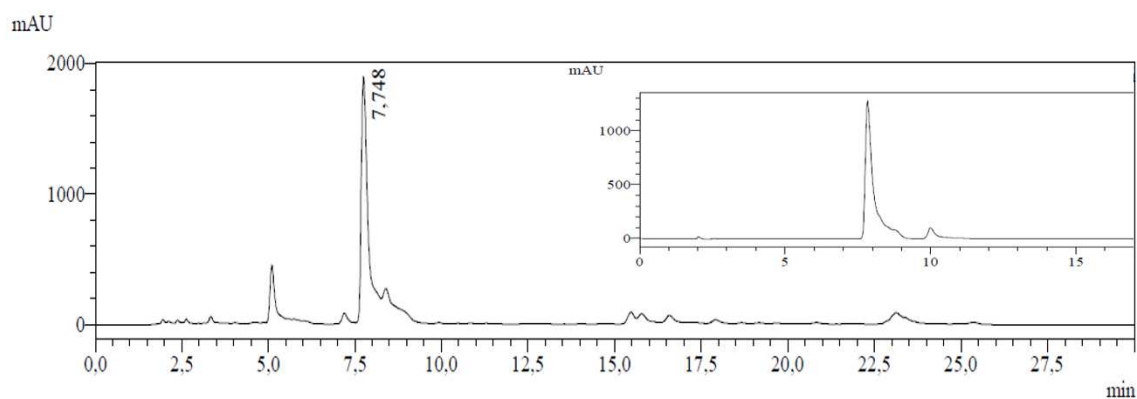


Figura 3. Cromatograma do chá de folhas de *M. indica* e padrão de mangiferina. Condições: detector de arranjo diodo; coluna C18; fase móvel: solvente A 2% ácido acético P.A. e solvente B acetonitrila grau HPLC; gradiente: 10 a 20 % de B em 20 min; 95% de B de 20 a 23 min; retornando para 10% de B em total 26 min, fluxo: 1ml/min, volume injetado: 5 µl.

5%, para o estudo de caracterização físico-química, cujos resultados estão apresentados na Tabela 3. O valor de pH encontrado no chá de folhas de mangueira foi próximo ao descrito para o chá verde (pH = 5,3), cujos autores reportaram que os chás comerciais a base de plantas são ligeiramente ácidos, variando entre 4 e 6 (VUONG *et al.*, 2013). Os taninos são encontrados em alimentos e bebidas especialmente nos chás verde e preto. Estes compostos são caracterizados por atribuir acidez e adstringência ao vinho e bebidas como o chá (CABRERA *et al.*, 2006; LIMA *et al.*, 2012). Neste estudo não foi determinado o teor de taninos, embora a *M. indica* reportou teor de galotaninos (LUO *et al.*, 2014), sugerindo que o chá de folhas pode conter quantidades destes compostos que podem ser associados a sua acidez, adstringência e amargor.

Quanto ao teor de fenólicos totais, verificou-se que o chá contém concentração elevada desta classe de fitoquímicos, podendo fornecer aproximadamente 381 mg de compostos fenólicos expressos em EAG, em uma porção de 240 mL da bebida. Considerando que o consumo humano diário foi reportado ser em média 1123 mg por dia (JIMÉNEZ *et al.*, 2011), a ingestão do chá apresenta potencial expressivo para aumentar em mais de 30% o consumo deste grupo de compostos bioativos, contribuindo para o aumento da capacidade antioxidante da dieta. A atividade de retirada de radical foi de 80%, indicando que nas condições do ensaio a EC₅₀, que representa a concentração do antioxidante que inibe 50% da reação de oxidação, é inferior a 0,007 µg.µL⁻¹.

Realizar uma comparação do teor de fenólicos e da atividade de retirada de radical com outros estudos é difícil devido aos poucos trabalhos realizados nesta espécie de folhas de *M. indica*, às diferentes condições de preparo dos chás e diferentes condições de ensaio. Autores reportaram que as infusões de ervas têm grande potencial como fonte de fenólicos totais e de atividade antioxidante (CAIA *et al.*, 2004; PORT'S *et al.*, 2013). Na literatura são encontrados trabalhos reportando os efeitos benéficos dos compostos bioativos presentes em chás na redução do risco de doenças crônicas. Um estudo mostrou

Tabela 3

Valores médios de pH, conteúdo de fenólicos totais e atividade antioxidante do chá de folhas de *M. indica* ao 5% (relação da droga vegetal / solvente).

Parâmetro	Valores
pH	5,140 ± 0,04
Fenólicos totais (mg EAG. mL ⁻¹)	1,595 ± 0,11
Atividade antioxidante* (%)	80,331 ± 0,18

* Avaliada pela atividade de retirada do radical DPPH.

o efeito supressor do crescimento das células adiposas, pelos chás Goishi e Verde, em concentração de 5%, em ratos com obesidade induzida (JOBU *et al.*, 2013).

Foi demonstrado que os fenólicos totais são agentes potenciais para a prevenção da obesidade e da diabetes (SNOUSSI *et al.*, 2014). Efeitos favoráveis anti-obesidade (UCHIYAMA *et al.*, 2011) nas doenças cardiovasculares (BAHORUN *et al.*, 2012), são atribuídos aos fenólicos totais presentes em extratos de chá verde e preto. A ingestão insuficiente de compostos bioativos (CBAs) constitui componente de risco para as doenças crônicas não transmissíveis (HOLST; WILLIAMSON, 2008).

3.3. Estabilidade

As temperaturas de refrigeração (4°C) e ambiente (23 ± 3°C) não influenciaram a concentração de mangiferina e o conteúdo de fenólicos totais durante o período de 48 horas após o preparo do chá (Figura 4a-b).

Ainda que tenha sido observada uma diminuição na AA (%) em ambos os métodos de conservação no tempo de 24 horas, houve estabilização no tempo 48 horas, o qual foi estatisticamente igual ao tempo inicial (Figura 4c). Esta variação é observada em matérias primas vegetais processadas e pode ser atribuída à influência de variações no conteúdo de compostos fenólicos (CAIA *et al.*, 2004; WONG *et al.*, 2006), à técnica de preparo do chá (PRIOR; CAO, 1999; BASSANI *et al.*, 2014), ou às interações com outros compostos não avaliados presentes na bebida. Uma análise de estabilidade do leite de soja

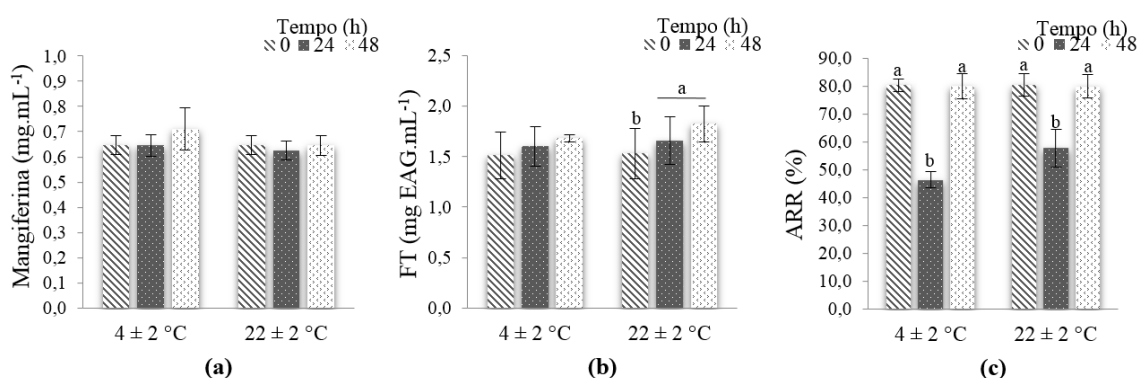


Figura 4. Estabilidade do conteúdo de (a) Mangiferina, (b) Fenólicos Totais e (c) Atividade de retirada de Radical dos chás, nos dois métodos de conservação (Refrigeração 4 ± 2 °C e Temperatura ambiente 20 ± 2 °C) e nos tempos (0, 24 e 48 horas).

^{a,b} P < 0,05. Diferenças significativas entre os tempos em temperaturas iguais (análise de variância seguida do teste Tukey).

fermentado com diferentes chás (verde, preto) reportou ter uma variação dos compostos fenólicos e antioxidantes no tempo a 4°C (ZHAO; SHAH, 2014).

Verificou-se que o chá foi estável até 48 horas após seu preparo. A estabilidade oxidativa destes compostos funcionais no chá, sugere a conservação de suas propriedades funcionais ao longo do tempo avaliado, o que em termos de industrialização, seria um fator positivo para o desenvolvimento de novas bebidas fonte de fitoquímicos. Entretanto, a estabilidade microbiológica e sensorial também necessitam ser avaliadas. Quanto ao preparo do chá, em nível domiciliar, a estabilidade garante a praticidade para o consumidor, sugerindo a conservação de suas propriedades funcionais durante as primeiras 48 horas após seu preparo.

O estudo sugere que, durante as primeiras 48 horas, o chá de folhas de mangueira não necessitaria da refrigeração para conservar os compostos bioativos avaliados neste estudo. Este resultado é concordante com o estudo de Perez et al. (2014), no qual demonstrou que os compostos antioxidantes do chá verde combinado com maçã são estáveis em temperatura ambiente e portanto, não requer refrigeração.

3.4. Análise sensorial

Os chás aromatizados apresentaram maior aceitação em relação ao chá natural ($P < 0,05$) em todos os atributos avaliados, indicando que o efeito positivo da adição de aromatizante na qualidade sensorial do chá de folhas de *M. indica* (Tabela 4). As propriedades sensoriais são consideradas como estratégia de comercialização e produção, já que influenciam na qualidade do alimento e são chave para sua aceitação e percepção por parte do consumidor (GODOY *et al.*, 2013). A adição de aromatizantes não altera as propriedades nutricionais de um alimento mas podem melhorar a percepção e portanto

Tabela 4

Valores médios das pontuações da escala hedônica, dos diferentes chás de folhas de *M. indica*.

AMOSTRA	ATRIBUTO		
	<i>Aroma</i>	<i>Sabor</i>	<i>Impressão Global</i>
<i>Chá Natural</i>	6,5 ± 1,8 ^b	5,3 ± 2,1 ^b	5,7 ± 1,9 ^b
<i>Chá Laranja*</i>	7,7 ± 1,3 ^a	6,2 ± 1,7 ^a	6,5 ± 1,6 ^a
<i>Chá Erva doce*</i>	7,7 ± 1,1 ^a	6,3 ± 2,3 ^a	6,7 ± 1,7 ^a

Dados expressos como média ± DP.

^{a,b} $P < 0,05$. Diferenças significativas entre as amostras para um mesmo atributo (análise de variância seguida do teste Tukey). Avaliado com escala hedônica de nove pontos, variando de “desgostei extremamente” (score 1) a “gostei extremamente” (score 9). N=50. *Chá com adição de aromatizante laranja ou erva doce.

influenciar não sua aceitação. Existem evidências de que o gosto e odor, quando são codificados em conjunto como um sabor, interatuam para modificar a percepção (PRESCOTT, 2012). Este estudo determinou que o chá de folhas de *M. indica* teve aceitação pelo consumidor, mesmo tendo adição de aromatizante, sugerindo o promotor desenvolvimento desta bebida.

Conclusão

Foi desenvolvido um chá com folhas de *M. indica*, caracterizado por seu teor de mangiferina, fenólicos totais e atividade antioxidante, assim como por ser uma bebida agradável para o consumidor. O estudo permitiu concluir que o chá de folhas *M. indica* é viável para ser consumido como fonte de compostos bioativos, constituindo uma estratégia para enriquecer a dieta com fitoquímicos. Estudos sobre os efeitos toxicológicos e biológicos do chá são necessários para avaliar o binômio das características de consumo *versus* respostas biológicas.

Agradecimentos

A todas as pessoas que colaboraram para o desenvolvimento deste estudo. Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do estado de Minas Gerais (FAPEMIG) N° 34/2013 e Fundação CAPES.

Referências

BAHORUN, T., LUXIMON-RAMMA, A., NEERGHEEN-BHUNJUN, V. S., *et al.* The effect of black tea on risk factors of cardiovascular disease in a normal population. **Preventive Medicine**, v.54, p.S98–S102. 2012.

BASSANI, D. C., NUNES, D. S. e GRANATO, D. Optimization of Phenolics and Flavonoids Extraction Conditions and Antioxidant Activity of Roasted Yerba-Mate Leaves (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil., Aquifoliaceae) using Response Surface Methodology. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v.86, n.2, p.923-933. 2014.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v.181, p.1199-1200. 1958.

BRASIL. **Informe Técnico. Esclarecimentos sobre a regulamentação de chás.** Gerência de Qualificação Técnica e Segurança de Alimentos e Gerência de Produtos Especiais. ANVISA. 2010.

CABRERA, C., ARTACHO, R. e GIMÉNEZ, R. Beneficial effects of green tea-a review. **The Journal of the American College of Nutrition**, v. 25, n.2, p. 79-99. 2006.

CÁDIZ-GURREA, M.L., FERNÁNDEZ-ARROYO, S., SEGURA-CARRETERO, A. Pine Bark and Green Tea Concentrated Extracts: Antioxidant Activity and Comprehensive Characterization of Bioactive Compounds by HPLC–ESI-QTOF-MS. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15. n. 11, p. 20382–20402. 2014.

CAIA, Y., LUOB, Q., SUNC, M., *et al.* Antioxidant activity and phenolic compounds of 112 traditional Chinese medicinal plants associated with anticancer. **Life Sciences**, v.74, n.17, p.2157–2184. 2004.

CHAN, E. W. C., LIM, Y. Y. e CHEW, Y. L. Antioxidant activity of *Camellia sinensis* leaves and tea from a lowland plantation in Malaysia. **Food Chemistry**, v.102, n.4, p.1214–1222. 2007.

DELLA, S., SOUZA, S. D., HENRIQUES, S., *et al.* Impacto de características sensoriais e não sensoriais na escolha e na aceitação de iogurte sabor morango. **Enciclopédia biosfera, Centro Científico Conhecer**, v.6, n.9, p.1. 2010.

DONATH, M. Y. Targeting inflammation in the treatment of type 2 diabetes: time to start. **Nature Reviews Drug Discovery**, v.13, p.465-476. 2014.

FOLIN, O. e CIOCALTEU, V. On tyrosine and tryptophane determinations in proteins **Journal of Biological Chemistry**, v.73, n.2, p.627-650. 1927.

GODOY, R.C.B, DELIZA, R., GHENO, L.B. *et al.* Consumer perceptions, attitudes and acceptance of new and traditional mate tea products. **Food Research International**, v 53, n.2, p. 801-807.2013.

GONG, X., ZHANG, L., JIANG, R., *et al.* Anti-inflammatory effects of mangiferin on sepsis-induced lung injury in mice via up-regulation of heme oxygenase-1. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, p.1173–1181. 2013.

HOLST, B. e WILLIAMSON, G. Nutrients and phytochemicals: from bioavailability to bioefficacy beyond antioxidants. **Current Opinion in Biotechnology**, v.19, n.2, p.73-82. 2008.

JIMÉNEZ, J. P., FEZEU, L., TOUVIER, M., *et al.* Dietary intake of 337 polyphenols in French adults. **The American Journal of Clinical Nutrition**, v.93, p.1220-1228. 2011.

JOBU, K., YOKOTA, J., S.YOSHIOKA, *et al.* Effects of Goishi tea on diet-induced obesity in mice. **Food Research International, Elsevier**, v.54, p.324-329. 2013.

JVE. Consumo de chá aumenta e se sofisticava no Brasil. **Jornal Valor Economico**. 2012. [Citado 2014]; Disponível em: <http://www.valor.com.br/empresas/2737452/consumo-de-cha-aumenta-e-se-sofistica-no-brasil>

KULKARNI, V. M. e RATHOD, V. K. Extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves using threephase partitioning coupled with ultrasound. **Industrial Crops and Products**, v.52, p.292– 297. 2014.

LIMA, M.B., ANDRADE, S.I.E, HARDING, D.P. *et al.* Turbidimetric and photometric determination of total tannins in tea using a micro-flow-batch analyzer. **Talanta, Elsevier**, v. 88, p. 717-723. 2012.

LIU, Y. W., ZHU, X., ZHANG, L., *et al.* Up-regulation of glyoxalase 1 by mangiferin prevents diabetic nephropathy progression in streptozotocin-induced diabetic rats. **European Journal of Pharmacology**, v.721, p.355-364. 2013.

LUO, F., FU, Y., XIANG, Y., et al. Identification and quantification of gallotannins in mango (*Mangifera indica* L.) kernel and peel and their antiproliferative activities. **Journal of Functional Foods**, v.8, n.0, 5, p.282-291. 2014.

MATKOWSKI, A., KUŚ, P., GÓRALSKA, E., et al. Mangiferin - a bioactive xanthonoid, not only from mango and not just antioxidant. **Mini Reviews in Medicinal Chemistry**, v.13, p.439-455. 2013.

MILENKOVIC, D., JUDE, B. e MORAND, C. miRNA as molecular target of polyphenols underlying their biological effects. **Free Radical Biology & Medicine**, v.64, p.40-51. 2013.

MINISTERIO DA SAÚDE. Resolução CFN, número 525/2013. Regulamenta prática de fitoterapia e revoga resolução 402. NUTRICIONISTAS., C. F. D.: Publicado no Diário Oficial da União de 28/6/2013. 2013.

MORIYAMA, H. e TAKEDA, N. Catechin contents in microbial fermented tea, Goichi tea. **Reports of Kochi Prefectural Industrial Technology Center**, v.39, p.7-9. 2008.

OGURA, S. e SHIMOSAWA, T. Oxidative stress and organ damages. **Current Hypertension Reports**, v.16, n.8, p.452. 2014.

PRESCOTT, J. Chemosensory learning and flavour: Perception, preference and intake. **Physiology & Behavior, Elsevier**, v. 107, p. 553-559. 2012.

PEREZ, J. M. R., GUEVARA, M. L. V., ZAFRILLA, P., et al. A new antioxidant beverage produced with green tea and apple. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v.65, n.5, p.552-557. 2014.

PONCE, M. T. F., CASAS, L., MANTELL, C., et al. Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green technologies. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.72, p.168–175. 2012.

PORT'S, P. D. S., CHISTÉ, R. C., GODOY, H. T., *et al.* The phenolic compounds and the antioxidant potential of infusion of herbs from the Brazilian Amazonian region. **Food Research International**, v.53, p.875–881. 2013.

PRABHU, S., JAINU, M., SABITHA, K. E., *et al.* Role of mangiferin on biochemical alterations and antioxidant status in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.107, n.1, p.126–133. 2006.

PRIOR, R. L. e CAO, G. Antioxidant capacity and polyphenolic components of teas: implications for altering in vivo antioxidant status. **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine**, v.220, n.4, p.255-261. 1999.

RODEIRO, I., DONATO, M. T., JIMÉNEZ, N., *et al.* Effects of *Mangifera indica* L. aqueous extract (Vimang) on primary culture of rat hepatocytes. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, n.12, p. 2506–2512. 2007.

SALEH, I. G., ALI, Z., ABE, N., *et al.* Effect of green tea and its polyphenols on mouse liver. **Fitoterapia, Elsevier**, v.90, p.151-159. 2013.

SNOUSSI, C., DUCROC, R., HAMDAOUI, M. H., *et al.* Green tea decoction improves glucose tolerance and reduces weight gain of rats fed normal and high-fat diet. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.25, n.5, p.557–564. 2014.

STONE, H. e SIDEL, J. L. **Sensory Evaluation Practices: Food science and technology**, v.2. 1993. 338 p.

UCHIYAMA, S., TANIGUCHI, Y., SAKA, A., *et al.* Prevention of diet-induced obesity by dietary black tea polyphenols extract in vitro and in vivo. **Nutrition**, v.27, n.3, p. 287–292. 2011.

VALLE, L. G. D., SERRANO, T., CALDERÓN, O., *et al.* Effect of Vimang in HIV/AIDS patients. **Revista Cubana de Medicina Tropical**, v.62, p.200-206. 2010.

VIDIGAL, M., MINIM, V., CARVALHO, N., *et al.* Effect of a health claim on consumer acceptance of exotic Brazilian fruit juices: Açai (*Euterpe oleracea* Mart.), Camu-camu (*Myrciaria dubia*), Cajá (*Spondias lutea* L.) and Umbu (*Spondias tuberosa* Arruda). **Food Research International**, v.44, p.1988-1996. 2011.

VUONG, Q. V., GOLDING, J. B., STATHOPOULOS, C. E., *et al.* Effects of aqueous brewing solution pH on the extraction of the major green tea constituents. **Food Research International**, v.53, n.2, p.713–719. 2013.

WAUTHOZ, N., BALDE, A., BALDE, E. S., *et al.* Ethnopharmacology of *Mangifera indica* L. Bark and Pharmacological Studies of its Main C Glucosylxanthone, Mangiferin. **International Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v.1, n.2, p.112-119. 2007.

WONG, S. P., LEONG, L. P. e KOH, J. H. W. Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants. **Food Chemistry**, v.99, n.4, p.775–783. 2006.

ZALETA, B., SILVA, M. T., GUTIÉRREZ, A., *et al.* UV/vis, ¹H, and ¹³C NMR spectroscopic studies to determine mangiferin pK_a values. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v.64, n.4, p.1002-1009. 2006.

ZHAO, D. e SHAH, N. P. Antiradical and tea polyphenol-stabilizing ability of functional fermented soymilk–tea beverage. **Food Chemistry**, v.158, p.262–269. 2014.

CAPITULO 3

Efeito anti-obesidade do chá de folhas de *Mangifera indica* L. var. Ubá em ratos alimentados com dieta hiperlipídica

Anti-obesity effect of *Mangifera indica* L. (variety Ubá) leaves tea in rats fed by high fat diet

Resumo

O uso de plantas como fonte de fitoterápicos e o desenvolvimento de alimentos com propriedades benéficas à saúde tem aumentado nos últimos anos. Devido às propriedades funcionais, os chás à base de plantas estão sendo implementados como coadjuvantes na redução do risco de doenças crônicas não transmissíveis. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do chá de folhas de *M. Indica* L. na modulação das alterações metabólicas em ratos alimentados com dieta hiperlipídica (HFD). O modelo de obesidade foi induzido em 16 ratos machos Wistar adultos por alimentação com dieta HFD durante 7 semanas. Após, os ratos foram redistribuídos considerando a homogeneidade dos fatores de risco metabólico (peso corporal, glicemia de jejum e índice de Lee), em dois grupos: dieta hiperlipídica e água (HFD) (n=8) e dieta hiperlipídica suplementada com chá (HFD-TT) (n=8). O chá de folhas de *M. Indica* foi administrado por mas oito 8 semanas. O grupo controle (n=8) recebeu dieta AIN-93M. Foi realizado o controle de consumo de dieta e chá e foram avaliados os parâmetros biométricos, bioquímicos e histomorfométricos. Além disso, foi conduzido o teste de tolerância oral à glicose e foram determinadas as concentrações das citocinas IL-10 e TNF- α no plasma e o nível de expressão de PPAR- γ , LPL e FAS no tecido adiposo epididimal. Foi realizada uma análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste Tukey ou Dunn's ($P < 0,05$), considerando os dados paramétricos ou não paramétricos. O consumo médio do chá foi de $24,7 \pm 2,1$ mL/dia. A dieta hiperlipídica aumentou as concentrações séricas de ALT, AUR e da glicose e favoreceu a deposição de gordura, aumentando o tecido adiposo total, o tamanho de adipócitos e o acúmulo de lipídios no tecido hepático. Também, elevou os níveis da citocina pro-inflamatória TNF- α e reduziu a expressão de PPAR- γ . No grupo de animais suplementados com o chá de folhas *M. indica* foram observados efeitos anti-inflamatórios

com o aumento da citocina IL-10 e da expressão de LPL e PPAR- γ . Análises histomorfométricas evidenciaram os efeitos modulatórios do chá na redução do acúmulo de gordura nos tecidos hepático e epididimal. O chá estimulou a expressão de PPAR- γ e de LPL e diminuiu a expressão da FAS. Os resultados mostraram o efeito anti-obesidade do chá de folhas de *M. indica* por mecanismos de regulação gênica que melhoram o estado metabólico dos tecidos adiposo epididimal e hepático.

Palavras chave: Anti-inflamatório, Expressão gênica, Fitoterápico, Manga, Tecido adiposo.

Abstract

The use of plants as phyto-therapeutic and food development with beneficial health properties has increased in recent years. Because of the functional properties, the herbal teas are being implemented as adjunct treatment and reducing the chronic disease risks. This study aimed to evaluate the effects of *Mangifera indica* L. leaves tea, in the modulation of metabolic changes in rats fed by high fat diet (HFD). A model of obesity was induced in 16 adult male Wistar rats fed by HFD diet for 7 weeks. After the rats were redistributed considering the homogeneity of metabolic risk factors (body weight, fasting glucose and Lee index), into two groups: high-fat diet and water (HFD) (n=8) and high-fat diet supplemented with tea (HFD-TT) (n=8). The *M. indica* leaves tea was administered along other 8 weeks. A control group (n = 8) received the AIN-93M diet. It was conducted the diet and tea consumption control and were evaluated biometric, biochemical and histomorphometric parameters. In addition, it was tested the oral glucose tolerance and were determined the IL-10 and TNF- α cytokines concentrations in plasma and the PPAR- γ , LPL and FAS levels expression in epididymal adipose tissue. An analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's or Dunn's test (P <0.05), was performed, considering parametric or non-parametric data. The average tea consumption was 24.7 ± 2.1 mL / day. The fat diet increased the concentration of ALT, AUR and glucose, and favored the fat deposition, increasing the total adipose tissue, the adipocytes size and lipid accumulation liver tissue. Also, it raises the levels of pro-inflammatory cytokine TNF- α and reduces the expression of PPAR- γ . In the group of animals supplemented by *M. indica* leaves tea, anti-inflammatory effects were observed with

increased of IL-10 cytokine, LPL and PPAR- γ expression. Histomorphometric analyses showed the modulatory effects of tea on reducing the lipids accumulation and fat droplets in liver and epididymal tissue. The tea modulated gene expression in epididymal adipose tissue, stimulating the expression of PPAR- γ and lipoprotein lipase and, reducing the expression of fat acid synthase. The results showed anti-obesity effect of *Mangifera indica* L. leaves tea for gene regulation mechanisms that improve the metabolic state of epididymal adipose tissue and liver.

Keywords: Adipose tissue, Anti-inflammatory, Genic expression, Mango, Phytotherapy.

1. Introdução

A obesidade é uma doença crônica com alterações fisiopatológicas associadas ao excesso de adiposidade corporal, apresentando forte associação com a morbimortalidade dos indivíduos portadores (GARVEY *et al.*, 2014). Na atualidade, a obesidade e suas comorbidades constituem um dos maiores problemas de saúde pública em diversos países, sendo considerada uma epidemia mundial crescente. A prevalência da obesidade varia segundo a idade, gênero e etnia, podendo ser encontrada em qualquer setor demográfico (AMUNDSON *et al.*, 2010). Na obesidade, o rompimento da homeostase energética favorece as desordens metabólicas no tecido adiposo, resultando em várias alterações sistêmicas como a resistência insulínica, esteatose com disfunção hepática, dislipidemias com alteração de níveis pressóricos, constituído a denominada síndrome metabólica (SM) (GRUNDY *et al.*, 2004). A SM é um diagnóstico clínico, que inclui amplas variações fenotípicas em indivíduos com uma predisposição endógena determinada geneticamente e condicionada por fatores ambientais. Caracteriza-se pela presença da resistência insulínica associada aos transtornos do metabolismo de carboidratos, elevação da pressão arterial, alterações lipídicas séricas (hipertrigliceridemia, diminuição do HDL, aumento do LDL, aumento dos ácidos graxos livres e lipidemia pós-prandial) e obesidade central. Fatores ambientais tais como o sedentarismo e dieta hipercalórica rica em gorduras e carboidratos são os mais relacionados à síndrome metabólica (ALBORNOZ; PEREZ, 2012).

Na obesidade estão presentes processos inflamatórios e estresse oxidativo, com o aumento de citocinas pró-inflamatórias (TNF- α – IL-6) causado pela deposição de gordura em órgãos e tecidos envolvidos na regulação do metabolismo energético. Genes

como IL-10 e PPAR- γ (anti-inflamatórios), LPL (lipólise) e FAS (lipogênese) estão relacionados à obesidade (HOTAMISLIGIL *et al.*, 1995; CHEN *et al.*, 2009; CHIBA *et al.*, 2012; BRITO, 2013; EL-WAKKADA *et al.*, 2013)

Com a obesidade surge a lipogênese, processo que favorece o aumento do colesterol e triacilgliceróis, e é associado à esteatose hepática e às alterações no tecido adiposo produzindo hipertrofia e hiperplasia dos adipócitos (SCHMID *et al.*, 2005, MATHERLY; PURI, 2012).

O uso de chás e bebidas à base de ervas, tem sido estudado como fonte de fitoterápicos com atividades biológicas anti-obesidade (HONGLI *et al.*, 2013; JOBU *et al.*, 2013). Vários compostos bioativos (fenólicos, antioxidantes, xantonas e outros) presentes na *Mangifera indica* L. foram identificados (RIBEIRO *et al.*, 2008; PARALAFX *et al.*, 2012; LUO *et al.*, 2014). Até a data não foram reportados os efeitos biológicos do chá de folhas de *M. indica* nos processos relacionados às alterações metabólicas associadas à obesidade. Estudos evidenciaram altas concentrações de mangiferina (fitoquímico com propriedades farmacológicas) tanto no fruto como nas folhas da árvore de *M. indica* (PONCE *et al.*; 2012; KULKARNI; RATHOD, 2014). Foram comprovadas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabetes, imunomodulatórias e antitumorais, da mangiferina (DUANGA *et al.*, 2011; DAS *et al.*, 2012; GONG *et al.*, 2013).

Neste estudo foi avaliado o efeito de um chá preparado com folhas jovens processadas de *M. indica* da variedade Ubá, nas alterações metabólicas associadas à obesidade, induzidas pela dieta hiperlipídica em ratos.

2. Materiais e métodos

2.1. Preparo do chá

O chá foi preparado com folhas jovens da árvore de *Mangifera indica* da variedade Ubá coletadas na zona da Mata Mineira (Brasil), exsicata No. VIC37611 no herbário da Universidade Federal de Viçosa. As folhas foram higienizadas, secas a $55 \pm 2^\circ\text{C}$ durante 38 horas em estufa ventilada (Marconi, MA 035) e trituradas (Moinho Rotor MA-090CFT) até obter um pó fino. Cinquenta gramas de folhas processadas foram adicionadas em 1 litro de água quente, mantendo fervura durante 5 min e posteriormente a mistura foi filtrada (papel filtro, Melitta N.4). Todos os estudos foram realizados com o

mesmo lote de folhas para evitar variações das propriedades físico-químicas. A concentração de mangiferina no chá, determinada por CLAE, foi de $0,717 \pm 0,08$ (mg. mL⁻¹) e o teor de compostos fenólicos, determinado pelo método de Folin-Ciocalteu, foi de $1,595 \pm 0,11$ (mg EAG. mL⁻¹). O chá foi produzido e administrado diariamente durante o experimento.

2.2. *Experimento, animais e dietas*

Vinte e quatro ratos machos Wistar adultos (11 semanas), adquiridos do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Viçosa, foram mantidos em condições padrão gaiolas separadas, com ciclo claro/escuro de 12 horas, umidade relativa de $80 \pm 5\%$ e temperatura controlada $22^{\circ}\text{C} \pm 3^{\circ}\text{C}$. Durante 7 semanas um grupo de animais (n=8) foram alimentados com dieta controle AIN93-M (ANEXO 4) e outro (n=16) com hiperlipídica HFD (ANEXO 5) e água *ad libitum* (período de indução de obesidade). Ao final deste período, foram avaliados o peso corporal, glicemia de jejum e calculado o índice de Lee para identificar a incidência de risco metabólico e distribuir os animais alimentados com HFD de maneira homogênea entre dois grupos: hiperlipídica e água (HFD, n=8) e hiperlipídica mais tratamento com chá (HFD-TT, n=8). Foram oferecidos 50 mL de chá por dia para cada animal do grupo HFD-TT, em substituição à água durante mais 8 semanas. O grupo controle recebeu a dieta AIN93M e água durante todo o experimento. Ao final, os ratos foram anestesiados com isoflurano 100% (Cristalia) e eutanasiados por punção cardíaca, sendo coletados o sangue e retirados os tecidos adiposos abdominal e epididimal e o fígado. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais CLUA/UFV sob o número 34/2013 (ANEXO 6).

2.3. *Parâmetros avaliados*

2.3.1. *Consumo de dieta, chá e parâmetros biométricos*

O peso corporal dos animais foi avaliado e calculado o índice de Lee (NOVELLI *et al.*, 2007) no início e no final do tratamento. Foi determinado o ganho de peso e foram pesados o tecido adiposo abdominal, epididimal e o fígado (Balança Gehaka BG 2000). O consumo de dieta, calórico e de chá foram analisados a cada 24 horas durante as 8 semanas.

Índice de Lee= [raiz cúbica $^3\sqrt{}$ (peso corporal (g)/comprimento naso-anal (cm))]

2.3.2. *Constituintes bioquímicos do sangue*

Concentrações séricas de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), ácido úrico (AUR), creatinina (CRE), colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade (HDL), triacilglicerídeos (TG) e glicose (GLU) foram determinadas por meio de kits comerciais (Bioclin Quibasa, BRASIL) utilizando o equipamento BS 200 (Mindray). A insulina foi determinada utilizando o kit da ALPCO (USA), e a capacidade antioxidante total (CAT) foi avaliada por meio do Assay Antioxidant (Sigma-Aldrich, USA). Todas as análises foram realizadas seguindo as especificações do fabricante.

2.3.3. *Teste de tolerância à glicose e HOMA-IR*

Após a 7^a semana de indução da obesidade, os animais alimentados com a dieta hiperlipídica foram deixados em jejum por 12 h para se submeterem ao teste de tolerância oral à glicose. A solução de glicose 2% (5 mL.kg⁻¹ de peso corporal) foi oferecida por meio de gavagem. O sangue foi retirado da veia da cauda nos tempos 0, 30, 60, 90, e 120 min após a administração da solução de glicose. A glicemia foi medida utilizando o equipamento comercialmente disponível (Accutrend[®]GCT, Roche). Foram determinadas a glicemia de jejum (mg/dL) e a insulina de jejum (μU/mL) utilizando kits comerciais (ALPO, USA) para calcular o índice de *HOMA-IR*.

$$HOMA-IR = [\text{glicemia de jejum (mg/dL)} * 0,055 * \text{insulina de jejum (}\mu\text{U/mL)}] / 22,5$$

2.3.4. *Concentrações de TNF-α e IL-10 no plasma*

As concentrações das proteínas TNF-α e IL-10 foram analisadas no plasma por citometria de fluxo seguindo as especificações do fabricante, utilizando o kit Soluble Protein Master Buffer BD (USA) para ratos e o equipamento BD FACS Verse.

2.3.5. *Análise histológica de hepatócitos e adipócitos*

Fragmentos do fígado e tecido adiposo epididimal dos 8 animais de cada grupo, foram fixados em formalina 10% e incluídos em resina glicolmetacrilato (Leica, Histoiresin[®]) e parafina respectivamente. Secções de 5μm foram laminadas e coradas com hematoxilina-eosina (HE). As imagens foram obtidas usando microscópio Nikon-Elipse

E600YF-L (Japão). Foram utilizados os softwares: ImageJ (Fiji) para medir a porcentagem de núcleos, gotículas de gordura, infiltrados inflamatórios, citoplasma e vasos sanguíneos no tecido hepático, Image-Pro Plus 7.0 para determinar o diâmetro de núcleo e citoplasma de hepatócitos e Adiposoft (Fiji) para analisar área, diâmetro equivalente e número de adipócitos no tecido adiposo.

2.3.6. *Nível de expressão de genes no tecido adiposo epididimal*

Os níveis de expressão de mRNA no tecido adiposo epididimal de 4 animais de cada grupo experimental, foram determinados utilizando o kit Syber Green (Applied, USA), seguindo as especificações do fabricante. O RNA foi extraído do tecido adiposo epididimal usando o reagente TRIzol (InvitrogenTM, USA). Foram analisados pela reação em cadeia da polimerase em tempo real (RT-PCR) os seguintes genes: receptor ativado do proliferador de peroxissoma (PPAR- γ), ácido graxo sintase (FAS) e lipoproteína lipase (LPL), sendo utilizado o gliceraldeído-3-fosfato-desidrogenase (GAPDH) como gene endógeno de referência. A síntese de cDNA foi realizada utilizando o kit M-MV Reverse transcriptase (InvitrogenTM, USA). Para quantificar por PCR em tempo real foi usado o kit TaqMan® Fast Advanced Master Mix (InvitrogenTM, USA). Todos os nucleotídeos foram adquiridos de Alpha DNA (Canadá) e são apresentados na Tabela 1. As reações de PCR foram realizadas a 95°C por 30s e submetidas a 40 ciclos de 95°C por 5s, 55°C por 30s e 72°C por 30s (Deoxyribonuclease I, Amplification Grade). As análises foram feitas em duplicata, sendo expressos os valores médios de cada grupo. Foram traçadas curvas de fusão para verificar a pureza do produto. Os níveis relativos de expressão de cada gene foram determinados pelo método 2- $\Delta\Delta$ Ct no AB SepOne Real Time PCR System (Applied Biosystem) software.

Tabela 1

Oligonucleotídeos utilizados na análise de PCR tempo real

Nome	Iniciador senso (5' - 3')	Iniciador antisenso (5' - 3')	Número de acesso
PPAR- γ	CATTCTGCTCCACACTATGAA	CGGGAAGGACTTTATGTATGAG	537716 - 537717
FAS	AGCCCCTCAAGTGCACAGTG	TGCCAATGTGTTTTCCCTGA	537710 - 537711
LPL	CAGCTGGGCCTAACTTTGAG	CCTCTCTGCAATCACACGAA	537712 - 537713
GAPDH	AGGTTGTCTCCTGTCACTTC	CTGTTGCTGTAGCCATATTC	537675 - 537676

Todos os oligonucleotídeos foram adquiridos de Alpha DNA (CANADÁ).

2.4. Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão (DP) ou média \pm erro padrão (EP). As análises estatísticas foram realizadas por meio de análise de variância (ANOVA) seguida pelo teste Tukey. O teste de Kruskal-Wallis, seguido pelo teste de Dunn's, foi utilizado para analisar os dados não paramétricos. O software utilizado foi o SPSS- Statistic V20 (IBM, CANADA) e as diferenças foram consideradas significantes quando $P < 0,05$ em todas as análises.

3. Resultados

3.1. Consumo da dieta, chá e parâmetros biométricos

Os resultados do consumo de dieta, energético, do chá e parâmetros biométricos após as 8 semanas de tratamento são apresentados na Tabela 2. Cada animal teve um consumo médio do chá de $24,7 \pm 2,1$ mL/dia, estável durante o tratamento. O consumo de dieta do grupo AIN-93M foi estatisticamente maior comparado com o HFD e HFD-TT. Os resultados indicaram que não houve diferenças significantes no consumo energético. O ganho de peso foi significativamente maior no grupo HFD em relação aos grupos AIN93

Tabela 2

Influência do chá de folhas *M. indica* no consumo de dieta, energia consumida, ganho de peso, peso dos órgãos e nos parâmetros biométricos.

	AIN93	HFD	HFD-TT
Consumo do Chá (mL/ dia)	-	-	$24,7 \pm 2,1$
Consumo de dieta (g/ dia)	$19,3 \pm 2,4^a$	$15,4 \pm 1,6^b$	$14,1 \pm 5,4^b$
Energia consumida (Kcal/ dia)	$73,3 \pm 9,2$	$71,0 \pm 7,2$	$64,7 \pm 4,6$
<i>Peso corporal (g)</i>			
Inicial	$371,7 \pm 20,0^b$	$413,6 \pm 32,3^a$	$423,3 \pm 29,5^a$
Final	$435,7 \pm 21,7^b$	$503,1 \pm 35,3^a$	$67,6 \pm 41,7^{ab}$
Ganho	$64,0 \pm 19,5^b$	$89,5 \pm 17,5^a$	$44,0 \pm 18,4^b$
<i>Índice de Lee</i>			
Inicial	$2,5 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$	$2,5 \pm 0,1$
Final	$2,6 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$	$2,6 \pm 0,1$
<i>Peso órgãos (g)</i>			
Tecido adiposo total	$20,6 \pm 9,1^b$	$44,4 \pm 13,6^a$	$25,7 \pm 8,7^b$
Tecido adiposo epididimal	$0,4 \pm 0,1^b$	$0,7 \pm 0,1^a$	$0,5 \pm 0,1^b$
Fígado	$12,6 \pm 0,9^b$	$18,1 \pm 3,2^a$	$15,0 \pm 2,1^b$

Resultados expressos como média \pm DP (n=8). AIN93, dieta controle; HFD, dieta hiperlipídica; HFD-TT, dieta hiperlipídica e tratamento com chá.

^{a,b} $P < 0,05$. Diferenças significativas entre grupos (análise de variância seguida pelo teste de Tukey).

e HFD-TT. Não houve diferenças entre os três grupos no indicador de massa corporal (Índice de Lee). O tecido adiposo total, epididimal e o fígado, apresentaram maiores pesos no grupo HFD que nos grupos AIN93 e HFD-TT.

3.2. Efeito do chá sobre os parâmetros bioquímicos séricos

Os efeitos do chá sobre os parâmetros bioquímicos são apresentados na Tabela 3. Os indicadores de função hepática (ALT) e função renal (AUR) foram elevados no grupo HFD. Não foram identificadas diferenças no perfil de colesterol e TG entre os grupos. A glicemia de jejum foi estatisticamente menor no grupo HFD-TT comparado com o grupo HFD. A capacidade antioxidante foi significativamente menor no grupo HFD em comparação com o grupo AIN93, e não diferiu do grupo HFD-TT.

3.3. Efeito do chá no metabolismo da glicose

O efeito do chá e da dieta hiperlipídica no metabolismo da glicose, avaliado pelo teste de tolerância oral à glicose (TTOG) e o índice de *HOMA-IR* calculado está representado na Figura 1. Houve um aumento de 48% na glicemia nos grupos AIN93 e HFD após os 60 min da administração da solução de glicose e de 40% no grupo HFD-TT. Após as duas horas de administração de glicose, os valores de glicemia nos grupos AIN93, HFD e HFD-TT foram 124,2±10,7; 129,7±5,2 e 111,3±12,1 mg/dL respectivamente. As curvas de glicemia não apresentaram diferenças significativas entre os grupos; embora no HFD-

Tabela 3

Efeito do chá de folhas de *M. indica* nos parâmetros bioquímicos em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, após 8 semanas de tratamento.

	AIN93		HFD		HFD-TT	
	Média (DP)	Mediana (IQ)	Média (DP)	Mediana (IQ)	Média (DP)	Mediana (IQ)
AST (U/L)	150,4 (47,4)	128,0 (78,0)	158,4 (51,7)	141,0 (69,0)	148,3 (17,0)	148,0 (28,0)
ALT (U/L)	47,2 (8,0) ^b	45,0 (13,0)	224,8 (78,7) ^a	224,0 (149,0)	42,4 (5,9) ^b	45,0 (12,0)
AUR (mg/dL)	1,5 (0,4) ^b	1,3 (0,8)	2,5 (0,2) ^a	2,6 (0,3)	2,0 (0,4) ^b	2,1 (0,8)
CRE (mg/dL)	0,6 (0,1)	0,6 (0,2)	0,6 (0,1)	0,6 (0,2)	0,7 (0,1)	0,7 (0,1)
Colesterol (Cmg/dL)						
Total	68,2 (8,4)	65,5 (17,0)	71,2 (12,3)	68,5 (26,0)	59,0 (7,9)	58,0 (10,0)
HDL	23,2 (1,3)	23,0 (3,0)	21,8 (4,6)	21,5 (10,0)	22,0 (0,7)	22,0 (1,0)
TG (mg/dL)	64,4 (9,8)	63,0 (19,0)	74,0 (22,3)	80,0 (44,0)	55,2 (16,7)	49,0 (32,0)
Glicemia de jejum (mg/dL)	111,3 (15,3) ^b	113,5 (23,5)	135,7 (8,2) ^a	135,0 (15,7)	103,8 (7,4) ^b	101 (9,0)
Insulina de jejum (µUI/mL)	19,0 (3,2) ^a	0,7 (0,5)	5,6 (0,8) ^b	0,6 (0,1)	16,16 (1,2) ^a	0,6 (0,2)
CAT	0,6 (0,0) ^a	0,6 (0,0)	0,4 (0,0) ^c	0,4 (0,1)	0,5 (0,1) ^b	0,5 (0,2)

Resultados expressos como média, desvio padrão, mediana e intervalo interquartilico (n=8). AIN93, dieta controle; HFD, dieta hiperlipídica; HFD-TT, dieta hiperlipídica e tratamento com chá; AST, aspartato aminotransferase; ALT, alanina aminotransferase; AUR, ácido úrico; CRE, creatinina; HDL, lipoproteína de alta densidade; TG, triacilglicerídeos; CAT, capacidade antioxidante total. ^{a,b,c}P<0,05. Diferenças significativas entre os grupos (Kruskal-Wallis seguida, post hoc de Dunn's).

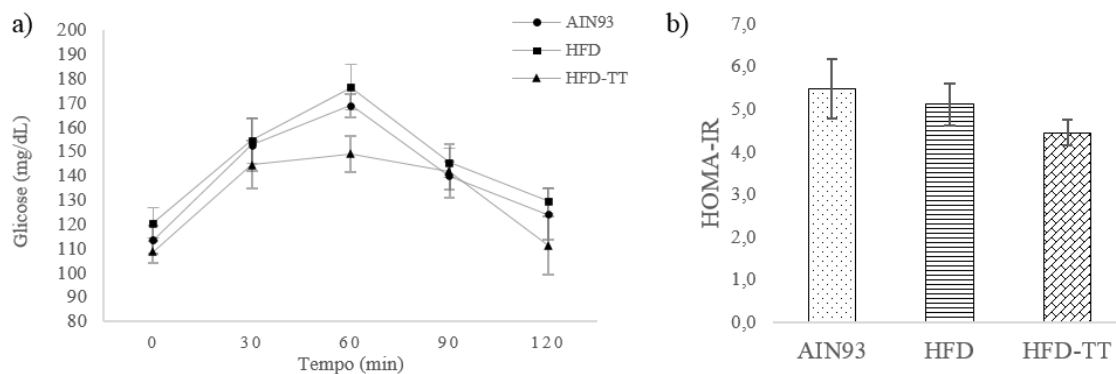


Figura 1. a) Teste de tolerância oral à glicose e b) Índice de HOMA-IR. Após determinar a glicose de jejum, foram administrados 5 mL.Kg^{-1} de glicose via oral nos ratos, sendo medida a concentração de glicose nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 min. Os valores são expressos como média \pm EP (n=8). Não foram identificadas diferenças significativas entre os grupos (análise de variância).

TT o perfil da curva tenha demonstrado um achatamento entre os 30 e 90 min após a administração de glicose. O índice de HOMA-IR não diferiu estatisticamente entre os grupos.

3.4. Efeito anti-inflamatório e pro-inflamatório do chá

Os resultados das concentrações de citocinas TNF- α e IL-10 no plasma estão apresentados na Figura 2. Valores elevados de TNF- α (citocina pro-inflamatória), foram observados no grupo HFD-TT, produzindo uma estimulação na produção da citocina anti-inflamatória IL-10. Não foram observadas diferenças significativas na concentração de IL-10 entre os grupos AIN93 e HFD-TT. Menores concentrações de TNF- α foram encontradas no grupo AIN93.

3.5. Efeito do chá nos tecidos hepático e epididimal

3.5.1. Hepatócitos

Foram observadas alterações significativas na composição do tecido hepático entre os grupos AIN93, HFD e HFD-TT após as 8 semanas de tratamento (Tabela 4). No grupo HDF, aproximadamente 50% da composição hepática correspondeu à gordura, evidenciando um acúmulo significativo de lipídios no órgão (Tabela 4 e Figura 3b). Não

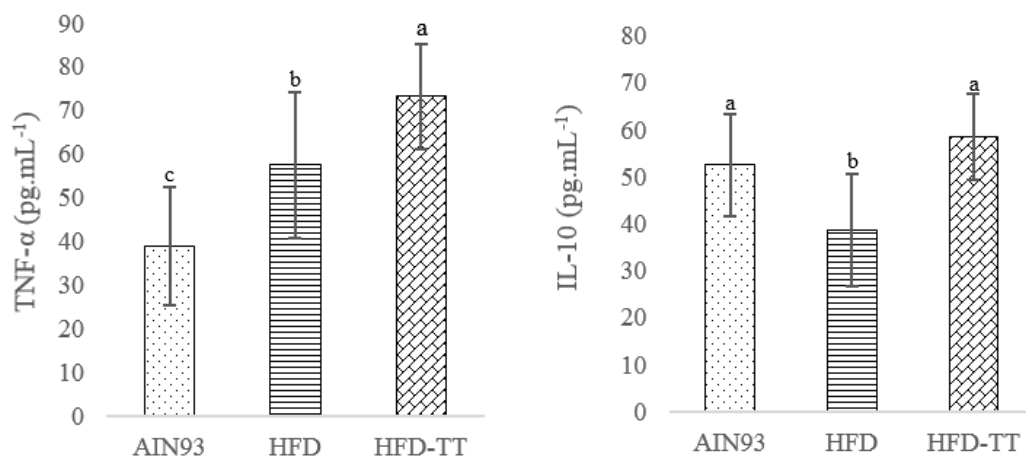


Figura 2. Concentrações plasmáticas (pg. μm^{-1}) de IL-10 e TNF- α em ratos alimentados com dieta controle (AIN93), hiperlipídica (HFD) e hiperlipídica suplementada com chá (HFD-TT). Dados expressos como média \pm EP (n=8).

^{a,b,c}P<0,05. Diferenças significantes entre grupos (análise de variância seguida pelo teste de Tukey).

foram detectadas diferenças na porcentagem de gordura, citoplasma e vasos sanguíneos entre grupos AIN93 e HFD-TT. Tanto a dieta hiperlipídica como o chá não influenciaram a porcentagem de infiltrados inflamatórios no tecido hepático. Um conjunto de células hepáticas do grupo HFD foi caracterizado por ter o citoplasma de grande tamanho com elevado acúmulo de gordura, corroborado pela análise morfométrica (Figura 3b-d). O chá de folhas de *M. indica* teve efeitos positivos sobre o tecido hepático ao reverter as alterações induzidas pela dieta hiperlipídica, de tal forma que não houve diferenças significantes entre os grupos AIN93 e HFD-TT (Figura 3a-c). Foi observada uma diminuição bastante significativa na porcentagem de gordura no grupo tratado com o chá em relação ao grupo alimentado com dieta hiperlipídica, a qual passou de um 50% para um 7% aproximadamente.

3.5.2. Adipócitos

A análise histológica mostrou que o chá apresenta efeito significativo ao diminuir o depósito de gordura nas células adiposas e reverter as alterações induzidas pela dieta hiperlipídica (Figura 4). Os resultados mostraram um conjunto de células adiposas de grande tamanho no grupo de ratos alimentados com dieta hiperlipídica HFD (Figura 4b); no entanto, não houve diferenças entre o grupo controle (AIN-93M) e o grupo

Tabela 4

Efeito do chá de folhas de *M. indica* sobre o parâmetros morfométricos do fígado de ratos Wistar machos adultos alimentados com dieta hiperlipídica, após 8 semanas de tratamento.

	AIN93	HFD	HFD-TT
Núcleo	7,1 ± 0,8 ^a	4,5 ± 0,9 ^b	5,3 ± 0,7 ^b
Gordura	1,4 ± 0,5 ^b	46,3 ± 7,3 ^a	6,8 ± 3,3 ^b
Infiltrado inflamatório	1,7 ± 0,3	1,7 ± 0,4	1,4 ± 0,3
Citoplasma	10,7 ± 2,3 ^a	7,5 ± 1,1 ^b	10,2 ± 1,4 ^a
Vasos sanguíneos	78,8 ± 2,1 ^a	39,9 ± 6,8 ^b	75,5 ± 3,1 ^a

Porcentagem por área de 52900 μm^2 , expressa como média \pm DP (n=8). AIN93, dieta controle; HFD, dieta hiperlipídica; HFD-TT, dieta hiperlipídica e tratamento com chá.

^{a,b}P<0,05. Diferenças significativas entre grupos (análise de variância seguida pelo teste Tukey).

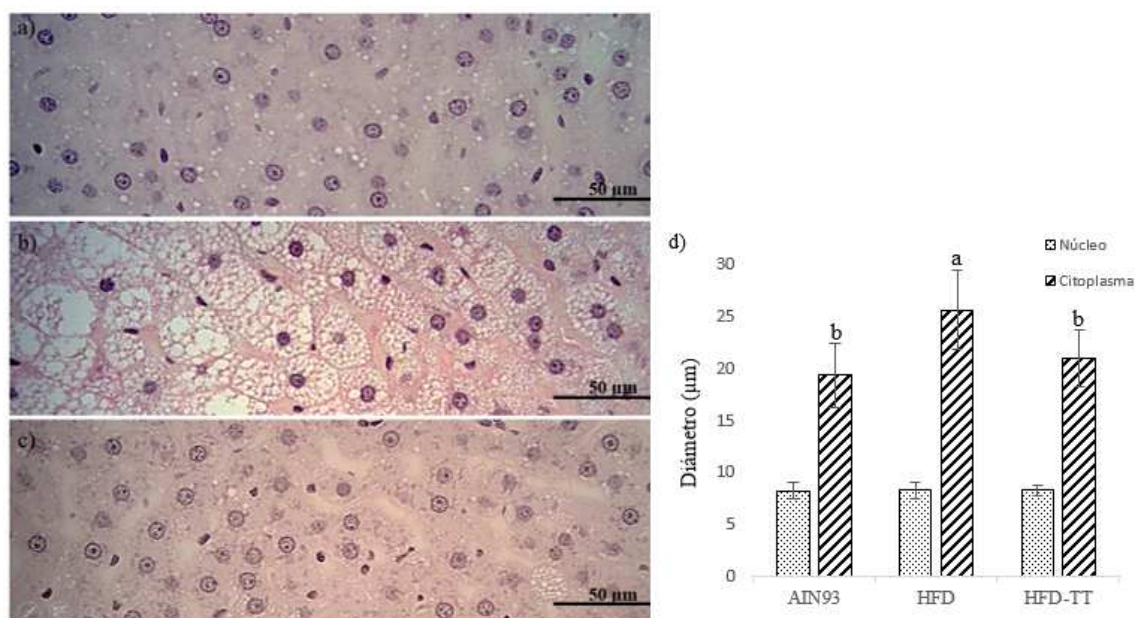


Figura 3. Histologia do tecido hepático de ratos alimentados com a) AIN93, dieta controle; b) HFD, dieta hiperlipídica; c) HFD-TT; dieta hiperlipídica suplementada com chá; d) Relação núcleo-plasmática dos hepatócitos.

Dados apresentados como média \pm DP (n=8).

^{a,b}P<0,05. Diferenças significativas entre grupos (análise de variância seguida pelo teste Tukey).

tratado com chá HFD-TT (Figura 4a-c). A área e o diâmetro equivalente foram menores nos grupos AIN93 e HFD-TT e o número de adipócitos foi significativamente menor no grupo HFD (Figura 4d-e-f).

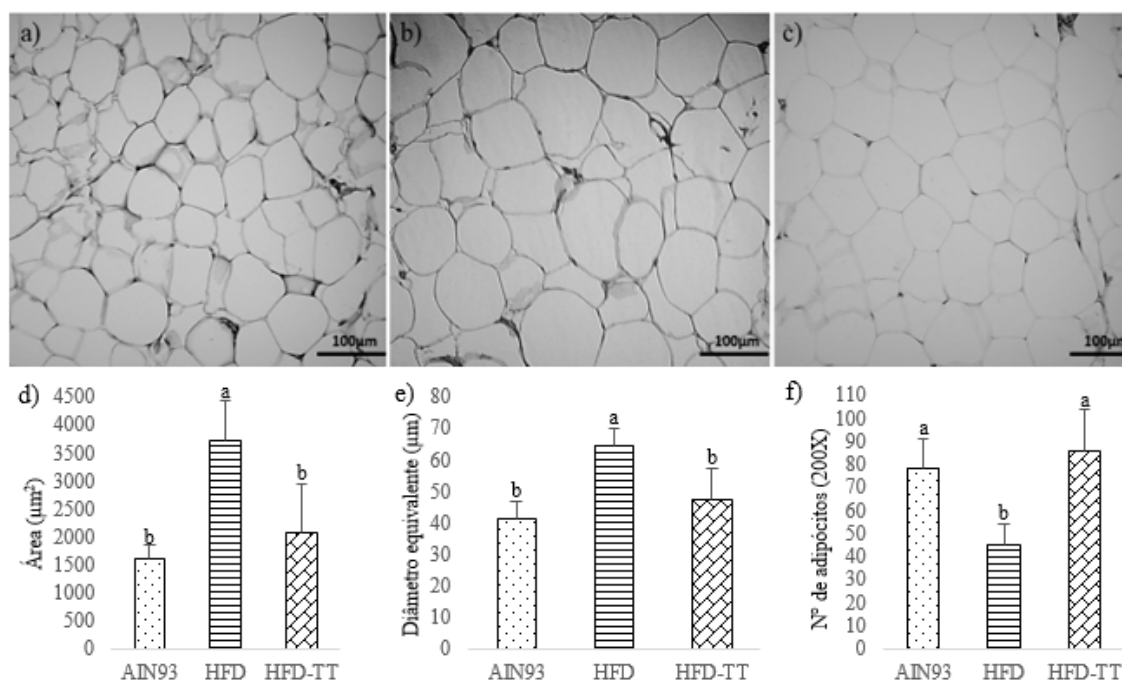


Figura 4. Histologia do tecido adiposo epididimal de ratos alimentados com a) AIN93, dieta controle; b) HFD, dieta hiperlipídica; c) HFD-TT; dieta hiperlipídica suplementada com chá. Medições do d) tamanho do adipócito, e) diâmetro equivalente, f) número de adipócitos. Resultados expressos como média \pm DP (n=8).

^{a,b} $P < 0,05$. Diferenças significativas entre grupos (Kruskal-Wallis, post hoc de Dunn's).

3.6. Efeito do chá no metabolismo de lipídios

Os níveis de expressão de mRNA de PPAR- γ , FAS e LPL, são apresentados na Figura 5. Menor expressão de PPAR- γ (71% de redução) foi observada no grupo HFD não havendo diferenças significativas entre os grupos AIN93 e HFD-TT. Houve redução significativa da expressão de FAS nos animais que receberam o chá, comparado com aqueles que receberam as dietas controle (39,6%) ou hiperlipídica (48,3%). O nível de expressão de LPL no grupo HFD-TT foi mais elevado (31,8 e 59,9%) em comparação com o grupos AIN93 e HFD, respectivamente.

4. Discussão

No presente estudo, foram avaliados os efeitos do chá de folhas de *Mangifera indica* L. no acúmulo de gordura total e peso corporal, assim como sobre as alterações

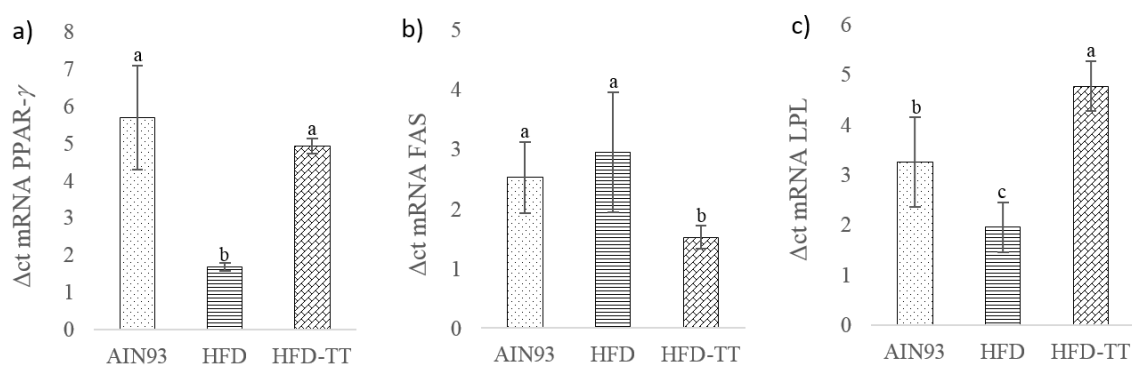


Figura 5. Níveis de expressão de mRNA de receptor ativado do peroxissoma (PPAR- γ), ácido graxo sintase (FAS) e lipoproteína lipase (LPL) determinadas por RT-PCR. Dados expressos como média \pm EP (n=4).

^{a,b,c}P<0,05. Diferenças significativas entre grupos (análise de variância seguida pelo teste Tukey).

relacionadas ao risco metabólico, incluindo os processos inflamatórios e expressão de genes lipogênicos e lipolíticos, em animais alimentados com dieta hiperlipídica.

Verificou-se que mesmo não havendo influência sobre a massa corporal total nos grupos, avaliada pelo índice de Lee, foi observado ganho de peso corporal e acúmulo do tecido adiposo abdominal total no grupo alimentado com dieta hiperlipídica, o que era esperado. O chá favoreceu a diminuição do ganho de peso corporal e reduziu a deposição de gordura, ainda que o consumo energético tenha sido igual.

Não houve diferenças entre os grupos tratados com chá e controle para os parâmetros bioquímicos séricos. Contudo, o chá melhorou a função hepática dos animais mesmo na condição de consumo da dieta hiperlipídica.

A dieta hiperlipídica induziu aumento da concentração da enzima alanina aminotransferase, característica do fígado gorduroso, indicando a presença de esteatose hepática (ANGULO, 2007). No presente estudo não houve alteração na concentração de creatinina, isto foi importante considerando que é um marcador da função renal. O ácido úrico (AUR) pode ser facilmente influenciado pelo consumo inadequado de gorduras e açúcares que podem gerar aumento do peso corporal e levar à obesidade, doença associada com seu aumento e dificuldade na sua excreção. A diminuição do AUR no grupo tratado com o chá pode estar relacionada com menor ganho de peso corporal, que influencia na redução dos níveis de AUR (JOHNSON *et al*, 2011).

As curvas do teste de tolerância oral à glicose foram similares nos três grupos, indicando que os efeitos do chá na resistência insulínica não foram claramente visualizados. O achatamento da curva glicêmica mostrou maior captação de glicose pós-prandial no intervalo de tempo de 30–90 min, após administração de glicose, sugerindo efeito benéfico do chá no metabolismo de carboidratos. O índice de *HOMA-IR* não diferiu nos três grupos, indicando que neste estudo a dieta hiperlipídica não induziu um estado metabólico de resistência insulínica (GELONEZE *et al.*, 2009).

O chá teve efeitos anti-inflamatórios ao elevar os níveis de IL-10, estimulando o controle da inflamação produzida pela dieta hipercalórica e hiperlipídica. Foram observadas elevadas concentrações de TNF- α e IL-10 no grupo suplementado com chá. Na obesidade, há aumento da deposição de gordura corporal, elevando as concentrações de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α e anti-inflamatórias como IL-10 (DANDONA *et al.*, 2004). O efeito do chá em aumentar tanto TNF- α quanto a IL-10, pode ser entendido considerando que o meio biológico responde para manter uma homeostase entre os estados pro e o anti-inflamatório. Sabe-se que estímulos pró-inflamatórios suaves podem induzir respostas biológicas de adaptação com o aumento de citocinas anti-inflamatórias (LUCCA *et al.*, 2009; SEGEV *et al.*, 2013).

A análise morfométrica do tecido hepático indicou que o chá reduziu a quantidade de gordura e influenciou o tamanho do citoplasma. Claramente, foi observado que o aumento no tamanho do citoplasma das células hepáticas foi devido ao alto grau de acúmulo de gordura, que também levou a um deslocamento dos núcleos. Quanto ao tecido adiposo epididimal, foi observada hipertrofia dos adipócitos no grupo alimentado com dieta hiperlipídica e hiperplasia no grupo suplementado com chá, o que diminuiu o tamanho das células adiposas e aumentou o seu número (AVRAM *et al.*, 2007; FERRANTI; MOZAFFARIAN *et al.*, 2009). Este efeito pode ser associado à expressão de PPAR- γ , que promove a diferenciação das células adiposas, originando novos adipócitos, incrementando a capacidade de armazenar ácidos graxos (PEREIRA, 2008).

Foi observado que a expressão de PPAR- γ não diferiu no grupo suplementado com o chá em relação ao controle. O PPAR- γ tem atividades anti-inflamatórias que reduzem a expressão de genes inflamatórios tais como o TNF- α (HERMSDORFF; MONTEIRO, 2004; FUNG *et al.*, 2012). Estudos reportaram que a mangiferina, composto encontrado nas folhas da *Mangifera indica*, ativa a expressão do PPAR- γ (WILKINSON *et al.*, 2008). Nível baixo de FAS foi observado no grupo HFD-TT; isto é um efeito positivo

considerando que FAS está envolvido na lipogênese e favorece à apoptose na obesidade (YANG *et al.*, 2010). O chá de folhas de *M. indica* reduziu o acúmulo de lipídios no fígado e o tamanho de adipócitos, diminuindo a lipogênese por meio da regulação gênica de FAS (PENG *et al.*, 2013). A expressão da lipoproteína lipase (LPL) no tecido adiposo epididimal, foi menor no grupo HFD comparado com AIN93 e HFD-TT. Yang *et al.* (2006) reportaram que a dieta hiperlipídica diminui as concentrações de LPL, causando estresse oxidativo. Por outro lado, os animais suplementados com chá mostraram um incremento significativo na expressão da LPL, favorecendo a diminuição da concentração de lipídios (ECKEL; 1989). Com o aumento do LPL aumenta a expressão do PPAR- γ e se reduz o FAS no tecido adiposo (LÓPEZ *et al.*, 2012).

Foi demonstrado a partir destes resultados, que o chá de folhas de *Mangifera indica*, similarmente a outros chás (verde, preto, Goishi), conduz à diminuição do peso corporal e do acúmulo de gordura central, à inibição do tamanho celular no tecido adiposo e melhora os processos inflamatórios (JOBU *et al.*, 2013; SALEH *et al.*, 2013; SNOUSSI *et al.*, 2014).

Em resumo, este estudo indicou que uma dose aproximada de 25 mL de chá de folhas de mangueira (contendo 39 mg EAG de compostos fenólicos e 17,9 mg de mangiferina), pode contribuir com a modulação de alterações de risco metabólico em ratos alimentados com dieta hiperlipídica, exercendo efeitos anti-obesidade.

Conclusão

O chá de folhas de *M. indica* teve efeitos importantes na diminuição do acúmulo de gordura nos tecidos adiposo e hepático, e na melhora dos parâmetros de risco metabólico. Isto demonstrou o potencial desta bebida como fitoterápico na redução do risco da síndrome metabólica. Portanto, conclui-se que o chá de folhas de *Mangifera indica* L. possui efeito anti-obesidade por mecanismos de regulação gênica que melhoram o estado metabólico dos tecidos adiposo epididimal e hepático.

Agradecimentos

Agradeço especialmente a todas as pessoas que contribuíram para a realização e desenvolvimento deste estudo.

Esta pesquisa foi financiada pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) nº 34/2013 e pela Fundação CAPES.

Referências

ALBORNOZ, R. e PÉREZ, I. Nutrición y Síndrome Metabólico. **Nutrición Clínica y Hospitalaria**, v.32, n.3, p.92-97. 2012.

AMUNDSON, D. E., DJURKOVIC, S. e MATWIYOFF, G. N. The Obesity Paradox. **Critical Care Clinics, Elsevier**, n.26 p.583–596. 2010.

ANGULO, P. GI epidemiology: nonalcoholic fatty liver disease. **Aliment. Pharmacol. Ther**, v.25 p.883–889. 2007.

AVRAM, M. M., SHARPE, A. e JAMES, W. D. Subcutaneous fat in normal and diseased states: 3. Adipogenesis: From stem cell to fat cell. **Journal of the American Academy of Dermatology**, v.56, n.3, p.472–492. 2007.

BRITO, L. F. **Efeito do extrato das folhas de manga ubá (*Mangífera indica* L.) e da mangiferina na modulação da expressão dos receptores CB1, PPAR γ e adipocinas em ratos alimentados com dieta de cafeteria.** 2013. 114p. Dissertação (Doutorado), Post-Graduação em Bioquímica Agrícola. Universidade Federal de Viçosa. Viçosa (MG). 2013.

CHEN, N., BEZZINA, R., HINCH, E., *et al.* Green tea, black tea, and epigallocatechin modify body composition, improve glucose tolerance, and differentially alter metabolic gene expression in rats fed a high-fat diet. **Nutrition Research**, v.29, n.11, 11//, p.784-793. 2009.

CHIBA, F. Y., COLOMBO, N. H., SHIRAKASHI, D. J., *et al.* NaF treatment increases TNF- α and resistin concentrations and reduces insulin signal in rats. **Journal of Fluorine Chemistry**, v.138, p.3-7. 2012.

DANDONA, P., ALJADA, A. e BANDYOPADHYAY, A. Inflammation: the link between insulin resistance, obesity and diabetes. **Trends in Immunology**, v.25, n.1, p.4-7. 2004.

DAS, J., GHOSH, J., ROY, A., *et al.* Mangiferin exerts hepatoprotective activity against D-galactosamine induced acute toxicity and oxidative/nitrosative stress via Nrf2–NFκB pathways. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v.260, p.35-47. 2012.

DUANGA, X., WANGA, Q., ZHOUB, X., *et al.* Mangiferin: A possible strategy for periodontal disease to therapy. **Medical Hypotheses**, v.76, n.4, p.486-488. 2011.

ECKEL, R. H. Lipoprotein lipase. A multifunctional enzyme relevant to common metabolic diseases. **The New England Journal of Medicine**, v.320, p.1060–1068. 1989.

EL-WAKKADA, A., EL-MORSI, N., SIBAIHA, H., *et al.* Proinflammatory, anti-inflammatory cytokines and adiponkines in students with central obesity. **Cytokine**, v.61, n.2, p.682–687. 2013.

FERRANTI, S. e MOZAFFARIAN, D. La tormenta perfecta: obesidad, disfunción del adipocito y consecuencias metabólicas. **Clinical Chemistry**, v.34, n.2, p.95-108. 2009.

FUNG, A., VIZCAYCHIPI, M., LLOYD, D., *et al.* Central nervous system inflammation in disease related conditions: Mechanistic prospects. **Brain Research**, v.1446, p.144-155. 2012.

GARVEY, W. T., MECHAU, J. I. e EINHORN, D. Advanced Framework for a new diagnosis of obesity as chronic disease. **Endocrine Practice**, v.2, n.9, p.977-989. 2014.

GELONEZE, B., VASQUES, A. C. J., CAMARGO, C. F., *et al.* HOMA1-IR and HOMA2-IR indexes in identifying insulin resistance and metabolic syndrome – Brazilian Metabolic Syndrome Study (BRAMS). **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v.53, n.2, p.281-287. 2009.

GONG, X., ZHANG, L., JIANG, R., *et al.* Anti-inflammatory effects of mangiferin on sepsis-induced lung injury in mice via up-regulation of heme oxygenase-1. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.24, n.6, 6//, p.1173-1181. 2013.

GRUNDY, S. M., BREWER, B., CLEEMAN, J. I., *et al.* Definition of Metabolic Syndrome. Report of the national Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association Conference on Scientific Issues Related to Definition. **Circulation**, v.109, p.433-338. 2004.

HERMSDORFF, H.H.M. e MONTEIRO, J.B.R. Gordura visceral, subcutânea ou intramuscular: onde está o problema? **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 48, n. 6, p. 803-811, 2004.

HONGLI, G., ZHAOCHUN, L., XIAOLAN, Q., *et al.* Effects of Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*) on vascular endothelial function and liver lipoprotein receptor gene expression in hyperlipidemic rats. **Fitoterapia, Elsevier**, v.84, p.264-272. 2012.

HOTAMISLIGIL, G. S., ARNER, P., CARO, J. F., *et al.* Increased adipose tissue expression of tumor necrosis factor- α in human obesity and insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, v.95, p.2409-2415. 1995.

JOBU, K., YOKOTA, J., YOSHIOKA, S., *et al.* Effects of Goishi tea on diet-induced obesity in mice. **Food Research International, Elsevier**, v.54, p.324-329. 2013.

JOHNSON, R. J., LANASPA, M. A. e GAUCHER, E. A. Uric Acid: A Danger Signal From the RNA World That May Have a Role in the Epidemic of Obesity, Metabolic Syndrome, and Cardiorenal Disease: Evolutionary Considerations. **Seminars in Nephrology**, v.31, n.5, 9//, p.394-399. 2011.

KULKARNI, V. M. e RATHOD, V. K. Extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves using three-phase partitioning coupled with ultrasound. **Industrial Crops and Products**, v.52, p.292– 297. 2014.

LÓPEZ-ALARCÓN, M., RODRÍGUEZ-CRUZ, M., VITAL-REYES, V. S., *et al.* PPAR γ Pro12Ala polymorphism is associated with improved lipoprotein lipase functioning in adipose tissue of insulin resistant obese women. **Gene**, v.511, n.2, 12/15/, p.404-410. 2012.

LUCCA, G., COMIM, C. M., VALVASSORI, S. S., *et al.* Increased oxidative stress in submitochondrial particles into the brain of rats submitted to the chronic mild stress paradigm. **Journal of Psychiatric Research**, v.43, n.9, 6//, p.864-869. 2009.

LUO, F., FU, Y., XIANG, Y., *et al.* Identification and quantification of gallotannins in mango (*Mangifera indica* L.) kernel and peel and their antiproliferative activities. **Journal of Functional Foods**, v.8, n.0, 5//, p.282-291. 2014.

MATHERLY, S. C. e PURI, P. Mechanisms of Simple Hepatic Steatosis: Not So Simple After All. **Clinics in Liver Disease**, v.16, n.3, 8, p.505-524. 2012.

PALAFOX CARLOS, H., YAHIA, E. M. e GONZÁLEZ AGUILAR, G. A. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. **Food Chemistry**, v.135, n.1, 11/1/, p.105-111. 2012.

PENG, C.-H., CHANG, H.-C., YANG, M.-Y., *et al.* Oat attenuate non-alcoholic fatty liver and obesity via inhibiting lipogenesis in high fat-fed rat. **Journal of Functional Foods**, v.5, n.1, 1//, p.53-61. 2013.

PEREIRA, V. C. **Atividade agonista do extrato de *Tabebuia heptaphylla* sobre os receptores proliferadores peroxissomais alfa (PPAR γ), beta/delta (PPAR β/δ) e gama (PPAR γ).** Pós-Graduação em Ciência da Saúde, Universidade de Brasília, Brasília, 2008.

PONCE, M. T. F., CASAS, L., MANTELL, C., *et al.* Extraction of antioxidant compounds from different varieties of *Mangifera indica* leaves using green technologies. **The Journal of Supercritical Fluids**, v.72, p.168–175. 2012.

RIBEIRO, S. M. R., BARBOSA, L. C. A., QUEIROZ, J. H., *et al.* Phenolic compounds and antioxidant capacity of Brazilian mango (*Mangifera indica* L.) varieties. **Food Chemistry**, v.110, n.3, 10/1/, p.620-626. 2008.

SALEH, I. G., ALI, Z., ABE, N., *et al.* Effect of green tea and its polyphenols on mouse liver. **Fitoterapia, Elsevier**, v.90, p.151-159. 2013.

SEGEV-AMZALEG, N., TRUDLER, D. e FRENKEL, D. Preconditioning to mild oxidative stress mediates astroglial neuroprotection in an IL-10-dependent manner. **Brain, Behavior, and Immunity**, v.30, n.0, 5//, p.176-185. 2013.

SCHMID, B., RIPPMANN, J. F., TADAYYON, M., *et al.* Inhibition of fatty acid synthase prevents preadipocyte differentiation. **Biochemical and Biophysical Research Communication**, v.328, p.1073–1082. 2005.

SNOUSSI, C., DUCROC, R., HAMD AOUI, M. H., *et al.* Green tea decoction improves glucose tolerance and reduces weight gain of rats fed normal and high-fat diet. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v.25, n.5, 5//, p.557-564. 2014.

WILKINSON, A. S., MONTEITH, G. R., SHAW, P. N., *et al.* Effects of the mango components mangiferin and quercetin and the putative mangiferin metabolite norathyriol on the transactivation of peroxisome proliferator-activated receptor isoforms. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.56, n.9, p.3037–3042. 2008.

YANG, R., LE, G., LI, A., *et al.* Effect of antioxidant capacity on blood lipid metabolism and lipoprotein lipase activity of rats fed a high-fat diet. **Nutrition**, v.22, n.11–12, 11//, p.1185-1191. 2006.

YANG, M. Y., PENG, C. H., CHAN, K. C., *et al.* The hypolipidemic effect of Hibiscus sabdariffa polyphenols via inhibiting lipogenesis and promoting hepatic lipid clearance. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.58, p.850–859. 2010.

SOFTWARES

Software **ImageJ** (Image Processing and Analysis in Java). Disponível em:

<http://imagej.nih.gov/ij/download.html>

Software **Image Pro Plus 7.0**. Disponível em:

<http://image-pro-plus.software.informer.com/7.0/>

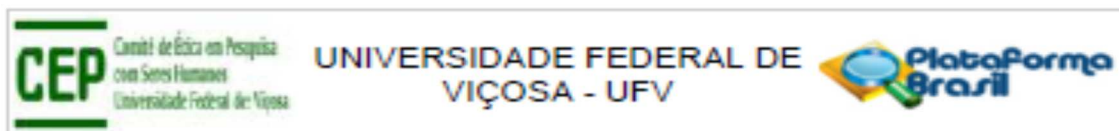
Software **Adiposoft**. Disponível em:

<http://fiji.sc/Adiposoft>

ANEXOS

ANEXO 1

APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM SERES HUMANOS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO SENSORIAL DE CHÁ DE FOLHAS DE MANGUEIRA (Mangifera indica L. variedade Ubá)

Pesquisador: Sônia Machado Rocha Ribeiro

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 36510214.6.0000.5153

Instituição Proponente: Departamento de Nutrição e Saúde

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 845.894

Data da Relatoria: 13/10/2014

Apresentação do Projeto:

Será realizado um teste de aceitação de chá de folhas de mangueira.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

Avaliar a aceitação, por consumidores, de um chá de folhas de mangueira (Mangifera indica L., variedade Ubá).

Objetivo Secundário:

Preparar as folhas coletadas da mangueira para a elaboração do chá; Avaliar variáveis sensoriais do chá.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Os riscos referem-se aos desconfortos por alterarem a agenda diária visando dedicar um tempo, de aproximadamente 30 minutos, para a realização do teste; não apreçarem o sabor dos chás, o qual poderá ser desgostado por causa da característica de adstringência. Não risco à saúde considerando vários aspectos: a. A ingestão é aguda, o chá de folha de mangueira já é utilizado popularmente com fins terapêuticos em algumas regiões do Brasil; b. Existe um produto comercializado pela medicina de Cuba produzido com extratos de partes da mangueira (VIMANG);

Endereço: Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior
Bairro: campus Viçosa CEP: 36.570-000
UF: MG Município: VICOSA
Telefone: (31)3899-2492 Fax: (31)3899-2492 E-mail: cep@ufv.br

Continuação do Parecer: 045.094

c. O volume de chá ingerido durante o teste sensorial, considerando que estes tipos de testes presumem degustação.

Benefícios:

Não há benefícios diretos e imediato aos participantes do teste, mas há a possibilidade do prosseguimento de estudos com os chás avaliados para

seu uso como fonte de compostos bioativos como adjuvantes no controle metabólico e no tratamento de doenças crônicas não transmissíveis: obesidade, resistência insulínica, dislipidemias, etc.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Será realizado teste cego, utilizando escala hedônica. As avaliações serão realizadas em cabines individuais com luz branca e os chás serão mantidos a 55°C. Serão recrutados, aleatoriamente, 50 indivíduos adultos, de ambos os gêneros, no campus da Universidade Federal de Viçosa (UFV). Serão excluídos indivíduos com idade inferior a 20 anos incompletos, portadores de Doenças Agudas ou crônicas (diabetes, doença renal crônica, câncer e aqueles que não aceitarem participar do teste sensorial e portanto, não assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Apresentados Termos de apresentação obrigatória.

Recomendações:

Quando da coleta de dados, o TCLE deve ser elaborado em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas, ao seu término, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por ser representante legal, assim como pelo pesquisador responsável, ou pela(s) pessoa(s) por ele delegada(s), devendo as páginas de assinaturas estar na mesma folha. Para a submissão, não é necessária a assinatura do TCLE.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Ao término da pesquisa é necessária a apresentação do Relatório Final e após a aprovação desse,

Endereço: Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior
Bairro: campus Viçosa CEP: 36.570-000
UF: MG Município: VICOSA
Telefone: (31)3899-2492 Fax: (31)3899-2492 E-mail: cep@ufv.br

Continuação do Parecer: 045.094

deve ser encaminhado o Comunicado de Término dos Estudos.

Projeto analisado durante a 9ª reunião de 2014, realizada nos dias 13 e 17 de outubro de 2014.

VICOSA, 27 de Outubro de 2014

Assinado por:
Patrícia Aurélla Del Nero
(Coordenador)

Endereço: Universidade Federal de Viçosa, prédio Arthur Bernardes, piso inferior
Bairro: campus Viçosa CEP: 38.570-000
UF: MG Município: VICOSA
Telefone: (31)3899-2492 Fax: (31)3899-2492 E-mail: cep@ufv.br



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE**



ANEXO 2

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE ESCLARECIDO

Eu, _____, estou esclarecido sobre os objetivos e a metodologia do estudo e **concordo em participar** da pesquisa sobre desenvolvida pelo Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa, sob a coordenação do (a) professor (a.) Maria Inês de Souza Dantas.

Estou ciente do sigilo das informações adquiridas e dos procedimentos e concordo em submeter à avaliação sensorial de Pão sem glúten.

Autorizo os autores do estudo a utilizarem as informações decorrentes do projeto para elaborar relatórios e artigos científicos de divulgação dos resultados.

Viçosa, ----/----/--- Assinatura:_____



UNIVERSIDADE FEDERAL DE VIÇOSA
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO E SAÚDE



ANEXO 3

FICHA DE AVALIAÇÃO (Confidencial)

Nome _____ Sexo _____						
Faixa etária: () 15 a 20 () 20 a 30 () 30 a 40 () acima 40						
Por favor, avalie a amostra utilizando a escala abaixo para descrever o quanto você gostou ou desgostou do produto. Marque a posição da escala que melhor reflita o seu julgamento.						
AMOSTRA _____	<table border="1"><thead><tr><th>Atributo</th></tr></thead><tbody><tr><td>Aroma: _____</td></tr><tr><td>Sabor: _____</td></tr><tr><td>Impressão Global: _____</td></tr><tr><td>Observação: _____ _____ _____</td></tr></tbody></table>	Atributo	Aroma: _____	Sabor: _____	Impressão Global: _____	Observação: _____ _____ _____
Atributo						
Aroma: _____						
Sabor: _____						
Impressão Global: _____						
Observação: _____ _____ _____						
<p>(9) Gostei extremamente (8) Gostei muito (7) Gostei moderadamente (6) Gostei ligeiramente (5) Indiferente (4) Desgostei ligeiramente (3) Desgostei moderadamente (2) Desgostei muito (1) Desgostei extremamente</p>						

ANEXO 4
COMPOSIÇÃO DA DIETA CONTROLE

DIETA AIN93M		
	%	kcal/g
Proteína	10,0	0,4
Carboidrato	77,0	3,0
Gordura	4,0	0,4
Vitaminas e Minerais	9	
Total	100	
	Kcal/g	3,8
Ingrediente	g	kcal
Caseína	14,0	56
Amido	46,6	186
Maltodextrina	15,5	62
Sacarose	10,0	40
Celulose	5,0	0
Óleo de milho	4,0	36
Mix Mineral AIN 93M	3,5	0
L Cistina	0,2	0
Mix Vitamínico AIN 93M	1,0	0
Bitartarato de colina	0,2	0
Total	100	380

ANEXO 5
COMPOSIÇÃO DA DIETA HIPERLIPÍDICA

DIETA HIPERLIPIDÍCA (HFD)		
	(%)	(kcal /g)
Proteína	20	0,8
Carboidrato	50	2,0
Gordura	21	1,9
Vitaminas e Minerais	9	
Total	100	
Kcal/g		4,69
Ingrediente	g	(kcal /g)
Caseína	19,5	78
Amido	5,2	21
Maltodextrina	10,0	40
Sacarose	34,2	136
Celulose	5,0	0
Gordura animal	20,0	180
Óleo de milho	1,0	9
Colesterol	0,2	0
Mix Mineral AIN 93M	3,5	0
L Cistina	0,2	0
Mix Vitamínico AIN 93M	1	0
Bitartarato de colina	0,3	0
Butilhidroxitoluol (BHT)	0,004	0
Total	100	464

ANEXO 6
APROVAÇÃO PELO COMITÊ DE ÉTICA EM ANIMAIS

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV certifica esse n.º 34/2013, intitulado "*Potencial da folha, casca e do néctar de Uibê na modulação do estresse oxidativo e da inflamação em síndrome metabólica*", coordenado pela professora Hercia Stavilino Martins, do Departamento de Nutrição e Saúde, está de acordo com o Código de Ética Profissional do Médico Veterinário, com os Princípios na Experimentação Animal, adotados pela Sociedade Brasileira em Animais de Laboratório (SBCAL), e com a legislação vigente, tendo sido aprovado por esta Comissão em 24/06/2013, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process n.º 34/2013, named "*Potential of leaf, bark and mango nectar U modulation of oxidative stress and inflammation in rats with metabolic syndrome*" is in agreement with the Medical Veterinary Professional Code, with the Ethical Principles for Animal Research established by the Brazilian Society of Science in Laboratory Animals (SBCAL) and Brazilian legislation. This Institutional Commission on June 24, 2013, approved this process. This certificate expire in 12 months.



Prof. Cláudio César Fonseca
Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV