

PRISCILA MARQUES ARBEX

**POTENCIAL DA FARINHA EXTRUSADA DE SORGO (SORGHUM BICOLOR
L.) PARA MODULAR A ADIPOSIDADE, O ESTRESSE OXIDATIVO E A
INFLAMAÇÃO EM RATOS OBESOS 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

A664p
2015 Arbex, Priscila Marques, 1986-
Potencial da farinha extrusada de sorgo (*Sorghum Bicolor* L.) para modular a adiposidade, o estresse oxidativo e a inflamação em ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica / Priscila Marques Arbex. – Viçosa, MG, 2015.
xi, 53f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexo.

Orientador: Hércia Stampini Duarte Martino.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.39-51.

1. Obesidade. 2. Stresse oxidativo. 3. Antioxidantes.
4. Tecido adiposo. 5. Inflamação. 6. Sorgo. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Nutrição e Saúde. Programa de Pós-graduação em Ciência da Nutrição. II. Título.

CDD 22. ed. 616.398

PRISCILA MARQUES ARBEX

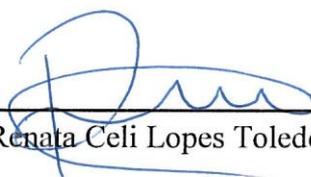
**POTENCIAL DA FARINHA EXTRUSADA DE SORGO (SORGHUM BICOLOR
L.) PARA MODULAR A ADIPOSIDADE, O ESTRESSE OXIDATIVO E A
INFLAMAÇÃO EM RATOS OBESOS ALIMENTADOS COM DIETA
HIPERLIPÍDICA**

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*.

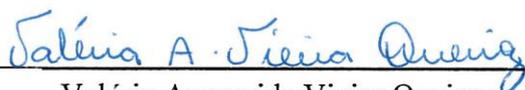
APROVADA: 31 de julho de 2015.



Leandro de Moraes Cardoso



Renata Celi Lopes Toledo



Valéria Aparecida Vieira Queiroz
(Coorientadora)



Laércio dos Anjos Benjamin
(Coorientador)



Hércia Stampini Duarte Martino
(Orientadora)

“Das habilidades que o mundo sabe, essa é que ainda faz melhor: dar voltas”

Saramago

Dedico esta dissertação aos meus amados pais Gilca e Fauzi (no coração),
e ao meu marido Fábio, com amor, carinho e gratidão.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por me mostrar que tudo tem a sua hora.

Ao meu pai, que mesmo na sua ausência se fez presente a cada momento.

À minha amada mãe, pelo apoio e amor incondicional, não só nessa, mas em todas as etapas da minha vida.

Ao meu amor Fábio, pelo companheirismo, incentivo, paciência e por ter acreditado em mim, mais do que eu mesma.

À minha segunda família, Moreira Campos, pelo carinho e apoio nos momentos difíceis.

À minha querida amiga Jô, pela força e pela fé de que tudo daria certo.

Às minhas amigas, Claudinha, Rafa, Naty Campos e Elisa pela amizade e momentos de alegria. E por sempre torcerem pela minha vitória.

Aos meus amigos João Roberto e ao querido Marcos Vidal, pelo apoio, carinho e pelas risadas!

Ao professor João Carlos Bouzas Marins, quem primeiro abriu as portas em Viçosa, me incentivando e apoiando a seguir em frente.

Aos colegas da NUT 632 e à professora Rita Alfenas, pelo carinho e paciência desde o primeiro dia em que cheguei a Viçosa. Em especial a Yassana, pelo incentivo e paciência (lembra do caderno de resumo? Me explica esse gráfico?), significaram muito para mim. E à minha querida amiga Paty Feliciano, quantos momentos compartilhados, sempre com uma palavra doce e carinhosa. Aprendi muito.

À minha orientadora Hércia, pela orientação, amizade, confiança e compreensão. Muito obrigada!

À Dr^a Valéria, minha coorientadora que acreditou integralmente neste trabalho.

À professora Sônia, pela amizade, ensinamentos e valiosos conselhos.

Ao professor Laércio, pelo apoio e disponibilidade.

Ao Dr. Carlos Piler da Embrapa Agroindústria de Alimentos pela extrusão do grão de sorgo.

Às estagiárias Mariana, Núbia e Letícia por me ajudarem nos períodos de aperto.

Aos amigos do mestrado e doutorado, em especial Dessirê, Rufino, Dorina, Maria Eliza e Natália Galdino pela amizade, apoio e pelas risadas.

Em especial à minha amiga colombiana, Natalia, que dividiu não somente a bancada do laboratório, mas a casa, as dúvidas, as realizações e as *arepas*.

Aos funcionários, especialmente a Renata, membros e parceiros do Laboratório de Nutrição Experimental (DNS) e Laboratório de Análise de Vitaminas (DNS), por toda atenção e apoio no período das análises.

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

Aos funcionários do Departamento de Nutrição e Saúde, pela amizade e auxílio no desenvolvimento do trabalho.

À coordenação de aperfeiçoamento de pessoal de nível superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
1. INTRODUÇÃO	1
2. OBJETIVOS	3
2.1 Objetivo geral	3
2.2 Objetivos específicos	3
3. REVISÃO DE LITERATURA	4
3.1 Obesidade, biologia do tecido adiposo, inflamação e estresse oxidativo	4
3.2 Biologia do tecido hepático	8
3.3 O sorgo	9
3.4 Impactos do sorgo na saúde humana	10
4. MATERIAL E MÉTODOS	13
4.1 Matéria-prima	14
4.2 Processamento dos grãos de sorgo	14
4.3 Animais e dados biológicos	15
4.3.1 Dietas experimentais	15
4.3.2 Ensaio biológico	15
4.3.3 Dados biométricos	16
4.4 Variáveis bioquímicas	20
4.5 Teste de tolerância oral à glicose (TTOG)	20
4.6 CAT	21
4.7 Citocinas pró e anti-inflamatórias	21
4.8 Expressão de genes no tecido adiposo epididimal envolvidos no metabolismo de lipídios	22
4.9 Histomorfometria e histopatologia	23
4.9.1 Tecido hepático	23

4.9.2	Tecido adiposo epididimal	24
4.10	Análise estatística	25
5.	RESULTADOS	25
5.1	Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre a massa corpórea e medidas biométricas de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica	25
5.2	Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre as variáveis bioquímicas de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.....	27
5.3	Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre o metabolismo de glicose de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.....	28
5.4	Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre a capacidade antioxidante total do plasma (CAT) de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.....	29
5.5	Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre citocinas pró e anti-inflamatórias de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.....	30
5.6	Efeito da farinha extrusada de sorgo no metabolismo de lipídios de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.....	31
5.7	Efeito da farinha extrusada de sorgo na histomorfometria do tecido hepático e adiposo epididimal de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica	32
6.	DISCUSSÃO	36
7.	CONCLUSÃO	39
8.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

RESUMO

ARBEX, Priscila Marques, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Potencial da farinha extrusada de sorgo (Sorghum bicolor L.) para modular a adiposidade, o estresse oxidativo e a inflamação em ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.** Orientadora: Hércia Stampini Duarte Martino. Coorientadores: Laércio dos Anjos Benjamin, Maria Eliza de Castro Moreira e Valéria Aparecida Vieira Queiroz.

Os compostos isolados do sorgo (Sorghum bicolor L.) tem demonstrado atividade antioxidante e anti-inflamatória. São escassos os estudos utilizando o sorgo integral na proteção ao estresse oxidativo e à inflamação em animais obesos consumindo dieta hiperlipídica. O objetivo do estudo foi investigar o potencial da farinha extrusada de sorgo (FES) na modulação do estresse oxidativo, da inflamação e da adiposidade em ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica. Foram utilizados 32 ratos machos da linhagem Wistar, a partir da fase adulta receberam dieta hiperlipídica (HFD) para indução da obesidade (24 animais) e oito animais receberam dieta AIN93-M por sete semanas. A seguir, os animais alimentados com HFD foram distribuídos em três grupos: HFD (dieta hiperlipídica), HFDS50 (dieta hiperlipídica com substituição de 50% da celulose e 100% do amido de milho por farinha extrusada de sorgo) e HFDS100 (dieta hiperlipídica com substituição de 100% da celulose e 100% do amido de milho por farinha extrusada de sorgo) e manteve-se o grupo controle negativo (AIN-93M) por oito semanas. Com sete semanas foi realizado o teste de tolerância oral à glicose (TTOG) após os animais receberem solução de glicose e a glicemia foi medida nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos. No final do experimento, foram obtidas medidas biométricas e calculados os índices de adiposidade e hepatossomático. O perfil de lipídios e aminotransferases: alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase (ALT/AST) foram determinados no soro. As citocinas pró e anti-inflamatórias (TNF α e IL-10), assim como capacidade antioxidante total (CAT) foram analisados no plasma. Foi realizada a expressão gênica de ácido graxo sintase (FAS), de lipoproteína lipase (LPL) e receptor gama ativado por proliferadores de peroxissomas (PPAR- γ) no tecido adiposo epididimal e a a histomorfometria do tecido adiposo epididimal e do fígado. O consumo energético foi semelhante entre os grupos experimentais, em função da menor densidade calórica da dieta AIN-93M. O grupo HFDS100 reduziu ($p<0,05$) o peso do tecido

adiposo epididimal em relação ao HFD e o percentual de adiposidade, tecido adiposo total e índice hepatossomático tornaram-se semelhantes ao controle negativo após o tratamento com FES (HFDS50 e HFDS100), sem diferir do HFD ($p>0,05$). A concentração plasmática de colesterol total, creatinina, triacilglicerídeos e AST plasmáticos foram semelhantes ($p>0,05$) entre os grupos experimentais. Os grupos HFDS50 e HFDS100 reduziram ($p<0,05$) a glicemia de jejum em relação ao HFD. No TTOG o grupo HFDS100, foi mais eficiente em reduzir a glicemia aos 60 minutos. Houve uma tendência na redução do HDL-c no grupo HFD ($p=0,09$), no entanto o grupo HFDS100 reverteu este efeito aumentando ($p<0,05$) a concentração de HDL-c. Os grupos HFDS50 e HFDS100 reduziram ($p<0,05$) as concentrações de ácido úrico e ALT em relação ao grupo HFD. A CAT aumentou ($p<0,05$) nos grupos HFDS50 e HFDS100 em relação ao HFD. Os grupos HFDS50 e HFDS100 apresentaram menor concentração de TNF- α e maior concentração de IL-10 quando comparadas com o grupo HFD ($p<0,05$). A expressão gênica de PPAR- γ não alterou ($p>0,05$) nos grupos tratados com sorgo HFDS50 e HFDS100 em relação ao HFD. Os grupos HFDS50 e HFDS100 reduziram a expressão gênica de FAS e o grupo HFDS100 aumentou a expressão gênica de LPL em relação ao grupo HFD. No tecido adiposo epididimal o grupo HFDS100 reduziu o diâmetro do adipócito e aumentou o percentual do seu citoplasma em relação ao HFD. No fígado, os grupos HFDS50 e HFDS100 aumentaram ($p<0,05$) o percentual de vasos sanguíneos e reduziram ($p<0,05$) o percentual de gorduras em relação ao grupo HFD. Pode-se concluir-se que, a ingestão de FES em substituição total e parcial da fonte de fibra e total de amido de milho por ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica reduziu a resposta inflamatória, reestabeleceu a capacidade antioxidante total do plasma, reduziu a glicemia de jejum e a adiposidade dos tecidos hepático e adiposo epididimal.

ABSTRACT

ARBEX, Priscila Marques, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Potential extruded flour of sorghum (Sorghum bicolor L.) to modulate oxidative stress, inflammation and adiposity in obese mice fed a high fat diet.** Adviser: Hércia Stampini Duarte Martino Co-Advisers: Laércio dos Anjos Benjamin, Maria Eliza de Castro Moreira and Valéria Aparecida Vieira Queiroz.

The isolated compounds sorghum (Sorghum bicolor L.) has demonstrated antioxidant activity and anti-inflammatory. There are few studies using whole sorghum protection to oxidative stress and inflammation in obese animals fed high fat diet. The aim of the study was to investigate the potential of sorghum flour extruded (FES) in the modulation of oxidative stress, inflammation and adiposity in obese mice fed high fat diet. 32 Wistar rats were used, from adulthood received high fat diet (HFD) for induction of obesity (24 animals) and 8 animal AIN93M diet for 49 days. Next, the animals fed HFD were divided into three groups: HFD (high fat diet), HFDS50 (fat diet with replacement of 50% of pulp and 100% corn starch by extruded flour from sorghum) and HFDS100 (fat diet with substitution of 100% and 100% of cellulose corn starch by extruded sorghum meal), and remained negative control group (AIN-93M) for 8 weeks. At 7 weeks was carried out oral glucose tolerance test (OGTT) after the animals receiving glucose solution and blood glucose was measured at 30, 60, 90 and 120 minutes. Biometric measurements and calculated indexes of adiposity and hepatosomatic were obtained. The profile of lipids and aminotransferases: alanine aminotransferase and aspartate aminotransferase (ALT / AST) were determined in serum. Proinflammatory cytokines and anti-inflammatory (IL-10 and TNF), as well as total antioxidant capacity (TAC) were analyzed in plasma. Fatty acid synthase (FAS) gene expression, lipoprotein lipase (LPL) and gamma receptor peroxisome proliferator-activated (PPAR- γ) in epididymal adipose tissue was performed. They were performed histology and histomorphometry epididymal adipose tissue and liver. The energy consumption was similar among groups, due to the lower caloric density of the AIN-93M diet. The HFDS100 group decreased ($p < 0.05$) the weight of the epididymal adipose tissue compared to HFD and percentage body fat, full fat hepatosomatic index

and became similar to the negative control after treatment with FES (HFDS50 and HFDS100) without differ from HFD ($p > 0.05$). Plasma concentrations of total cholesterol, creatinine, triglycerides and plasma AST were similar ($p > 0.05$) between the experimental groups. The HFDS50 and HFDS100 groups reduced ($p < 0.05$) fasting plasma glucose compared to HFD. In the OGTT HFDS100 group, it was more effective in reducing blood glucose after 60 minutes. There was a trend in the reduction of HDL-C in the HFD group ($p = 0.09$), however HFDS100 group reversed this effect by increasing the concentration of HDL-c. The HFDS50 and HFDS100 reduced groups ($p < 0.05$) uric acid concentrations and ALT compared to the HFD group. CAT increased ($p < 0.05$) in the groups HFDS50 and HFDS100 compared to HFD. The groups HFDS50 HFDS100 and had lower concentration of TNF- α and increased IL-10 concentration compared to the HFD group ($p < 0.05$). Gene expression of PPAR- γ did not change ($p > 0.05$) in the groups treated with sorghum HFDS50 and HFDS100 compared to HFD. Groups HFDS50 and HFDS100 reduced gene expression of FAS and the HFDS100 group increased the gene expression of LPL compared to the HFD group. In the epididymal adipose tissue HFDS100 group reduced diameter and increased the percentage of adipocyte d their cytoplasm compared to HFD. In the liver, and HFDS50 HFDS100 groups increased ($p < 0.05$) the percentage of blood vessels and reduced ($p < 0.05$) the percentage of fat in relation to the HFD group. One can conclude that, FES intake in total substitution and partial fiber source and total obese rats cornstarch fed with high-fat diet reduced the inflammatory response reestablished total plasma antioxidant capacity, reduced blood glucose fasting and adiposity of the liver and epididymal fat tissues.

1. INTRODUÇÃO

Historicamente a obesidade era considerada problema apenas em países desenvolvidos. No entanto, o sobrepeso e a obesidade estão em crescimento em países em desenvolvimento e subdesenvolvidos. Em 2008 mais de meio bilhão de adultos no mundo estavam obesos (WHO, 2014b) e a projeção é que este número aumente para 1,12 bilhões em 2030 (WHO, 2014a)

A obesidade é caracterizada pelo excesso de massa adiposa, que se acumula em consequência do desequilíbrio entre a ingestão e o gasto energético, além da contribuição de fatores ambientais e genéticos (ROSS e DESAI, 2013). As doenças crônicas não transmissíveis desencadeadas pela obesidade ocorrem em função do estresse oxidativo e da inflamação (DEVALARAJA et al., 2011). A instalação do estresse oxidativo ocorre por meio de um desequilíbrio entre os fatores pró-oxidantes e antioxidantes, em favor dos primeiros. O sistema de defesa antioxidante tem o objetivo de manter o processo oxidativo dentro dos limites fisiológicos e passíveis de regulação, impedindo que os danos oxidativos se amplifiquem, culminando em danos sistêmicos irreparáveis. Os mecanismos de geração de radicais livres ocorrem, sobretudo, nas mitocôndrias, membranas celulares e no citoplasma (BARBOSA et al., 2010). A inflamação é cada vez mais conhecida como um processo chave de doenças metabólicas subjacentes em indivíduos obesos. Nesses indivíduos há acúmulo de macrófagos M1, que caracteriza o estado pró-inflamatório, que liga a obesidade à inflamação sistêmica crônica (SHOELSON e GOLDFINE, 2009).

Os níveis aumentados de TNF- α na obesidade induzem a produção de adipocinas aterogênicas, como PAI-1 (inibidor do ativador de plasminogênio 1) e IL-6 (interleucina 6), e a inibição de adipocinas anti-inflamatórias, como a adiponectina (AHN et al., 2007) e a IL-10 (interleucina 10) (STRACZKOWSKI et al., 2005). O estado pró-inflamatório exacerbado leva à resistência à insulina, com consequente desenvolvimento de diabetes tipo 2, bem como doenças cardiovasculares (AHIMA, 2011; CHUNG et al., 2011).

O aumento da massa adiposa ocorrido na obesidade é determinado pelo aumento do tamanho do adipócito (hipertrofia) e do seu número (hiperplasia). As modificações no tamanho (diâmetro e volume) de adipócitos maduros ocorrem via processos de lipogênese e lipólise. Já as modificações no número de adipócitos

dependem da diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos, processo denominado adipogênese (QUEIROZ et al., 2012). O receptor gama ativado por proliferadores de peroxissomas (PPAR γ) é um dos reguladores centrais da adipogênese, além de ativar a transcrição de genes envolvidos na sinalização da insulina, na absorção de glicose, na absorção e no estoque de ácidos graxos (BROWN et al., 2003). Assim, o PPAR- γ coordena a expressão de genes adipogênicos específicos como o FAS (ácido graxo sintase) e a LPL (lipoproteína lipase). O FAS é responsável pela síntese e acúmulo de triacilglicerídeos durante a diferenciação dos adipócitos. A LPL é o regulador mais importante para a deposição dos triacilglicerídeos, que os hidrolisa às lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e quilomícrons, liberando os ácidos graxos que são captados pelo adipócito (AHN et al., 2007).

Pesquisas indicam que a utilização de fontes de antioxidantes naturais e a adoção de uma alimentação saudável são as melhores opções para reduzir a incidência de obesidade e suas comorbidades (BARBALHO et al., 2011a; 2011b; DEVALARAJA et al., 2011). Nesse contexto, o sorgo (*Sorghum bicolor* L.) vem se destacando com potencial para prevenção e modulação de doenças crônicas não transmissíveis em função do seu conteúdo em fibra alimentar, lipídios, compostos fenólicos, taninos condensados e flavonóides, como as antocianidinas, flavonas e flavononas (MORAES et al., 2012; CARDOSO et al., 2015). O conteúdo destes compostos pode variar em função do processamento do sorgo, como a extrusão, a secagem em forno, estufa e microondas (DICKO et al., 2006; AFIFY et al., 2012; JOOD KHETARPAUL e GOYAL, 2012; CARDOSO et al., 2015).

Os compostos isolados do sorgo têm sido investigados em estudos *in vitro* (células) (AWIKA et al., 2009; DEVI et al., 2011) e *in vivo* (animais) (MORAES et al., 2012; MURIU et al., 2002; CHUNG et al., 2011), demonstrando atividade antioxidante e anti-inflamatória. São poucos os estudos que investigaram o efeito do sorgo integral na proteção ao estresse oxidativo e à inflamação em animais recebendo dieta hiperlipídica (MORAES et al., 2012). Até o momento, não foram publicados estudos relacionando animais obesos com a ingestão de FES. Assim, a hipótese do trabalho baseia-se na premissa de que a farinha extrusada de sorgo ao ser acrescida em uma dieta hiperlipídica em ratos *Wistar* obesos exercerá ação modulatória sobre a defesa antioxidante, a inflamação subclínica e a lipogênese.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo geral

Investigar potencial da farinha extrusada de sorgo (Sorghum bicolor L.) para modular a adiposidade, o estresse oxidativo e a inflamação em ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.

2.2 Objetivos específicos

- Avaliar o efeito da FES na modulação dos marcadores biométricos, bioquímicos e do estresse oxidativo;
- Investigar o efeito da FES sobre a concentração de citocinas pro e anti-inflamatórias no plasma e a expressão de genes envolvidos no metabolismo de lipídios no tecido adiposo epididimal;
- Avaliar o efeito da FES sobre a histomorfometria e a histologia do tecido adiposo epididimal e hepático.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Obesidade, biologia do tecido adiposo, inflamação e estresse oxidativo

Atualmente, observa-se um aumento mundial progressivo na prevalência da obesidade e de suas complicações (SAMPEY et al., 2012). As alterações metabólicas identificadas nesta condição clínica têm sido consideradas um importante achado para o desenvolvimento de novas opções de tratamento destas doenças, principalmente no sentido de modular a resposta inflamatória e o estresse oxidativo.

Estratégias primárias para tratamento da obesidade são a redução da ingestão energética, o aumento da atividade física e a alteração do estilo de vida a longo prazo. Sabe-se que mecanismos inflamatórios e de estresse oxidativo podem interferir na evolução de uma resposta positiva ao tratamento da obesidade, além de aumentar o risco metabólico, favorecendo a instalação de outras comorbidades. Assim, a busca de estratégias efetivas para o controle da obesidade continua sendo o foco de muitas pesquisas e o interesse dos profissionais de saúde e da população em geral (SPERETTA et al., 2014)

O tecido adiposo (TA) é um tipo especial de tecido conjuntivo que é composto por diferentes tipos celulares, como adipócitos (especializadas no armazenamento de lipídios na forma de triacilglicerídeos em seu citoplasma), células endoteliais, macrófagos, células do estroma vascular, fibroblastos, pré-adipócitos (células indiferenciadas), entre outras.

O TA é classificado em dois subtipos: o tecido adiposo branco (TAB) ou tecido adiposo unilocular, predominante em indivíduos adultos e serve como depósito para o excesso de energia; e o tecido adiposo marrom (TAM) ou tecido adiposo multilocular, que apresenta como função a geração de calor por meio do desacoplamento mitocondrial da oxidação lipídica. O TAM é encontrado exclusivamente em mamíferos recém-nascidos, fetos e adultos hibernantes ou não. O adipócito do TAM atinge diâmetro aproximado de 60µm e é frequentemente menor que o adipócito do TAB que apresenta diâmetro médio de 90-100µm (AU-YONG et al., 2009).

O adipócito maduro presente no TAB apresenta a capacidade de armazenar os TG (triacilglicerídeos) em uma grande e única gota lipídica, que ocupa,

aproximadamente, 90% do citoplasma, e restringe o núcleo a uma fina camada do citoplasma na periferia celular. Estas células possuem todas as enzimas e proteínas que são necessárias tanto para produzir os ácidos graxos (lipogênese) quanto para armazenar o TG em períodos de alta oferta energética e, ou mobilizá-los para a lipólise quando há uma deficiência de caloria (AU-YONG et al., 2009).

A lipogênese é regulada pelos sistemas neural e hormonal e, especificamente o sistema nervoso autônomo (SNA), controla diretamente o tecido adiposo branco por meio de suas inervações simpática e parassimpática. Enquanto o componente simpático do SNA encontra-se relacionado com as funções catabólicas, como por exemplo, a lipólise que é mediada pelos β -adrenoreceptores, o componente parassimpático está envolvido com a execução das funções anabólicas, tais como a captação de ácidos graxos e glicose estimuladas pela insulina. Aproximadamente 60-85% do peso do TAB é constituído por lipídios, dentre os quais os triacilglicerídeos constituem a maior fração (90-99%) (PÉNICAUD et al., 2000; ROMIJN e FLIERS, 2005).

A obesidade é caracterizada pelo excesso de massa adiposa, que se acumula em consequência do desequilíbrio entre a ingestão e o gasto energético, além da contribuição de fatores ambientais e genéticos (ROSS e DESAI, 2014). O aumento da massa adiposa na obesidade ocorre devido à hipertrofia e/ou hiperplasia dos adipócitos. A hiperplasia resulta na proliferação e subsequente diferenciação de pré-adipócitos, enquanto a hipertrofia é consequência do aumento no conteúdo de lipídios estocados e causa redução do fluxo sanguíneo, que resulta em hipóxia tecidual, morte celular e alteração na população de células imunes. No tecido adiposo normal, há predominância de macrófagos M2, caracterizados pela produção de citocinas anti-inflamatórias. No entanto, com a expansão dos adipócitos ocorre maior infiltração de macrófagos no tecido, com predominância de macrófagos ativados M1, e uma alteração no padrão de secreção de adipocinas, para um perfil pró-inflamatório.

No entanto, a hipertrofia dos adipócitos não é um processo ilimitado, eventualmente a célula atinge um tamanho máximo pois a sua capacidade de armazenamento de TG é alcançada, e conseqüentemente, tais adipócitos tornam-se lipolíticos. Este processo, resulta em aumento da concentração de ácidos graxos livres na corrente sanguínea, os quais podem alterar a função de outros tecidos em um processo conhecido como lipotoxicidade (DEFRONZO, 2004)

O acúmulo de tecido adiposo visceral é o principal fator de risco para o desenvolvimento de componentes da síndrome metabólica como dislipidemia com perfil aterogênico (hipertrigliceridemia e redução de HDL-c), intolerância à glicose, resistência à insulina, hipertensão e doenças cardiovasculares. Obesos frequentemente exibem estados pró-trombótico e pró-inflamatório exacerbados, o que contribui muito para a piora nos quadros de resistência à insulina e desenvolvimento de diabetes tipo 2, bem como para doenças cardiovasculares (AHIMA, 2011; CHUNG et al., 2011).

O desenvolvimento destas co-morbidades associadas à obesidade se deve ao fato de que o TAB é um importante órgão endócrino e alterações em hormônios derivados de adipócitos estão associadas a doenças. Entre as principais substâncias secretadas por adipócitos (adipocinas), encontram-se a leptina e a adiponectina, as quais exercem os mais variados efeitos biológicos (AHIMA e LAZAR, 2008).

O TNF α (fator de necrose tumoral α) está cronicamente elevado no tecido adiposo de obesos. Os níveis aumentados de TNF- α estão implicados na indução da adipocinas aterogênicas, como PAI-1 e IL-6, e na inibição de adipocinas antiaterogênicas, como a adiponectina (AHN et al., 2007). Entretanto, a IL-10 (interleucina 10) é uma citocina com potente propriedade anti-inflamatória, que está positivamente associada à sensibilidade à insulina e com outras variáveis intimamente ligadas, como o jejum, e a insulina pós-carga glicêmica, o HDL-c e os triacilglicerídeos (STRACZKOWSKI et al., 2005). A IL-10 tem propriedades anti-inflamatórias multifacetadas, incluindo a inibição da atividade de macrófagos e células T, além de apresentar um efeito protetor contra aterogênese. Foi demonstrado claramente na literatura que a adiponectina (adipocina anti-inflamatória), induz a expressão de IL-10 em macrófagos humanos. Aparentemente, parte dos efeitos anti-aterogênicos da adiponectina são mediados pela IL-10 (ARSLAN et al., 2010).

Recentemente, Arslan e colaboradores (2010) demonstraram que a IL-10 pode exercer importante ação anti-inflamatória no sistema nervoso central. Os achados destes autores sugerem que a infusão de IL-10 diretamente no hipotálamo inibe a ação inflamatória do I κ B/NF- κ B nessa região do cérebro de ratos obesos, aumentando a sensibilidade à ação da leptina e da insulina nos neurônios dessa região, culminando em diminuição da ingestão calórica e melhora no controle do balanço energético.

A inflamação pode ser definida como o conjunto de alterações bioquímicas, fisiológicas e imunológicas em resposta a estímulos agressivos ao organismo. Na

resposta de fase aguda, que ocorre logo após a agressão, há aumento do fluxo sanguíneo e da permeabilidade vascular, com recrutamento de leucócitos no foco da lesão e liberação de mediadores inflamatórios. A transição para a fase crônica é caracterizada pelo desenvolvimento da resposta humoral específica e da resposta imune celular. Embora possa suceder a inflamação aguda, a inflamação crônica, com frequência, começa de maneira insidiosa, como resposta de baixo grau, latente e, muitas vezes, assintomática (KHOVIDHUNKIT et al., 2004; KUMAR et al., 2004). A obesidade é uma das doenças em que ocorre inflamação generalizada, devido ao desequilíbrio das vias de sinalização celular, à resistência insulínica, à expressão e ativação de moléculas indesejáveis, entre outros (SEYMOUR et al., 2009; YANG et al., 2011; SAMPEY et al., 2012).

Tanto na resposta de fase aguda quanto na de fase crônica, mediadores inflamatórios agem de maneira local ou sistêmica, ativando outras células envolvidas com o processo inflamatório (células endoteliais, fibroblastos e células do sistema fagocítico mononuclear), ampliando, assim, a resposta inicial ao agente lesivo. Pode ser verificada alterações no metabolismo de lipídios, como: aumento dos níveis de triacilglicerídeos e da secreção de VLDL (lipoproteína de muito baixa densidade) e supressão da oxidação de ácidos graxos (SEYMOUR et al., 2009; YANG et al., 2011; SAMPEY et al., 2012).

Embora não existam critérios diagnósticos específicos, sabe-se que o estado de inflamação crônica subclínica provoca lesão tissular incipiente por meio da ativação a longo prazo do sistema imune inato, podendo causar posterior manifestação de doenças crônicas não transmissíveis, como as cardiovasculares, o *diabetes mellitus*, a obesidade, o câncer, entre outras. O mecanismo pelo qual estes mediadores pró-inflamatórios levam à manifestação dessas doenças parece envolver a atenuação da atividade insulínica, mobilização de gorduras, disfunção endotelial e estresse oxidativo (LAHOZA et al., 2007).

O estresse oxidativo é caracterizado pelo aumento da produção de espécies reativas de oxigênio e da redução das enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase (SOD), catalase e glutatona peroxidase (GSH). O acúmulo de radicais livres de oxigênio ou nitrogênio, estimulam reações prejudiciais e causam graves danos às células. Esses danos desencadeiam uma série de alterações metabólicas que levam à dislipidemia, resistência insulínica e doenças cardiovasculares, reduzindo a

qualidade de vida dos indivíduos (FURUKAWA et al., 2004). A alimentação inadequada é ferramenta importante no aumento da formação de radicais livres. Sendo assim, alimentos ricos em compostos bioativos com capacidade antioxidante que atuam, impedindo, interceptando e reparando lesões causadas por radicais livres, pode ser a solução mais simples e recomendada para reduzir ou minimizar os riscos de doenças crônicas não transmissíveis (CERQUEIRA, MEDEIROS e AUGUSTO, 2007).

3.2 Biologia do tecido hepático

O fígado é constituído principalmente de células hepáticas. Em cortes histologicamente preparados, pode-se observar unidades estruturais chamadas lóbulos hepáticos. Os hepatócitos estão dispostos ao redor dos lóbulos hepáticos, formando placas celulares que possuem capilares chamados de sinusóides. As células endoteliais desses capilares estão separadas dos hepatócitos apenas por uma lâmina basal. Portanto, o sangue passa pelos capilares, e os seus metabólitos atravessam rapidamente as células endoteliais, chegando aos hepatócitos. Esta troca metabólica rápida é importante não somente para a absorção de nutrientes provenientes da dieta, mas também para a secreção de metabólitos sintetizados nos hepatócitos (TAKAMURA et al., 2012).

Os capilares sinusóides possuem macrófagos encontrados na sua luz, denominadas células de Kupfer. Essas células atuam metabolizando hemácias velhas, digerindo a hemoglobinas, secretando imunsubstâncias e destruindo possíveis bactérias que tenham penetrado pelo sistema porta (HOI et al., 2009).

A esteatose hepática é uma alteração morfofisiológica dos hepatócitos que ocorre em consequência de desordens metabólicas. O hepatócito normalmente sintetiza lipídeos e os exporta para o tecido adiposo. Em condições normais de boa alimentação e metabolismo, não há acúmulo de triacilglicerídeos no hepatócito (PAREKH e ANANIA, 2007; HOI et al., 2009). Embora de origem multifatorial, a resistência insulínica é considerada o principal fator na etiopatogênese da doença hepática gordurosa, pois desencadeia uma série de eventos que culminam no acúmulo de triacilglicerídeos nos hepatócitos. O aumento da disponibilidade de ácidos graxos ocorre devido a um maior influxo e captação hepática de ácidos graxos livres

provenientes da lipólise e liberação pelo tecido adiposo, juntamente com o aumento das vias de síntese de novos ácidos graxos no fígado. Tais alterações podem ser associadas à diminuição na produção e, ou secreção de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e, em conjunto, contribuem para o desenvolvimento da esteatose (PAREKH e ANANIA, 2007).

3.3 O sorgo

O sorgo (*Sorghum bicolor* L.) é o quinto cereal mais importante no mundo em termos de produção, se coloca atrás somente do trigo, arroz, milho e cevada (FAOSTAT, 2011).. Em países da África, Ásia e América Central, ele é utilizado na alimentação humana e pode suprir até 70% das calorias ingeridas por 300 milhões de indivíduos de baixa renda (SOUZA et al., 2005; TAYLOR SCHOBER, e BEAN, 2006; AFIFY et al., 2011). Em países ocidentais como o Brasil e Estados Unidos, o sorgo é desenvolvido e cultivado essencialmente para alimentação animal (FAOSTAT, 2011). No entanto, o sorgo na alimentação humana dos Estados Unidos e de outros países do ocidente, incluindo o Brasil, vem aumentando devido à demanda por produtos sem glúten, pelas vantagens agronômicas (baixo custo de produção, resistência à seca e alta produtividade) e por resultados de pesquisas demonstrando os benefícios do sorgo na alimentação humana (KHAN et al., 2015; BARROS et al., 2015). Os carboidratos correspondem ao principal macronutriente do sorgo, constituindo aproximadamente, 74,6% do cereal (USDA, 2015). O carboidrato deste cereal está presente, principalmente, na forma de amido, que corresponde ao polissacarídeo de reserva das plantas. Os lipídios correspondem a cerca de 3% do cereal (USDA, 2015). A maioria dos cultivares apresenta maior conteúdo de ácidos graxos poliinsaturados do que monoinsaturados. As concentrações dos principais ácidos graxos variaram de 31,1 a 48,9% para o ácido oléico; 0,4 a 0,6% de palmitoléico; 27,6 a 50,7% de linoléico; 1,7 a 3,9% de linolênico; 1,0 a 2,6% de esteárico e 11,7 a 20,2% de palmítico (USDA, 2015).

O sorgo contém proteínas não fornecedoras de glúten, que correspondem a aproximadamente 11,3% (USDA, 2015). Entretanto, as proteínas do sorgo são deficientes em arginina, lisina, glicina, tirosina e metionina. Este desequilíbrio de aminoácidos pode ocasionar efeitos negativos no aproveitamento da proteína. O grão

de sorgo também pode ser considerado uma boa fonte de vitaminas do complexo B, como por exemplo, tiamina, riboflavina e piridoxina, e das vitaminas lipossolúveis A, D, E e K. O cereal é fonte de minerais como fósforo, potássio e zinco (DICKO et al., 2006).

O sorgo é considerado excelente fonte de compostos fenólicos, como as 3-deoxiantocianidinas, e os taninos, além de fibras alimentares. Estes compostos têm desempenhado efeito modulador nas DCNT (CARDOSO et al., 2015). Embora a concentração de compostos fenólicos do sorgo seja determinada por fatores genéticos, métodos de processamento da matéria-prima podem alterar essas concentrações. Estudos são controversos sobre o efeito do tratamento térmico na concentração de fenólicos nas matérias-primas. Hamama e Nawar (1991) relataram a destruição de fenólicos antioxidantes em altas temperaturas. Contrariamente, o aumento da concentração destes compostos foi relatado com a exposição da matéria-prima ao tratamento térmico (DEWANTO, WU e LIU, 2002).

O perfil de compostos fenólicos em sorgo é determinado de acordo com os fatores genéticos que regulam a cor e a espessura do seu pericarpo, presença de testa pigmentada, e da cor secundária da planta (AWIKA et al., 2005; DYKES et al., 2009; TALEON et al., 2012). O efeito do processamento térmico sobre os compostos fenólicos pode variar de acordo com o genótipo, principalmente devido a diferenças nos perfis de flavonóides. Flavonas e flavanonas de sorgo parecem ser mais sensíveis ao cozimento e extrusão por calor seco em forno convencional em relação as 3-deoxiantocianidinas e as proantocianidinas. Mesmo que a degradação térmica possa ter influenciado na degradação dos compostos fenólicos, parte das alterações no conteúdo fenólico pode ser atribuído à redução extratibilidade após o processamento (CARDOSO et al., 2015). De acordo com Cardoso et al. (2015) dependendo do perfil fenólico de sorgo, as técnicas de processamento podem ser empregadas para minimizar as perdas de compostos bioativos.

3.4 Impactos do sorgo na saúde humana

O sorgo possui compostos bioativos que podem contribuir para a saúde humana. Os resultados de estudos *in vitro* e em animais demonstram que extratos e frações de sorgo rico em compostos bioativos (antocianidinas, taninos e compostos

fenólicos) modulam variáveis relacionadas à obesidade (MURIU et al., 2002), dislipidemias e doenças cardiovasculares (CHUNG et al., 2011), diabetes (CHUNG, et al., 2011), câncer de mama, de cólon e de esôfago (AWIKA et al., 2009). No entanto, apesar do elevado potencial desse cereal, existem poucos estudos avaliando os efeitos do consumo de sorgo integral na saúde humana (AWIKA et al., 2009).

Os principais fenólicos encontrados normalmente em cultivares de sorgo compreendem os derivados do ácido hidrobenzóico e do ácido hidrocínâmico, e os flavonóides, as antocianinas e os taninos (AWIKA e ROONEY, 2004a). Além de auxiliarem as plantas na defesa contra pestes e fitopatógenos estes compostos também apresentam elevada atividade antioxidante *in vitro* e podem contribuir significativamente com benefícios à saúde associado ao consumo do grão integral (KAMATH, CHANDRASHEKAR e RAJINI, 2004).

As antocianidinas são flavonóides solúveis em água e possuem significativa capacidade antioxidante, anti-inflamatória e anti-carcinogênica (AWIKA e ROONEY 2004a). As antocianidinas do sorgo são as raras 3-deoxiantocianidinas (3-DXAS) e correspondem até 79% dos flavonóides de cultivares específicas de sorgo (DYKES e ROONEY, 2006; TALEON et al., 2012). A luteolinidina e apigeninidina são as principais 3-deoxiantocianidinas do sorgo (AWIKA et al., 2004b).

O potencial das antocianidinas do sorgo no controle das doenças crônicas não transmissíveis vem sendo investigado. Essas antocianidinas são mais citóxicas às células cancerígenas quando comparadas com as de frutas e hortaliças (AWIKA et al., 2009). As 3-deoxiantocianidinas aumentam a atividade de enzimas de fase II, elevando a atividade da NADH quinona oxireductase (NQO), as quais são facilitadoras da eliminação de carcinógenos endógenos (AWIKA et al., 2009; YANG et al., 2009; SHIH et al., 2006).

As antocianidinas também contribuem de forma significativa para a atividade antioxidante apresentada pelos cultivares de sorgo. Um estudo com cultivares de pericarpo negro de sorgo evidenciaram uma elevada concentração de antocianidinas, sendo que cerca de 50% destes compostos correspondiam a luteolinidinas e apigeninidinas. Observou-se, também, que os farelos deste cultivares apresentaram alta atividade antioxidante, que variaram de 52 a 400 $\mu\text{mol TE/g}$ comparada a outros cereais, podendo oferecer benefícios à saúde humana quando incorporados aos alimentos (AWIKA, ROONEY e WANISKA, 2004a).

O sorgo apresenta a maior concentração de taninos condensados entre os cereais, chamados proantocianidinas (SERNA-SALDIVAR e ROONEY, 1995). Os taninos do sorgo variam de acordo com o tipo, a concentração e a distribuição de monômeros, oligômeros e polímeros. Os genótipos de sorgo são classificados como tipo I (não possuem testa pigmentada e não possuem taninos), tipo II (possuem testa pigmentada e os taninos são extraídos em baixa concentração usando metanol acidificado; têm maior prevalência de catequinas e oligômeros) e tipo III (possuem testa pigmentada e os taninos são extraídos em alta concentração usando metanol ou acetona/água sem a necessidade de acidificação; têm maior prevalência de polímeros) (PRICE et al., 1979).

A maioria dos cultivares de sorgo tipo III possuem taninos condensados de alto peso molecular (polímeros) com grau de polimerização maior que 10 (AWIKA et al., 2003). Possuem a maior capacidade antioxidante *in vitro* e *in vivo* comparado com compostos fenólicos simples (HAGERMAN et al., 1998; TIAN et al., 2012). Essa elevada capacidade antioxidante dos taninos do sorgo é a principal responsável pelas suas propriedades anticarcinogênicas e antiinflamatórias (HUANG et al., 2010). Os taninos presentes em extratos fenólicos de sorgo inibiram de forma significativa células de câncer de esôfago e de cólon (AWIKA et al., 2009). Além das propriedades antioxidantes, os taninos condensados de alto peso molecular interagem com mais facilidade com proteínas e amido, reduzindo a digestibilidade destes nutrientes (HAGERMAN et al., 1992; DAVIS e HOSENEY, 1979).

Além das características sensoriais desagradáveis, os taninos podem, ainda, se ligar as moléculas protéicas e aos carboidratos, quelar minerais, dificultando a ação das enzimas e, por fim, reduzir a taxa de digestão (DYKES e ROONEY, 2006). Como resultado, o tanino presente no sorgo reduz o valor nutricional e calórico dos alimentos, diminui o consumo de ração por animais e leva a uma baixa eficiência alimentar (JAMBUNATHAN e MERTZ, 1973; AL-MAMARY et al., 2001; RESTLE et al., 2004).

A biodisponibilidade dos taninos do sorgo pode ser melhorada de forma significativa por meio do processamento dos alimentos. O tratamento térmico pode despolimerizar os taninos condensados e produzir monômeros (catequinas) e oligômeros, sem alterar sua concentração total, aumentando sua biodisponibilidade. Assim, grãos, farinha e farelo de sorgo contendo taninos podem ser usados como

ingredientes na produção de alimentos funcionais sem glúten, com menos calorias e maior capacidade antioxidante (AWIKA et al., 2003).

Alguns estudos demonstraram que, em comparação com o sorgo, outros cereais como aveia, arroz e trigo possuem menores concentrações de compostos fenólicos e baixa atividade antioxidante (FARRAR et al., 2008). Estudos *in vitro* têm sido conduzidos com a finalidade de relatarem a atividade antioxidante do sorgo (KAMATH CHANDRASHEKAR, RAJINI, 2004; AWIKA et al., 2005; AWIKA et al., 2009). DLAMINI, TAYLOR e ROONEY (2007) demonstraram correlação entre a atividade antioxidante de cultivares de sorgo com a presença de fenólicos totais e também de taninos, ou seja, cultivares que possuíam taninos apresentaram maior atividade antioxidante. Esta atividade dos taninos deve-se à proximidade de muitos anéis aromáticos e grupos hidroxila que impedem que este fenólico haja como pró-oxidante (HAGERMAN et al., 1998; AWIKA e ROONEY, 2004).

Entretanto, uma preocupação é que os taninos não sejam eficazes biologicamente em função do tamanho de sua molécula e da tendência a se ligarem às moléculas dos alimentos formando compostos insolúveis (AWIKA e ROONEY, 2004). Contudo, Riedl e Hagerman (2001), demonstraram que mesmo complexados com proteínas, os taninos ainda mantinham pelo menos 50% de sua capacidade antioxidante.

4. MATERIAL E MÉTODOS

As etapas previstas neste estudo foram realizadas nos seguintes Laboratórios/Instituições: desenvolvimento e cultivo dos genótipos de sorgo: Embrapa Milho e Sorgo; processamento do sorgo: Laboratório de Análise Sensorial e Processamento de Novos Produtos (DNS/UFV) e Laboratório de Cereais (Embrapa Agroindústria de Alimentos); caracterização química do sorgo: Laboratório de Análise de Vitaminas (DNS/UFV); quantificação de citocinas: Laboratório de Núcleo de Microscopia e Microanálise (CCB/UFV); expressão gênica: Laboratório de parasitologia e epidemiologia molecular (DBB/UFV); preparo das dietas testes e desenvolvimento do ensaio biológico: Laboratório de Nutrição Experimental (DNS/UFV).

4.1 Matéria-prima

Com base em resultados anteriores do projeto “Sorgo para a alimentação humana: caracterização de genótipos quanto a compostos de interesse para a nutrição e saúde humana e desenvolvimento de produtos sem glúten” entre os 100 genótipos de sorgo foi selecionado o genótipo SC319 de pericarpo marrom com pro-antocianinas e com maiores teores de deoxiantocianidinas (CARDOSO et al., 2015).

O genótipo SC319 foi cultivado no campo experimental da Embrapa Milho e Sorgo, localizada em Nova Porteirinha, MG, de acordo com as recomendações para essa cultura nessa região. Após a colheita, os grãos foram trilhados e armazenados em câmara fria ($5 \pm 2^\circ\text{C}$) na sede da Embrapa Milho e Sorgo (Sete Lagoas, MG). Os grãos foram encaminhados para o Laboratório de Cereais (EMBRAPA Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ) para serem extrusados (item 4.2). Os grãos extrusados foram transportados via terrestre, em temperatura ambiente, para o Departamento de Nutrição e Saúde da Universidade Federal de Viçosa (DNS/UFV).

4.2 Processamento dos grãos de sorgo

Os grãos do genótipo SC319 foram submetidos à extrusão em extrusora industrial modelo de dupla-rosca (Evolum HT 25, Cleextral, Firminy, França). Os grãos de sorgo foram previamente transformados em farinha ($850\mu\text{m}$). A farinha foi extrusada a uma velocidade constante de 600 rpm e zonas de temperatura de: 30, 30, 60, 90, 100, 100, 120, 120, 150 e 150°C , para alimentação da saída (VARGAS-SOLÓRZANO et al., 2014). O diâmetro da rosca (D) foi de 25 mm e comprimento total configurado em parafuso (L) de 1000 mm, promovendo uma relação L/D global de 40. A fieira tinha quatro aberturas circulares de 3,8 milímetros de diâmetro cada e 9 mm de comprimento. A farinha de sorgo seca foi colocada na zona de alimentação em alimentador gravimétrico modelo GRMD15 (Schenck Process, Darmstadt, Alemanha), e monitorada por Schenck Process (Schenck Process, Darmstadt, Alemanha). A água destilada foi injetada entre a primeira e a segunda zona de alimentação por meio de um porto a 5,25 mm de diâmetro interno a partir do início do tambor usando um modelo de bomba de medição do êmbolo JX 8/1 (AILIPU Bomba Co. Ltd., China) ajustado para compensar diferenças de umidade nas amostras e fornecer um conteúdo de umidade final de 12%. As amostras foram coletadas ao longo de 15 a 20 min.

Subsequentemente, o extrusado foi submetido a moagem para o preparo da farinha extrusada de sorgo no Laboratório de Desenvolvimento de Novos Produtos (DNS/UFV), num moinho micro-analítico de rotor (850 μm) (Marconi, MA 090, Brasil) e armazenados em sacos de polietileno, à temperatura de -18 ± 1 ° C.

4.3 Animais e dados biológicos

4.3.1 Dietas experimentais

Para cálculo das dietas contendo FES utilizou-se os dados de compostos bioativos, carboidratos, proteínas e lipídios analisados por Cardoso et al (2015) que analisou a mesma matéria prima (Tabela 1). Substituiu-se a celulose da dieta na proporção de 50% (HFDS50) e 100% (HFDS100) por fibra de FES. O amido de milho das duas dietas contendo sorgo foi substituído por carboidrato da FES em sua totalidade. Oito animais foram mantidos com dieta AIN- 93M (REEVES et al., 1993) e 24 animais receberam dieta hiperlipídica, antes da intervenção, segundo a formulação da Research Diets® (2006), para indução de obesidade, durante 49 dias (SAMPEY et al., 2011) (Tabela 2). Após as sete semanas da fase I, os animais alimentados com HFD foram distribuídos conforme peso corpóreo, em três grupos: HFD (dieta hiperlipídica), HFDS50 (dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%) e HFDS100 (dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%) e manteve-se o grupo controle negativo (AIN-93M), iniciando a fase II (oito semanas). As ingestões das dietas experimentais foram monitoradas diariamente, e o peso corporal, semanalmente.

4.3.2 Ensaio biológico

Foram utilizados 32 ratos machos recém-desmamados com 21 dias de idade (*Rattus norvegicus*, variedade *albinus*, classe Rodentia), linhagem Wistar, com peso médio de 69g, provenientes do Biotério Central do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/UFV. Até o 60º dia de idade, fase adulta, os animais foram mantidos em caixas de polietileno consumindo ração comercial (Presence/In Vivo® Nutrição Animal) e

água destilada *ad libitum*. A temperatura da sala de experimentação foi controlada em $22^{\circ} \pm 3^{\circ}\text{C}$, com ciclo claro/escuro de 12 horas. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética para Uso de Animais (CEUA/ UFV) da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, processo nº28/2010, sendo o experimento conduzido de acordo com os princípios éticos na experimentação animal (Anexo I). O delineamento experimental pode ser observado na figura 1.

No 61º dia de nascidos, os animais foram alocados em gaiolas individuais, de aço inoxidável e divididos em quatro grupos (n=8) de forma sistemática, de modo que não houvesse diferença maior que 3,0 g entre as médias dos pesos dos grupos, atendendo à recomendação da AOAC (2012). O grupo controle negativo foi mantido com dieta AIN-93M e os outros três grupos experimentais receberam dieta hiperlipídica (HFD) para indução de obesidade, durante 49 dias (SAMPEY et al., 2011). Ao final desta fase, os ratos ficaram em jejum por 12 horas para realização dos testes de glicemia e triacilglicerídeos pela coleta de sangue por meio de punção da veia caudal utilizando o Accutrend® GCT e, posteriormente, as medidas biométricas para identificar a incidência de riscos metabólicos e verificar a indução da obesidade.

4.3.3 Dados biométricos

O Índice de Lee foi calculado no final do experimento, a partir da relação entre a raiz cúbica do peso e comprimento nasoanal dos animais ($\sqrt[3]{\text{Peso (g)}} / \text{LAN (cm)}$). Foram considerados obesos os animais com índice de Lee acima de 0,3. Para o cálculo do índice de adiposidade, o somatório dos pesos dos tecidos adiposos abdominal e epididmal foi dividido pela massa corpórea e multiplicado por 100. O índice hepatossomático foi calculado pela relação entre o peso do fígado e a massa corpórea, e também multiplicado por 100. O coeficiente de eficiência energética (CEE) foi calculado dividindo-se o ganho de peso corporal pela ingestão de energia (em kcal) multiplicando o resultado por 1000. O Coeficiente de eficiência alimentar foi calculado pela relação entre o ganho de peso e o consumo total de dieta em gramas (Tabela 2).

Tabela 2: Dados biométricos e de consumo alimentar de ratos alimentados com dieta hiperlipídica e dieta padrão na fase de indução da obesidade (49 dias).

Variáveis	AIN-93M	HFD
Massa corpórea (g)	365,80±20,68 ^b	404,43±35,49 ^a
Ganho de peso (g)	65,00±13,51 ^b	100,00±15,27 ^a
Índice de Lee	0,30±0,01 ^a	0,31±0,01 ^a
Consumo alimentar (g/dia)	20,70± 0,95 ^a	16,14±1,17 ^b
Consumo energético (Kcal/dia)	74,27±3,06 ^a	76,86±5,12 ^a
CEE	18,90±1,19 ^b	28,56±4,61 ^a
CEA	0,07±0,01 ^b	0,11±0,03 ^a

Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si pela ANOVA a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo;

Tabela 1: Composição das dietas experimentais (g·100g⁻¹).

Ingredientes	AIN-93M^A	HFD^B	HFDS50^C	HFDS100^D
Caseína	14	19,5	19,0	18,5
Maltodextrina	15,5	10	1	0
Amido de milho	46,5	5,2	0	0
Sacarose	10	34,1	34,1	20,8
Óleo de soja	4	1	0,67	0,34
Banha	0	20	20	20
Celulose	5	5	2,5	0
Mix vitamínico	3,5	3,5	2,5	3,5
Mix mineral	1	1	1	1
Bitartarato de colina	0,2	0,2	0,2	0,2
L-cistina	0,1	0,3	0,3	0,3
Colesterol	0	0,1	0,15	0,15
BHT	0,0008	0,00044	0,0004	0,0004
Sorgo	0	0	17,58	35,16
3- DXAS total (mg)	0	0	1,77	3,53
Luteolinidina (mg)	0	0	0,46	0,93
Apigeninidina (mg)	0	0	0,25	0,50
5-Metoxi-luteolinidina (mg)	0	0	0,71	1,42
5-Metoxi-apigeninidina (mg)	0	0	0,34	0,68
Proantocianidinas totais (mg)*	0	0	8,56	17,12
Compostos fenólicos totais (mg)**	0	0	8,56	17,12
Calorias por 100g de dieta:				
Carboidrato (%)	75,81	42,54	40,14	37,68
Proteína (%)	14,73	16,79	18,40	20,08
Lipídio (%)	9,47	40,67	41,45	42,24
Densidade calórica (kcal/g)	3,80	4,65	4,55	4,46

^A: dieta padrão para roedores; ^B: dieta hiperlipídica; ^C: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%;

^D: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100% ; *: equivalente de catequina; **: equivalente de ácido gálico.

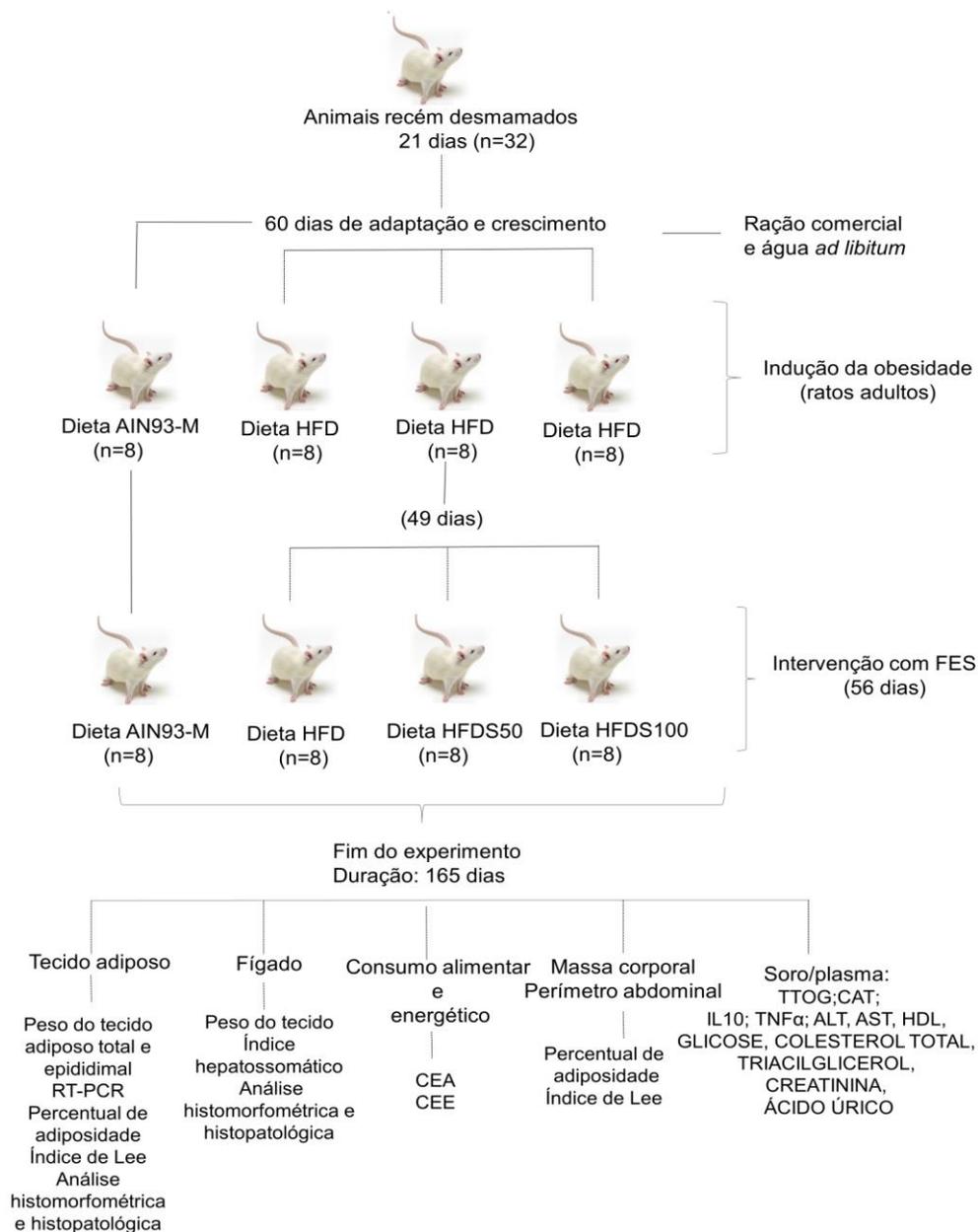


Figura 1: Delineamento experimental. (RT-PCR: real time polymerase chain reaction; CEA: coeficiente alimentar; CEE: coeficiente de eficiência energética; TTOG: teste de tolerância ora à glicose; CAT: capacidade antioxidante total; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; HDL: lipoproteína de alta densidade; AIN93-M: dieta padrão de manutenção para roedores; HFD: dieta hiperlipídica; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%

Ao final do experimento, os ratos permaneceram em jejum por 12 horas, foram anestesiados (com a utilização de Isoflurano 100%®), em aparelho de anestesia inalatória conforme resolução 714, 20 de julho de 2002) e submetidos à eutanásia por punção cardíaca. O sangue foi coletado em tubos com e sem anticoagulante (heparina) para obtenção de plasma e soro, após centrifugação sob refrigeração por 10 minutos a 3000 rpm. O fígado e os tecidos adiposos abdominal e epididimal dos animais foram retirados e pesados para posteriores cálculos das medidas biométricas. Amostras de 0,5g de fígado e de tecido adiposo epididimal, foram fixadas em formaldeído 10% tamponado, e o restante imediatamente congelado em nitrogênio líquido e armazenado em ultrafreezer à temperatura de -80°C para análises posteriores.

4.4 Variáveis bioquímicas

Foram realizadas análises dos marcadores de lipídemia (colesterol total, HDL-c e triacilglicerídeos) e de glicemia (glicose de jejum).

Foi avaliada também, a função hepática (alanina aminotransferase- ALT e aspartato aminotransferase- AST) e a função renal (ácido úrico e creatinina) no soro dos animais utilizando-se kits (Bioclin®) disponíveis comercialmente na Divisão de saúde (UFV).

4.5 Teste de tolerância oral à glicose (TTOG)

O teste de tolerância oral à glicose foi realizado na 7ª semana da fase II do experimento, uma semana antes da eutanásia. Após 12 h de jejum, uma solução de glicose na concentração de 200 mg/kg de peso corpóreo foi administrada por gavagem aos animais. Para medir a glicemia, realizou-se punção da veia caudal com subsequente leitura no aparelho Accutrend® GCT nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos após administração de glicose (WONG et al., 2012).

4.6 CAT

A capacidade antioxidante total do plasma foi avaliada por meio de método de imunoenensaio enzimático, utilizando kit específico (Sigma Aldrich®). Este representa um método indireto fundamentado na capacidade alterada dos sistemas biológicos em modular a concentração de espécies reativas (MILLER et al., 1993). Compara-se a atividade antioxidante da amostra de interesse (plasma) com uma amostra de referência, cuja atividade antioxidante foi previamente determinada. Dessa forma, se avaliou a capacidade antioxidante total do sangue, determinando, inespecificamente, a atividade de enzimas antioxidantes como a superóxido dismutase, a catalase e a glutationa peroxidase e ainda compostos com atividade antioxidante como o ácido úrico, vitaminas e proteínas. O ensaio baseou-se na capacidade de antioxidantes presentes na amostra para inibir a oxidação do radical ABTS (2,2'azino-bis) (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) a ABTS- pela metamioglobina. A quantidade de ABTS- produzida pôde ser monitorada por meio da leitura da absorbância a 750 ou 405 nm. Nessas condições, os antioxidantes presentes provocaram supressão na absorbância em 750 nm ou 405 nm de forma proporcional à sua concentração na amostra. A capacidade dos antioxidantes presentes na amostra para evitar a oxidação de ABTS foi comparado com o Trolox, análogo hidrossolúvel da vitamina E, e foi quantificada como equivalentes milimolar de Trolox. O Trolox é utilizado como controle positivo, em razão da sua elevada capacidade antioxidante.

4.7 Citocinas pró e anti-inflamatórias

A quantificação da citocina anti-inflamatória, interleucina 10 (IL-10), e pró-inflamatória, fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), foi determinada no plasma por citometria de fluxo utilizando o *kit Soluble Protein master Buffer BD®* (CA, USA) para ratos. Populações de *beads* com distintas intensidades de fluorescência foram conjugadas com anticorpo de captura específico para cada citocina, que foram misturadas para formar o Cytometric Beads Array (CBA). As populações de *beads* foram visualizadas de acordo com as suas respectivas intensidades de fluorescência, ou seja, da menos brilhante para a mais brilhante. No CBA, as *beads* de captura das citocinas foram misturadas com o anticorpo de detecção conjugado com o fluorocromo PE, e depois incubadas com as amostras para formar o ensaio "em sanduíche". Os

tubos de ensaio utilizados na análise foram preparados com 50 µL de amostra, 50 µL da mistura de *beads* e 50 µL do reagente de detecção. O mesmo procedimento foi realizado para a obtenção da curva-padrão. Os tubos foram homogeneizados e incubados por duas horas, em temperatura ambiente, no escuro e lidas no canal FL3 do citômetro de fluxo FACScalibur (BD®). Os resultados foram obtidos com auxílio do software CellQuest (BD®).

4.8 Expressão de genes no tecido adiposo epididimal envolvidos no metabolismo de lipídios

Triturou-se o tecido adiposo epididimal (500 mg) por moagem, utilizando gral e pistilo, em nitrogênio líquido para manutenção da baixa temperatura. Adicionou-se 1 mL de Trizol (Invitrogen, Carlsbad, CA, EUA) e transferiu-se o homogeneizado para um microtubo de 2,0 mL deixando em temperatura ambiente sob agitação por 5 minutos. Adicionou-se 400 µL de clorofórmio e agitou vigorosamente. Após centrifugação a 12.000 g por 15 min a 4°C, transferiu-se o sobrenadante para um tubo novo e adicionou-se 700µL de etanol 75% e agitou-se vigorosamente. A mistura foi filtrada em filtro CARTRIGE (Ambion by Life Technologies). Descartou-se o que passou pelo filtro (eluido). Adicionou-se 450 µL de solução 1/3 de lavagem de RNAm e centrifugou-se por 15 seg a 12.000 g. Descartou-se o eluido do tubo e devolveu o filtro ao tubo. Adicionou-se 375 µL de solução de lavagem 2/3 e centrifugou-se por 15 segundos a 10.000 g e descartou-se o eluido. Lavou-se novamente com a solução de lavagem 2/3 (150 µL) e descartou-se o eluido. Transferiu-se o filtro para um tubo de coleta e adicionou-se 30 µL de solução de eluição pré-aquecida (95° C) no centro do filtro e centrifugou-se por 30 seg a 10.000 g. O eluído (mRNA) foi coletado e armazenado a -80° C.

O RNA foi quantificado em microplaca em espectrofotômetro (MultiskanGo® Thermo Scientific) e o grau de pureza determinado pela razão de densidade óptica 260/280 nm. Após o RNA foi tratado com a enzima DNase I (Invitrogen®). A expressão dos níveis de mRNA foi realizada pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (RT-PCR) com SYBR green PCR master mix da Applied Biosystems (Foster City, CA) com volume de reação de 10 µL e todos os primers foram utilizados na concentração final de 2,5 µM. A quantificação foi

realizada no equipamento Step One Plus PCR System, utilizando o sistema de quantificação por fluorescência SYBR-Green, utilizando Primer Express software (Applied Biosystems, Foster City, CA). O ciclo da PCR envolveu a desnaturação inicial de 95°C (10 min) e então 40 ciclos, com 1 min de desnaturação (94° C), 1 min de anelamento (56° C) e 2 min de alongamento (72° C), seguidos da curva padrão de dissociação. Foram utilizadas sequências de oligonucleotídeos (Alpha DNA-Canadá) senso e anti-senso envolvidos na adipogênese (PPAR- γ 2), lipogênese (FAS), lipólise (LPL) desenhados pelo Primer Express® software v2.0 da Applied Biosystems (Tabela 3). A expressão relativa dos níveis de mRNA foi normalizada pelo controle endógeno GAPDH (gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase) para ratos. Todas as etapas foram realizadas em condições livres de RNase.

Tabela 3: Sequência dos oligonucleotídeos *

Gene	Senso (5' - 3')	Antisenso (5' - 3')
FAS	AGC CCC TCA AGT GCA CAG TG	TGC CAA TGT GTT TTC CCT GA
LPL	CAG CTG GGC CTA ACT TTG AG	CCT CTC TGC AAT CAC ACG AA
PPAR γ2	CAT TTC TGC TCC ACA CTA TGA A	CGG GAA GGA CTT TAT GTA TGA G
GAPDH	AGG TTG TCT CCT GTC ACT TC	CTG TTG CTG TAG CCA TAT TC

*Os oligonucleotídeos foram adquiridos da Alpha DNA (Canadá).

4.9 Histomorfometria e histopatologia

4.9.1 Tecido hepático

Fragmentsos de fígado fixados em formalina 10% tamponada obtidos de seis animais de cada grupo experimental foram lavados com álcool a 70% por 4 dias consecutivos. Em seguida transferidos para solução de etanol 95% por quatro horas, imersos em solução de álcool-resina na proporção de 1:1 durante 24hs e, posteriormente, colocados em resina de infiltração glicolmetacrilato (Leica, Historesin®) por mais 24h. Os tecidos foram incluídos em resina contendo endurecedor (Leica, Historesin®). Foram obtidos cortes histológicos semi-seriados com 3 μ m de espessura em micrótomo automático Leica® utilizando-se navalha de

vidro, e submetidos à coloração pela técnica Hematoxilina/Eosina. As lâminas (BioGlass[®]) foram montadas com Entellan (Merck[®]) e analisadas em microscópio de luz (Nikon Phase Contrast 0,90 Dry, Japão). As imagens foram obtidas em câmera digital ful-DIGI-PRO 5.0M com auxílio do software Micrometrics SE Premium (Accu-Scope[®]). A partir de 10 fotos por animal, foram medidos 10 núcleos e 10 hepatócitos por foto. As imagens das secções histológicas foram capturadas com objetiva de 40X. As medidas de diâmetros dos citoplasmas dos hepatócitos e dos respectivos núcleos foram tomadas com auxílio do aplicativo ImagePro-Plus[®] versão 4.5 (Media Cybernetics). Para quantificação das áreas de esteatose, foram contabilizados os percentuais das gotas de gordura e demais estruturas hepáticas por meio da contagem manual de pontos sobre os tecidos de dez campos por animal (SABARENSE et al., 2012). A análise histomorfométrica considerou a inserção de retículo de 441 pontos sobre a imagem, para realização da contagem das gotas de gordura, tecido conjuntivo, vasos sanguíneos, núcleo e citoplasma no tecido hepático.

4.9.2 Tecido adiposo epididimal

Os fragmentos de tecidos fixados foram lavados com álcool 70% por 4 dias consecutivos. Em seguida, foram lavados com álcool 90% por 30 minutos, em temperatura ambiente. O procedimento continuou com 2 lavagens em álcool 100%, por 30 minutos cada. Em seguida os tecidos foram imersos 2 vezes em solução de xilol puro, durante 15 minutos cada, em temperatura ambiente. Os fragmentos foram colocados em cassetes e imersos em parafina fundida a 62° C em estufa por 90 minutos e, finalmente, emblocados em parafina. Foram obtidos cortes histológicos semi-seriados com 5 µm de espessura em micrótomo manual utilizando-se navalha de aço inoxidável e, posteriormente, foram submetidos à coloração pela técnica Hematoxilina/Eosina. As lâminas foram montadas com Entellan (Merck[®]) e analisadas em microscópio de luz (Nikon Phase Contrast 0,90 Dry, Japão). As imagens foram obtidas em câmera digital ful-DIGI-PRO 5.0M com auxílio do software Micrometrics SE Premium (Accu-Scope[®]) (LU et al., 2014). A área do círculo é diretamente proporcional ao raio, que é a distância entre o centro e a sua extremidade. Para calcular a área, utilizou-se a expressão $A = \pi * r^2$, onde: $\pi = 3,14$ (aproximadamente) e $r =$ raio. O cálculo do perímetro foi realizado por meio da soma dos comprimentos de todos os

lados, pela expressão $C = 2 * \pi * r$, onde: C = raio da circunferência (medida do centro à extremidade). Para o cálculo do diâmetro baseou-se na medida do raio, multiplicado por 2. O cálculo da área, do diâmetro e do perímetro dos adipócitos foi dado pelo valor médio de 100 adipócitos por animal. As imagens das secções histológicas foram capturadas com objetiva de 20X e as medidas de diâmetro, perímetro e área dos adipócitos foram obtidas com auxílio do aplicativo ImagePro-Plus® versão 4.5 (Media Cybernetics).

4.10 Análise estatística

Foi verificada a normalidade dos dados por meio do histograma de distribuição no software SPSS, versão 20. Os dados foram submetidos à análise de variância (ANOVA) e as médias foram comparadas pelo teste Duncan ao nível de 5% de significância. Utilizou-se o software SPSS statistics, versão 20.

5. RESULTADOS

5.1 Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre a massa corpórea e medidas biométricas de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica

O consumo alimentar foi maior ($p < 0,05$) no grupo AIN-93M, em relação ao grupo HFD. No entanto, o consumo energético foi semelhante entre os grupos experimentais em função da menor densidade calórica da dieta AIN-93M (Tabela 4 e 1). O coeficiente de eficiência energética e o coeficiente de eficiência alimentar foram menores no grupo AIN-93M, em função do menor ganho de peso corpóreo e semelhante nos grupos alimentados com HFD ($p < 0,05$; Tabela 4 e 5).

O percentual de adiposidade, o peso do tecido adiposo total e epididimal, o perímetro abdominal final, o peso do fígado e o índice hepatossomático foram superiores na HFD ($p < 0,05$) em relação ao grupo AIN-93M. A farinha extrusada de sorgo presente na HFD substituindo 100% da fonte de fibra e 100% de amido de milho (HDFS100) reduziu o peso do tecido adiposo epididimal, tornando-o semelhante ao controle negativo ($p < 0,05$; Tabela 5). O percentual de adiposidade, tecido adiposo total e índice hepatossomático tornaram-se semelhantes ao controle negativo ($p > 0,05$), mas não diferiram do grupo alimentado com HFD ($p > 0,05$).

Tabela 4 Consumo alimentar e energético e de compostos bioativos de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica e com farinha extrusada de sorgo por oito semanas.

Parâmetros	AIN-93M	HFD	HFDS50	HFDS100
Consumo alimentar(g/dia)	22,22±1,37 ^a	17,41±0,91 ^b	14,54±0,64 ^b	14,64±0,41 ^b
Consumo energético (Kcal/dia)	84,43±5,21 ^a	80,95±3,77 ^a	66,15±2,92 ^a	65,29±2,02 ^a
Consumo de nutrientes (g/dia)				
PTN	2,50±0,64	2,86±0,65	3,02±0,32	3,27±0,27
CHO	12,87±3,32	7,24±1,66	6,60±0,70	6,13±0,51
LIP	0,71±0,18	3,08±0,70	3,03±0,32	3,06±0,25
FIBRA	0,89±0,23	0,73±0,17	0,73±0,08	0,75±0,06
Coefficiente de eficiência energética	13,17±3,40 ^b	21,18±4,25 ^a	23,41±5,60 ^{ab}	20,70±6,49 ^a
Coefficiente de eficiência alimentar	0,05±0,02 ^b	0,10±0,02 ^a	0,10±0,04 ^a	0,09±0,05 ^a
3-DXAS totais (mg)	0,00	0,00	0,26±0,03	0,52±0,04
Luteolinidina	0,00	0,00	0,07±0,01	0,14±0,01
Apigeninidina	0,00	0,00	0,04±0,00	0,07±0,01
5-Metoxi-luteolinidina	0,00	0,00	0,10±0,01	0,21±0,02
5-Metoxi-apigeninidina	0,00	0,00	0,05±0,01	0,10±0,01
Proantocianidinas totais (taninos) (mg equivalente de catequina)	0,00	0,00	1,25±0,13	2,51±0,21
Compostos fenólicos totais (mg equivalente de ácido gálico)	0,00	0,00	1,25±0,13	2,51±0,21

Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%.

Tabela 5 Efeito do consumo de farinha extrusada de sorgo nas medidas biométricas de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica e com farinha extrusada de sorgo por oito semanas.

Parâmetros	AIN-93M	HFD	HFDS50	HFDS100
Massa corpórea inicial (g)*	366,00±21,00 ^b	414,00±25,00 ^a	404,12±25,89 ^a	405,50±23,54 ^a
Massa corpórea final (g)	425,00±14,00 ^b	509,00±36 ^a	487,00±34,77 ^a	481,00±29,81 ^a
Ganho de massa corpórea (g)	59,00±13,00 ^b	95,00±15,00 ^a	82,88±21,71 ^b	75,50±24,55 ^b
Índice de Lee	0,28±0,02 ^b	0,29±0,01 ^a	0,29±0,01 ^{ab}	0,28±0,01 ^b
Percentual de adiposidade	4,95±1,78 ^b	8,87±2,15 ^a	8,50±1,83 ^a	7,01±2,47 ^{ab}
Perímetro abdominal final (cm)	18,14±0,83 ^b	19,88±0,99 ^a	20,00±0,76 ^a	19,88±0,64 ^a
Tecido adiposo total (g)	21,03±8,49 ^b	45,15±13,66 ^a	41,40±10,99 ^a	33,72±14,02 ^{ab}
Tecido adiposo epididimal (g)	0,44±0,08 ^b	0,74±0,11 ^a	0,77±0,20 ^a	0,58±0,17 ^b
Fígado (g)	12,63±0,90 ^b	18,10±3,19 ^a	17,34±3,55 ^a	15,59±1,62 ^a
Índice hepatossomático	2,97±0,23 ^b	3,55±0,48 ^a	3,56±0,59 ^a	3,24±0,37 ^{ab}

Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%.

5.2 Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre as variáveis bioquímicas de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica

A concentração plasmática de colesterol total, creatinina, triacilglicerol e aspartato amino transferase (AST) plasmáticos foram semelhantes entre os grupos experimentais. O grupo HFD aumentou ($p>0,05$) a glicemia de jejum e nos grupos HFD tratados com farinha extrusada de sorgo (HFDS50 e HFDS100) estas variáveis reduziram tornando-as semelhantes ao controle negativo. Houve tendência na redução do HDL-cno grupo HFD ($p=0,09$), mas a presença de farinha extrusada de sorgo em maior concentração (HFDS100) reverteu este efeito aumentando a concentração de HDL-c. No entanto, não alterou ($p>0,05$) a razão CT/HDL entre os grupos experimentais. O ácido úrico e a alanina amino transferase (ALT) foram maiores ($p<0,05$) no grupo que recebeu HFD, porém, nos grupos HFD recebendo farinha

extrusada de sorgo houve redução ($p < 0,05$) nas concentrações assemelhando-se ao controle negativo (Tabela 6).

Tabela 6 Efeito do consumo da farinha extrusada de sorgo nas variáveis bioquímicas plasmáticas de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica, por oito semanas

Parâmetros	AIN-93M	HFD	HFDS50	HFDS100	*PADRÃO
Glicemia de jejum (mg.dL ⁻¹)	114,40±8,20 ^b	135,75±8,18 ^a	121,13±22,05 ^{ab}	115,5±24,72 ^{ab}	79 - 144
Colesterol total (mg.dL ⁻¹)	68,17±8,42 ^a	71,10±12,29 ^a	73,20±8,61 ^a	76,83±5,19 ^a	55 - 79
HDL-colesterol (mg.dL ⁻¹)	23,20±1,3 ^{ab}	21,83±4,62 ^b	24,50±3,11 ^{ab}	26,80±1,30 ^a	16-54
CT/HDL(mg.dL ⁻¹)	2,94±0,19 ^a	3,02±0,33 ^a	2,99±0,34 ^a	2,87±0,18 ^a	-
Triacilglicerol (mg.dL ⁻¹)	64,40±9,84 ^a	74±22,28 ^a	71,80±8,04 ^a	58,17±5,78 ^a	42 - 160
Creatinina (mg.dL ⁻¹)	0,58±0,10 ^a	0,61±0,08 ^a	0,65±0,06 ^a	0,62±0,04 ^a	0,44 - 0,64
Ácido úrico (mg.dL ⁻¹)	1,52±0,40 ^b	2,45±0,23 ^a	1,62±0,18 ^b	1,74±0,34 ^b	0,9 - 2,0
AST (U.L ⁻¹) ^A	150,40±47,4 ^a	158,40±51,75 ^a	158,33±37,38 ^a	135,80±36,47 ^a	36 - 58
ALT (U.L ⁻¹) ^B	47,83±7,39 ^b	224,7±78,77 ^a	55±23,39 ^b	43,2±21,06 ^b	81 - 180

Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra na mesma linha não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%. ALT= Alanina amino transferase; AST= Aspartato amino transferase; *Variáveis bioquímicas de ratos Wistar machos. Valores expressos por faixa de valores (menor e maior valor). Adaptado de M. G. D. Melo et al.,2012.

5.3 Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre o metabolismo de glicose de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica

O grupo HFD apresentou maior resposta glicêmica. O grupo HFDS100, foi mais eficiente em reduzir a glicemia aos 60 minutos, apresentando menor resposta glicêmica entre os grupos ($p < 0,05$) e manteve-se praticamente constante, em torno de 133 mg/dL até os 120 minutos. O mesmo foi observado para a área sob a curva da glicemia, em que o grupo HFD foi maior ($p < 0,05$) e os grupos HFD alimentados com farinha extrusada de sorgo, reduziram a área tornando-os com comportamento semelhante ($p < 0,05$) ao grupo AIN-93M.

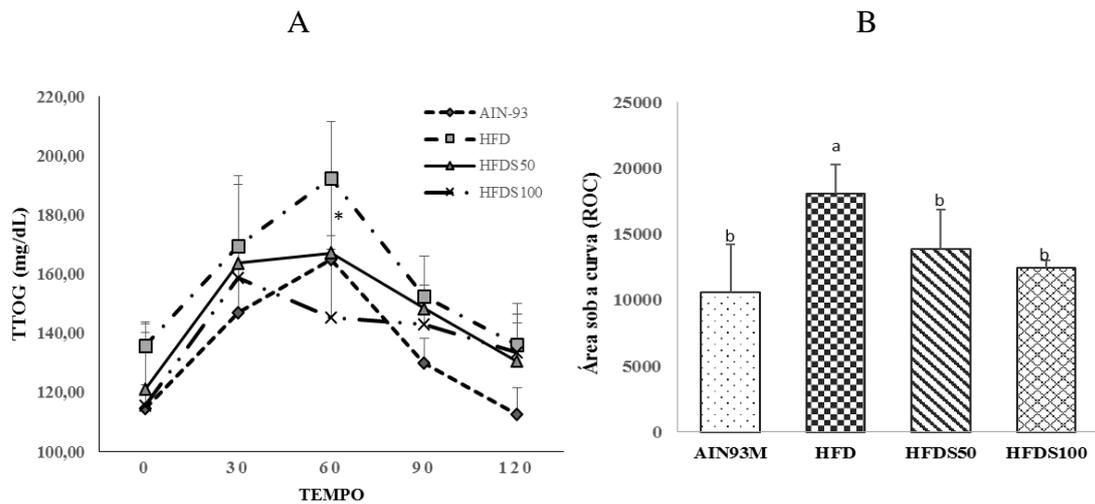


Figura 2: Valores de glicemia nos diferentes tempos do teste de tolerância oral a glicose (TTOG) (A) e área sob a curva (B) de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica e farinha extrusada de sorgo, por oito semanas. Dados expressos em média±DP. *: diferença significativa entre os grupos HFDS50 e HFDS100 em relação ao grupo AIN-93M (A). Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Dunnett a 5% de probabilidade (B). AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%.

5.4 Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre a capacidade antioxidante total do plasma (CAT) de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica

A presença da farinha extrusada de sorgo em substituição de 50 e 100% da fonte de fibra e do amido de milho na HFD reestabeleceu a CAT do plasma tornando-a semelhante ao controle negativo (Figura 3).

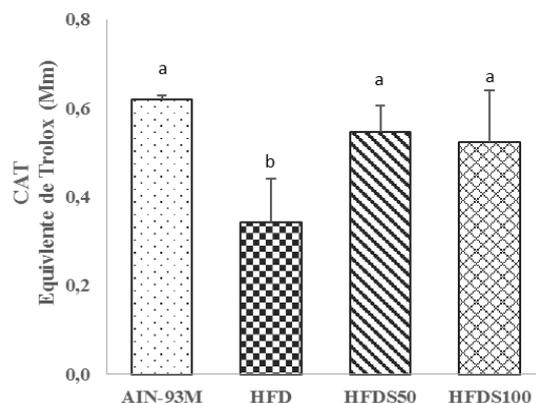


Figura 3: Efeito da farinha extrusada de sorgo na capacidade antioxidante total do plasma de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica, por oito semanas. Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%.

5.5 Efeito da farinha extrusada de sorgo sobre citocinas pró e anti-inflamatórias de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica

O grupo HFD aumentou a concentração da citocina pro-inflamatória (TNF- α) e a presença da farinha extrusada de sorgo substituindo 50 e 100% da fonte de fibra alimentar e do amido de milho na HFD reduziu ($p < 0,05$) sua concentração equiparando-a ao controle negativo. A concentração da citocina anti-inflamatória (IL-10) reduziu no grupo HFD ($p < 0,05$), equiparando-a ao controle negativo (Figura 4).

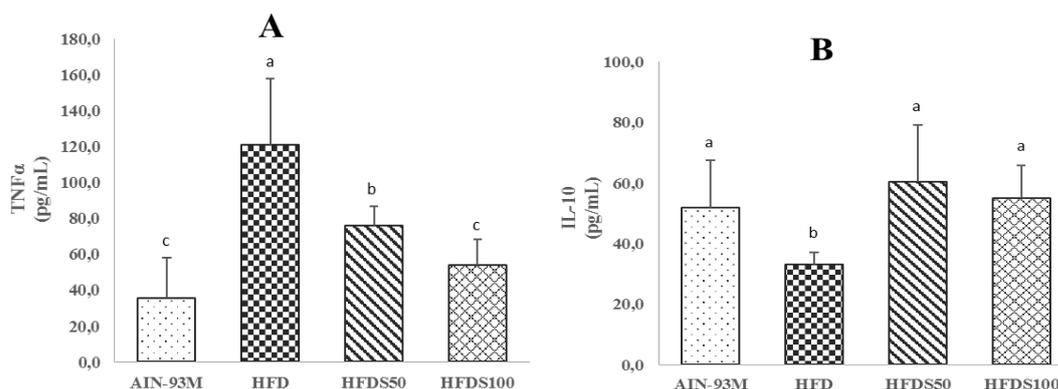


Figura 4: Efeito da farinha extrusada de sorgo na expressão do TNF- α (A) e IL-10 (B) no plasma dos animais experimentais após os tratamentos com HFD e farinha extrusada de sorgo, por oito semanas. Dados expressos em média \pm DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%.

5.6 Efeito da farinha extrusada de sorgo no metabolismo de lipídios de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica

O PPAR- γ , é um dos reguladores centrais da adipogênese e coordena a expressão de genes adipogênicos específicos para a síntese de enzimas como o ácido graxo sintase (FAS) e a lipase lipotéica (LPL) (KENNEDY et al., 2009). A expressão de PPAR- γ foi menor ($p < 0,05$) no grupo HFD (0,2 vezes) e nos grupos tratados com sorgo (HFDS50 e HFDS100), 0,16 vezes e 0,26 vezes respectivamente, em relação ao grupo AIN-93M ($p < 0,05$; Figura 5A). O FAS é responsável pela síntese de triacilglicerídeos e o acúmulo durante a diferenciação dos adipócitos (BROWN et al., 2003). Sua expressão gênica aumentou ($p < 0,05$) 2,24 vezes no grupo HFD e nos grupos HFDS50 e HFDS100 reduziu ($p < 0,05$) 0,36 e 0,19 vezes, respectivamente, em relação ao grupo controle negativo, AIN-93M ($p < 0,05$; Figura 5B). A LPL é o regulador mais importante para a deposição dos triacilglicerídeos, que os hidrolisa às lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) e quilomícrons, liberando os ácidos graxos que são captados pelo adipócito (BROWN et al., 2003). O grupo HFD reduziu ($p < 0,05$) a expressão 0,49 vezes em relação ao grupo AIN-93M. A expressão gênica no grupo HFDS100 aumentou 1,3 vezes e no grupo HFDS50 a expressão foi semelhante ao controle negativo ($p > 0,05$; Figura 5C).

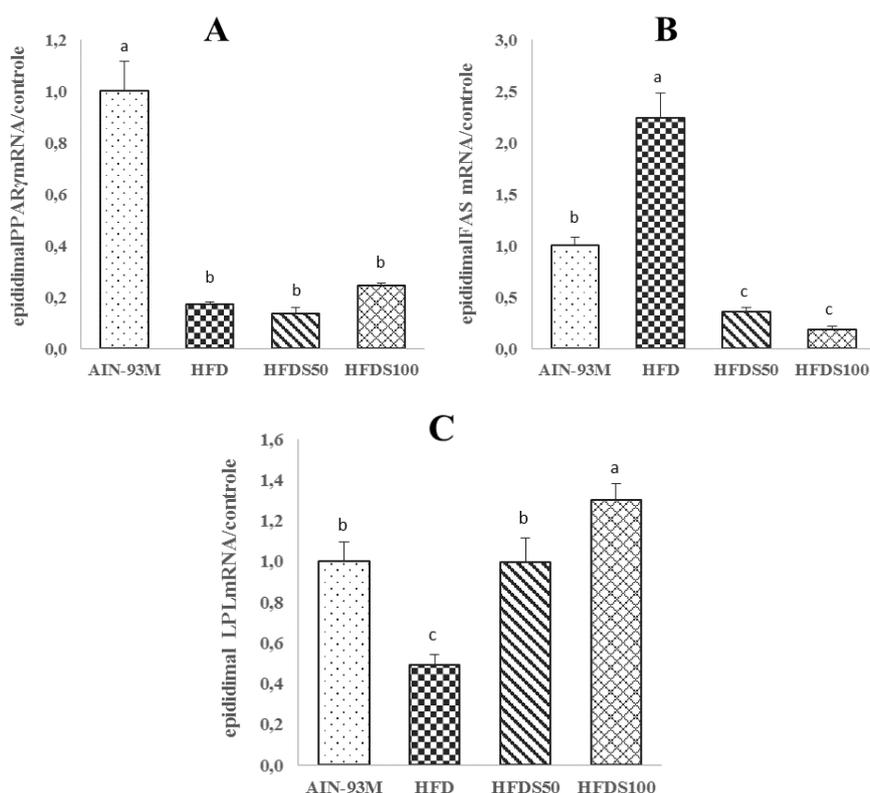


Figura 5: Efeito da farinha extrusada de sorgo na expressão de genes: ativador da proliferação peroxissoma gama (PPAR- γ) (A), ácido graxo sintase (FAS) (B) e lipase lipotéica (LPL) (C) no tecido adiposo epididimal de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica, por oito semanas. Dados expressos em média \pm DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%.

5.7 Efeito da farinha extrusada de sorgo na histomorfometria do tecido hepático e adiposo epididimal de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica

A figura 6A apresenta imagens do tecido adiposo epididimal nos 4 grupos experimentais (controle negativo, controle positivo, HFDS50 e HFDS100). A área (Figura 6B) e o diâmetro (Figura 6C) dos adipócitos foram maiores ($p < 0,05$) no grupo HFD. A área do adipócito dos animais que receberam sorgo equiparou-se ao controle negativo. A ingestão de farinha extrusada de sorgo, substituindo 100% da fibra e do

amido de milho, nos ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica promoveu redução ($p < 0,05$) do diâmetro do adipócito, equiparando-as ao grupo controle recebendo dieta AIN-93M. No entanto, a ingestão de farinha extrusada de sorgo não afetou o perímetro do adipócito ($p > 0,05$) (Figura 6D).

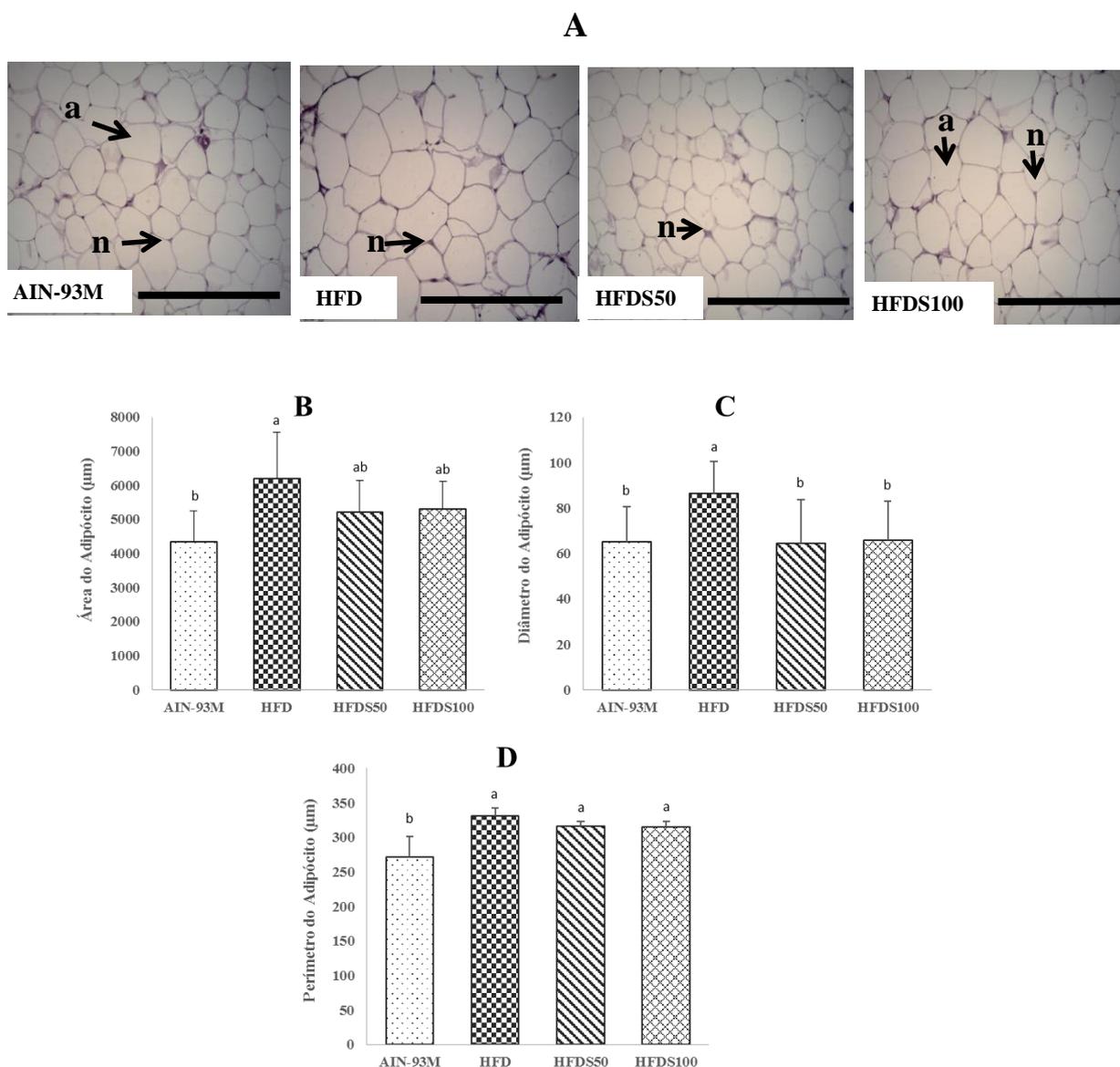


Figura 6: Fotomicrografia do tecido adiposo epididimal (A) (n: núcleo; a: área), área do adipócito (B), diâmetro do adipócito (C) e perímetro do adipócito (D). Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%. Hematoxilina e eosina. Barra:50µm

Os componentes estruturais do fígado dos animais que receberam tratamento com dieta hiperlipídica adicionada ou não de farinha extrusada de sorgo estão apresentados na Tabela 6 e Figura 7. A dieta HFD reduziu o percentual de citoplasma e o tratamento com farinha extrusada de sorgo (HFDS100) aumentou o percentual de citoplasma ($p<0,05$) em relação a HFD. O grupo HFD reduziu o percentual de tecido conjuntivo, no entanto os grupos tratados com farinha extrusada de sorgo HFDS50 e HFDS100 aumentaram esse percentual equiparando-o ao AIN-93M (Tabela 7). O grupo HFD apresentou o maior percentual de gordura no fígado ($p<0,05$; Fig. 7B), no entanto a ingestão de farinha extrusada de sorgo nos grupos HDSS50 e HFDS100 reduziu esse percentual de gordura. O grupo HFD apresentou menor percentual de vasos sanguíneos ($p<0,05$), enquanto os grupos HFDS50 e HFDS100, aumentaram esse percentual ($p<0,05$; Fig. 7D).

Tabela 7 Efeito da dieta hiperlipídica e da farinha extrusada de sorgo nos componentes estruturais do fígado (%) de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica por oito semanas.

	AIN-93M	HFD	HFDS50	HFDS100
Citoplasma	12,00±2,33 ^c	7,9±1,90,38 ^a	11,7±1,70 ^a	9,1±1,90 ^b
Núcleo	1,4 ± 0,37 ^a	0,88 ± 0,31 ^a	1,6± 0,22 ^a	1,1± 0,21 ^a
Gordura	1,68 ± 0,49 ^c	35,1± 8,90 ^a	13,4 ± 6,90 ^b	12,7± 7,90 ^b
Vasos sanguíneos	15,7± 2,80 ^b	11,8± 3,90 ^c	15± 1,80 ^b	17,9± 3,80 ^a
Infiltrado inflamatório	2,7± 0,57 ^a	2,9± 0,57 ^{ab}	2,7 ± 0,69 ^{ab}	1,9± 0,68 ^b
Tecido Conjuntivo	67± 3,10 ^a	41,4± 5,80 ^b	56± 4,20 ^a	58± 3,90 ^a

Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%.

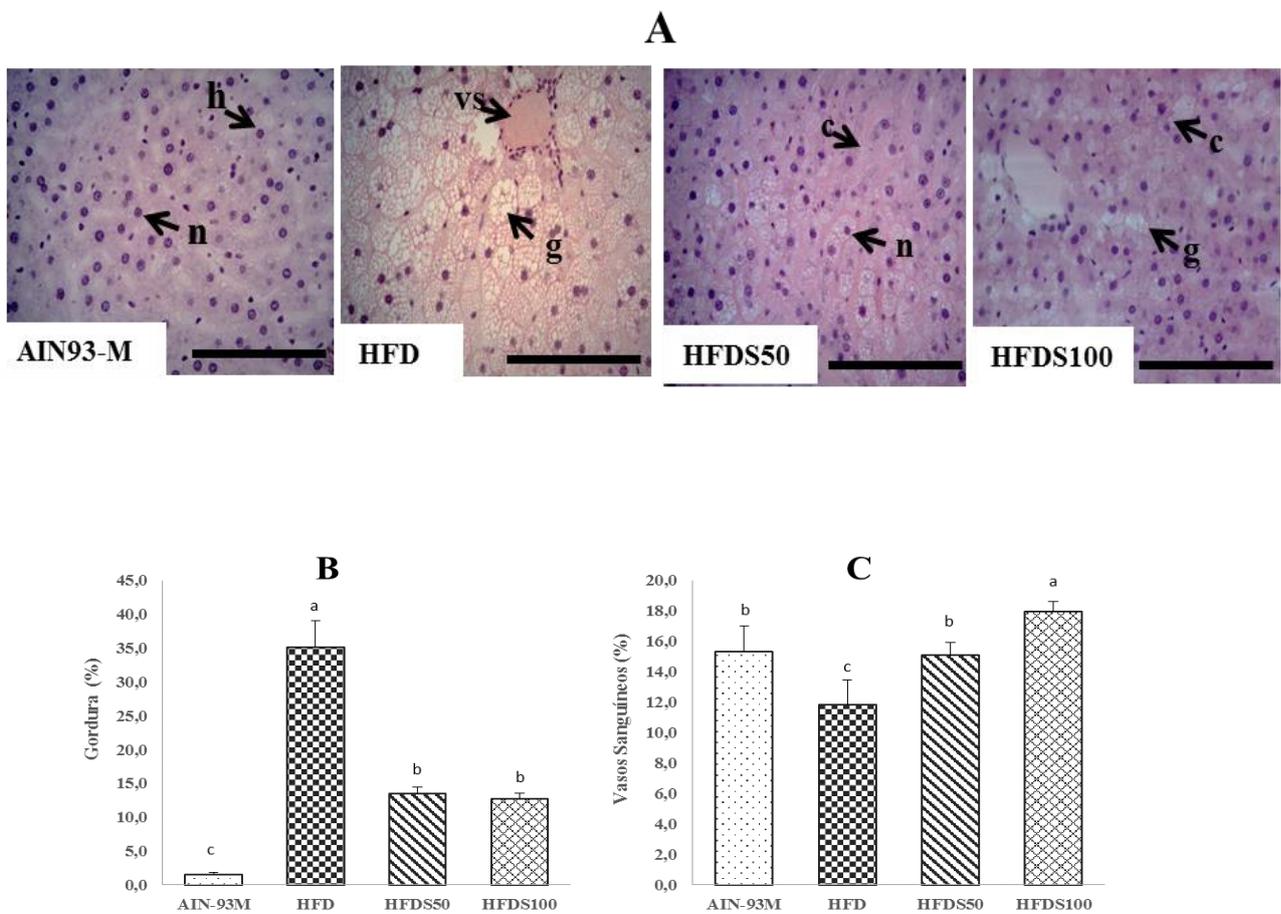


Figura 7: Fotomicrografia do fígado (A) (n: núcleo/h: hepatócito/g: vesícula de gordura/c: citoplasma), percentual de gordura (B) e percentual de vasos sanguíneos (C). Dados expressos em média±DP. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de Duncan a 5% de probabilidade. AIN-93M: Grupo controle negativo; HFD: Grupo controle positivo; HFDS50: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 50%; HFDS100: dieta hiperlipídica com substituição da celulose e do amido de milho por farinha extrusada de sorgo em 100%. Hematoxilina e eosina. Barra:50µm

6. DISCUSSÃO

O presente estudo investigou o potencial da ingestão da farinha extrusada de sorgo no controle do estresse oxidativo, da adiposidade e da inflamação em ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica. O menor consumo alimentar foi no grupo HFD, que provavelmente ocorreu em função da regulação da ingestão alimentar devido a sua elevada densidade energética (BURDETTE et al., 2010). Os grupos HFD com e sem farinha extrusada de sorgo apresentaram maior CEA, demonstrando a maior eficiência da dieta em promover o ganho de peso em relação ao grupo AIN-93M. A ingestão de farinha extrusada de sorgo em substituição a 100% da recomendação de fibra e de amido de milho na dieta hiperlipídica dos ratos obesos foi eficiente em assemelhar o índice de Lee, o percentual de adiposidade, o tecido adiposo total e o epididimal ao grupo sem dieta hiperlipídica.

A maior ingestão de tanino nos grupos alimentados com farinha extrusada de sorgo pode ter favorecido maior interação do tanino com a proteína e o amido da dieta (HAGERMAN et al., 1992; DAVIS e HOSENEY, 1979; BARROS et al., 2012; BARROS et al., 2014) reduzindo a digestibilidade destes nutrientes energéticos, proporcionando assim, redução das medidas biométricas e do ganho de peso corpóreo.

Os grupos alimentados com farinha extrusada de sorgo (HFDS50 e HFDS100) promoveram redução da glicemia, assemelhando-se ao grupo AIN-93M. Provavelmente, em virtude do menor ganho de peso. Além disso, a presença de compostos fenólicos, deoxiantocianidinas e proantociandinas na farinha extrusada de sorgo pode ter atenuado seu efeito hipoglicemiante. Segundo CHUNG et al. (2011), extratos fenólicos do sorgo apresentaram efeito hipoglicemiante em camundongos.

Em relação ao TTOG, os animais que ingeriram a dieta hiperlipídica contendo farinha extrusada de sorgo, apresentaram menores valores em relação ao grupo HFD sobretudo aos 60 minutos após a sobrecarga de glicose ($p < 0,05$), onde estes grupos (HFDS50 e HFDS100) tiveram valores menores ($p < 0,05$), que o grupo controle negativo (AIN-93M). Alguns estudos evidenciaram que animais alimentados com dietas ricas em gordura apresentaram distúrbios no metabolismo da glicose e diminuição da tolerância à glicose (WHITE et al., 2013; BAIS, SINGH, & SHARMA, 2014). O presente estudo demonstrou aumento no nível de glicose sanguínea aos 30, 60 e 90 minutos no grupo HFD, e que a farinha extrusada de sorgo atenuou esse efeito.

As transaminases, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), são importantes marcadores da função hepática, sendo a AST um marcador de lesão hepática menos sensível que a ALT, pelo fato de possuir meia vida curta e menor concentração citosólica (RAMAIAH, 2007). O aumento da ALT no grupo alimentado com dieta hiperlipídica foi evidenciado no presente estudo, indicando lesão hepática moderada. No entanto, a AST não foi afetada. A inibição da ALT ocorreu nos grupos alimentados com farinha extrusada de sorgo. O reestabelecimento dos níveis fisiológicos de ALT e de ácido úrico pode ser em função dos compostos fenólicos do sorgo, por promoverem maior atividade antioxidante e supressão da inflamação, como evidenciado pela redução de TNF- α e aumento de IL-10. Em um estudo ratos que receberam HFD para indução da obesidade, o extrato aquoso de açaí foi capaz de reduzir o peso do fígado e o nível plasmático de ALT nos animais (GUERRA et al., 2015).

O sinergismo de compostos fenólicos, proantocianidinas, taninos e as fibras alimentares presentes na farinha extrusada de sorgo pode ter favorecido a redução da inflamação, pois em células mononucleares de humanos, o sorgo rico em 3-deoxiantocianidinas inibiu a secreção de IL-1 β , TNF- α , óxido nítrico, e o extrato de sorgo com tanino foi mais efetivo que a 3-deoxiantocianidinas em reduzir a inflamação (BURDETTE et al., 2010; BRALLEY et al., 2008). Em animais normotróficos Moraes et al. (2012) também observaram redução de TNF- α pela ingestão de farinha de sorgo integral.

No presente estudo a farinha extrusada de sorgo favoreceu o aumento no consumo de taninos, deoxiantocianidinas e proantocianidinas, embora inferiores aos teores observados de sorgo de pericarpo preto (PAIVA et al., 2014), proporcionando aumento da capacidade antioxidante. O estudo de Khan et al. (2015), apontou que em humanos após o consumo de um alimento contendo 30% de sorgo de pericarpo vermelho, houve aumento significativo na CAT em relação a aqueles que não consumiram o sorgo. No entanto, estudo *in vitro* com apigenidina e luteolinidina não evidenciaram efeito na atividade da quinona oxiredutase (AWIKA, 2005). Moraes et al. (2012) também não observaram alteração na atividade da SOD (superóxido dismutase) em ratos Wistar adultos normotróficos alimentados com dieta hiperlipídica. Porém, o presente estudo avaliou o efeito da farinha extrusada de sorgo fonte de tanino e antocianidinas (CARDOSO et al., 2014) que, juntamente com a fibra alimentar,

promoveu efeito protetor ao estresse oxidativo em ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica.

A inclusão de farinha extrusada de sorgo substituindo 100% de fibra da dieta e amido de milho, aumentou a concentração de HDL-c, reduziu o percentual de gordura dos hepatócitos e aumentou os vasos sanguíneos circulantes. Esses efeitos podem ter acontecido em função da redução da inflamação, do estresse oxidativo e do aumento da CAT dos animais alimentados com farinha extrusada de sorgo.

No presente estudo, verificou-se que a ingestão de farinha extrusada de sorgo foi associada a um decréscimo da proteína TNF- α e aumento da proteína IL-10, enquanto o grupo HFD mostrou efeito inverso. Sabe-se que a hipertrofia dos adipócitos, principalmente no tecido adiposo visceral, provoca um desequilíbrio na homeostase metabólica do tecido adiposo, com aumento na produção de adipocinas pró-inflamatórias, como o TNF α , e redução da produção de adipocinas anti-inflamatórias, como a IL-10, culminando no processo inflamatório crônico de baixa intensidade (SPERETTA, LEITE e DUARTE, 2014). Assim a farinha extrusada de sorgo fonte de fibra alimentar e de compostos fenólicos, taninos e antocianidinas (CARDOSO et al., 2014) foi capaz de reduzir a inflamação crônica e a hipertrofia do tecido adiposo.

A expressão gênica de PPAR- γ não alterou nos grupos HFD com e sem farinha extrusada de sorgo. Experimentos têm mostrado que o PPAR- γ é um importante regulador adipogênico (KENNEDY et al., 2010) e, interconectado ao seu papel na diferenciação de adipócitos, o PPAR- γ regula a sensibilidade à insulina, ativando a transcrição de genes envolvidos na sinalização da insulina, absorção de glicose, e absorção e estoque de ácidos graxos (BROWN et al., 2003). O gene adipogênico FAS aumentou no grupo HFD e a farinha extrusada de sorgo reverteu este efeito, tornando similar ao AIN-93M, indicando redução da lipogênese, o que culminou em menor diâmetro do adipócito e conseqüentemente redução do peso corpóreo. A expressão de LPL reduziu no grupo HFD e a farinha extrusada de sorgo aumentou sua expressão, indicando aumento da lipólise, sendo confirmada pela redução do tecido adiposo epididimal.

7. CONCLUSÃO

A ingestão de farinha extrusada de sorgo em substituição total e parcial da fonte de fibra e de carboidratos de ratos obesos alimentados com dieta hiperlipídica reduziu a resposta inflamatória, reestabeleceu a capacidade antioxidante total do plasma, reduziu a glicemia de jejum e a adiposidade dos tecidos hepático e adiposo epididimal.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AFIFY, A.M.R.; MAHROUS, S.H.; EL-GENDI, A.H.; EL-HEMASY, T.S. Chemical evaluation of lipid and protein of four pollen pellets. **Journal of Agriculture Science**. n.13, p.2030-2040, 1998.

AFIFY, A. E.M. M.; EL-BELTAGI, H. S.; EL-SALAM, S. M. A.; OMRAN, A. A. Biochemical changes in phenols, flavonoids, tannins, vitamin E, β -carotene and antioxidant activity during soaking of three white sorghum varieties. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 2, n.3, p.203–209, 2012.

AHIMA, R.S.; OSEI, S.Y. Leptin signaling. **Physiol Behavior**, v.81, n.1, p.223-241, 2011.

AHN, J; LEE, J; KIM, S; HA, T. Resveratrol inhibits TNF- α -induced changes of adipokines in 3T3-L1 adipocytes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 364, n. 4, pp. 972–977, 2007.

AL-MAMARY, M.; MOLHAM, A.-H.; ABDULWALI, A.-A.; AL-OBEIDI, A. In vivo effects of dietary sorghum tannins on rabbit digestive enzymes and mineral absorption. **Nutrition Research**, v. 21, n. 10, p. 1393-1401, 2001.

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. **Official Methods of Analysis**. 16th ed. Washington (DC): AOAC, 2002.

AHIMA, R.S.; LAZAR, M.A. Adipokines and the peripheral and neural control of energy balance. **Molecular Endocrinology**, v.22, n.5, p.1023-31, 2008.

ARSLAN, N.; ERDUR, B.; AYDIN, A. Hormones and cytokines in childhood obesity. **Indian Pediatrics Journal**, v.4, n.10, p.829-39, 2010.

ATHAR, N.; HARDACRE, A.; TAYLOR, G.; CLARK, S.; HARDING, R.; MCLAUGHLIN, J. Vitamin retention in extruded food products. **Journal of Food Composition and Analysis**, v. 19, p. 379-383, 2006.

AU-YONG, I.T.; THORN, N.; GANATRA, R.; PERKINS, A.C; SYMONDS, M.E. Brown adipose tissue and seasonal variation in humans. **Diabetes**, v.58, n.11, p.2583-2587, 2009.

AWIKA, J. M. Antioxidant properties of sorghum. Texas A&M University: College Station, Texas, 2003.

AWIKA, J. M.; MCDONOUGH, C. M.; ROONEY, L.W. Decorticating sorghum to concentrate healthy phytochemicals. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, n.16, p.6230-623, 2005.

AWIKA, J. M.; L. W. ROONEY; R. D. WANISKA. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v.90, n.1-2, p.293-301, 2004b.

AWIKA, J. M.; ROONEY, L.W.; WANISKA, R.D.. Anthocyanins from black sorghum and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, v.90, n.1-2, p.293-301, 2004a.

AWIKA, J. M.; YANG, L.; BROWING, J. D.; FARAJ, A. Comparative antioxidant, antiproliferative and phase II enzyme inducing potential of sorghum (*Sorghum bicolor*) varieties. **Food Science and Technology**, v.42, n.6, p.1041-1046, 2009.

BAIS, S.; SINGH, G.S.; SHARMA, R. Antiobesity and Hypolipidemic Activity of *Moringa oleifera* Leaves against High Fat Diet-Induced Obesity in Rats. **Advances in Biology**, p.1-9, 2014.

BARBALHO, S.M.; DAMASCENO, D.C.; SPADA, A.P.M.; LIMA, I.E.R.N.; ARAÚJO, A.C.; GUIGUER, E.L.; MARTUCHI, K.A. OSHIWA, M.; MENDES, C.G. Effects of *Passiflora edulis* on the metabolic profile of diabetic wistar rat offspring. **Journal of Medicinal Food**, n.14, v.12, p. 1490-1495, 2011b.

BARBALHO, S.M.; DAMASCENO, D.C.; SPADA, A.P.M.; PALHARES, M.; MARTUCHI, K.A.; OSHIWA, M.; SAZAKI, V.; SILVA, V.S. Evaluation of glycemic and lipid profile of offspring of diabetic wistar rats treated with *Malpighia emarginata* Juice. **Experimental Diabetes Research**, 1-6, 2011a.

BARBALHO, S.M.; SOUZA, M.S.S.; BUENO, P.C.S.; GUIGUER, É.L.; FARINAZZI-MACHADO, F.M.V.; ARAÚJO, A.C.; MENEGUIM, C.O.; SILVEIRA, E.P.; OLIVEIRA, N.S.; SILVA, B.C.; BARBOSA, S.S.; MENDES, C.G.; GONÇALVES, P.R. *Annona montana* Fruit and Leaves Improve the Glycemic and Lipid Profiles of Wistar Rats. **Journal of Medicinal Food**, n.15, v.10, p. 917-922, 2012.

BARBOSA, K.B.F.; COSTA, N.M.B.; ALFENAS, R.D.C.G. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, v.23, n.4, p.629-643, 2010.

BARROS, F.; CARDOSO, L.M.; MARTINO, H.S.D.; SANT'ANA, H.M.P.; QUEIROZ, V.A.V. Parte II do livro: **Alimentos com propriedades funcionais: sorgo como alimento funcional**, 2015. *In press*.

BRADLEY, R.L.; JEON, J.Y.; LIU, F.F.; MARATOS-FLIER, E. Voluntary exercise improves insulin sensitivity and adipose tissue inflammation in diet-induced obese mice. **American Journal Physiology Endocrinology Metabolism**, v.295, n.3, p.586-584, 2008.

BRALLEY, E.; GREENSPAN, P.; HARGROVE, J. L.; HARTLE, D. K. Inhibition of hyaluronidase activity by select sorghum brans. **Journal of Medicinal Food**, v.11, p.307-312, 2008.

BRASIL, M., Companhia Nacional de Abastecimento, (2012). Acompanhamento de safra brasileira: grãos, décimo segundo levantamento setembro 2011. Brasília, CONAB.

BROWN, J.M.; BOYSEN, M.S.; JENSEN, S.S.; MORRISON, R.F.; STORKSON, J.; LEA-CURRIE, R.; PARIZA, M.; MANDRUP, S.; MCINTOSH, M.K. Isomerspecific regulation of metabolism and PPAR γ signaling by CLA in human preadipocytes. **The Journal of Lipid Research**, v. 44, n.7, p.1287-1300, 2003.

BURDETTE, A.; GARNER, P. L.; MAYER, E. P.; HARGROVE, J. L.; HARTLE, D. K.; GREENSPAN, P. Anti-inflammatory activity of select sorghum (*Sorghum bicolor*) brans. **Journal of Medicinal Food**, v.13, p.1-9, 2010.

CAMPOS, F.M. Estabilidade de compostos antioxidantes em hortaliças processadas: uma revisão. **Alimentos e Nutrição**, v.19, n.4, p. 481-490, 2008.

CARDOSO, L. D. M.; PINHEIRO, S. S.; MENEZES, C.B.; CRAVALHO, C.W.P.; TARDIN, F.D.; QUEIROZ, V. A. V.; MARTINO, H. S. D.; PINHEIRO SANT'ANA, H. M. Tocochromanols and carotenoids in sorghum (*Sorghum bicolor* L.): diversity and stability to the heat treatment . **Food Chemistry**, 172, p.900-908, 2015a.

CARDOSO, L.D.M.; MONTINI, T.A; PINHEIRO, S.S.; QUEIROZ, V. A. V.; PINHEIRO SANT'ANA, H. M.; MARTINO, H. S. D.; MOREIRA, A.V.B. Effects of processing with dry heat and wet heat on the antioxidant profile of sorghum. **Food Chemistry**, v. 152, p.210, 2014.

CARDOSO, L.D.M.; PINHEIRO, S.S.; MARTINO, H. S. D.; PINHEIRO SANT'ANA, H. M. Sorghum (*Sorghum bicolor* L.): Nutrients, bioactive compounds,

and potential impact on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 2015b.

CERQUEIRA, F.M.; MEDEIROS, M.H.G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**, v.30, n.2, p.441-449, 2007.

CHUNG, I.M.; KIM, E.H.; YEO, M.A.; KIM, S.J. Antidiabetic effects of three Korean sorghum phenolic extracts in normal and streptozotocin-induced diabetic rats. **Food Research International**, v. 44, n.1, p.127-132, 2011.

CHUNG, K.T.; WONG, T.Y.; WEI, C.I.; HUANG, Y.W.; LIN, Y. Tannins and human health: a review. **Critical reviews in food science and nutrition**, v.36, n.6, p.421-64, 1998.

CHUNG, I.M.; YEO, M.A.; KIM, S.J.; KIM, M.J.; PARK, D.S.; MOON, H.I. Antilipidemic activity of organic solvent extract from Sorghum bicolor on rats with dietinduced obesity. **Human & Experimental Toxicology**, v. 3, p.1865-1868, 2011.

DAVIS, A.B.; HOSENEY, R. C Grain Sorghum Condensed Tannins. I. Isolation, Estimation, and Selective Adsorption by Starch. **Cereal chemistry**, v. 56, p. 310-313, 1979.

DEFRONZO, R.A. Dysfunctional fat cells, lipotoxicity and type 2 diabetes. **International Journal of Clinical Practice**, v., n.143, p.9-21, 2004.

DEVALARAJA, S.; JAIN, S.; YADAV, H. Exotic fruits as therapeutic complements for diabetes, obesity and metabolic syndrome. **Food Research International**, n.44, p.1856-1865, 2011.

DEVI, S; SARAVANAKUMAR, S.; MOHANDAS, S. Identification of 3-deoxyanthocyanins from red sorghum (*Sorghum bicolor*) bran and its biological properties. **African Journal of Pure and Applied Chemistry**, vol.5, p.181-193, 2011.

DEWANTO, V.; WU, X.; LIU, R. H. Processed Sweet Corn Has Higher Antioxidant Activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.50, n. 17, p. 4959-4964, 2002.

DICKO, M. H., H.; GRUPPEN, A. S.; TRAORE, W. J. H.; VAN BERKEL, E A.; VORAGEN, G. J. Evaluation of the effect of germination on phenolic compounds and antioxidant activities in sorghum varieties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 53, n.7, p.2581-2588, 2006.

DLAMINI, N.R.; TAYLOR, J.R.N.; ROONEY, L.W. The effect of sorghum type and processing on the antioxidant properties of African sorghum-based foods. **Food Chemistry**, v.105, n.4, p.1412-1419, 2007.

DUARTE, S.; GREGOIRE, S.; SINGH, A. P.; VORSA, N.; SCHAICH, K.; BOWEN, W. H.; KOO, H. Inhibitory effects of cranberry polyphenols on formation and acidogenicity of *Streptococcus mutans* biofilms. **FEMS microbiology letters** 257:50-56, 2006.

DYKES, L.; ROONEY, L. W. Sorghum and millet phenols and antioxidants. **Journal of Cereal Science**, v. 44, n. 3, p. 236-251, 2006.

DYKES, L.; SEITZ, L.M.; ROONEY, W.L.; ROONEY, L.W. Flavonoid composition of red sorghum genotypes. **Food Chemistry**, v.116, n.1, p.313-317, 2009.

FAOSTAT. Food and Agriculture Organization of the United Nations - FAO. 2011. Disponivel em: <<http://faostat.fao.org/site/339/default.aspx> p. 2009>. Acesso em: 16/05/2015.

FARRAR, J. L.; HARTLE, D. K.; HARGROVE, J. L.; GREENSPAN, P. A novel nutraceutical property of select sorghum (*Sorghum bicolor*) brans: inhibition of protein glycation. **Phytotherapy Research**, v. 22, n. 8, p. 1052-1056, 2008.

FURUKAWA S.; FUJITA, T.; SHIMABUKURO, M.; IWAKI, M.; YAMADA, Y.; NAKAJIMA, Y.; NAKAYAMA, O.; MAKISHIMA, M.; MATSUDA, M.; SHIMOMURA, I. Iichiro Shimomura Increased oxidative stress in obesity and its impact on metabolic syndrome. **The Journal of Clinical Investigation**, v.114, p.1752- 1761, 2004.

GUERRA, J. F. C.; MACIEL, P.S.; DE ABREU, I. C. M. E.; PEREIRA, R. R.; SILVA, CARDOSO, L.M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H.M.; DE LIMA, W.G.; SILVA, M.E.; PEDROSA, M.L. Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice. **Journal of functional foods**, v. 14, p. 192–202, 2015.

HAGERMAN, A. E.; RIEDL, K. M.; JONES, G. A.; SOVIK, K. N.; RITCHARD, N. T.; HARTZFELD, P. W.; RIECHEL, T. L. High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, n. 5, p. 1887-1892, 1998.

HAGERMAN, A.E.; ROBBINS, C.T.; WEERASURIYA Y.; WILSON, T.C.; McARTHUR, C. Tannin chemistry in relation to digestion **Journal of Range Management**, n. 45, p. 57-62, 1992.

HIDALGO, M.; ORUNA-CONCHA, M. J.; KOLIDA, S.; WALTON, G. E.; KALLITHRAKA, S.; SPENCER, J. P. E.; GIBSON, G. R.; DE PASCUAL TERESA, S. Metabolism of Anthocyanins by Human Gut Microflora and Their Influence on Gut Bacterial Growth. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p.3882-3890, 2012.

HOI, J. T.; WELLER, C. L.; SCHLEGEL, V. L.; CUPPETT, S. L.; LEE, J.-Y.; CARR, T. P. Sorghum distillers dried grain lipid extract increases cholesterol excretion and decreases plasma and liver cholesterol concentration in hamsters. **Journal of Functional Foods**, n.1, p. 381-386, 2009.

HUANG, J.; ROBERTS, A. J.; LESCHZINER, A. E.; RECK-PETERSON, S. L. Lis1 Acts as a “Clutch” between the ATPase and Microtubule-Binding Domains of the Dynein Motor. **Cell**, v. 150, n.5, p. 975-986, 2010.

JAMBUNATHAN, R.; MERTZ, E. T. Relation between tannin levels, rat growth, and distribution of proteins in sorghum. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 21, n. 4, p. 692-696, 1973.

JOOD, S.; KHETARPAUL, E.R.; GOYAL, N. Effect of germination and probiotic fermentation on ph, titratable acidity, dietary fibre, β -glucan and vitamin content of sorghum based food mixtures. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 2, n.9, p.1-4, 2012.

KAMATH, V. G.; CHANDRASHEKAR, A.; RAJINI, P. S. Antiradical properties of sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) flour extracts. *Journal of cereal science*, v. 40, n. 3, p. 283-288, 2004.

KENNEDY, A; MARTINEZ, K; CHUANG, C.C; LAPOINT, K; MCINTOSH, M. Saturated fatty acid-mediated inflammation and insulin resistance in adipose tissue: mechanisms of action and implications. **Journal of Nutrition**, v. 139, n.1, p.1-4, 2010.

KERSTEN S. Mechanisms of nutritional and hormonal regulation of lipogenesis. **EMBO Reports**, v.2, p. 282-286, 2001

KHAN, I.; YOUSIF, A.M.; JOHNSON, S.K.; GAMLATH, S. Acute effect of sorghum flour-containing pasta on plasma total polyphenols, antioxidant capacity and oxidative stress markers in healthy subjects: a randomised controlled trial. *Clinical Nutrition*, n.34, p. 415-421, 2015.

KHOVIDHUNKIT, W.; KIM, M.S.; MEMON, R.A.; SHIGENAGA, J.K.; MOSER, A.H.; FEINGOLD, K.R. Effects of infection and inflammation on lipid and lipoprotein

metabolism: mechanisms and consequences to the host. **The Journal of Lipid Research**, v. 45, p.1169-96, 2004.

KUMAR, R.; CLERMONT, G.; VODOVOTZ, Y.; CHOW, C.C. The dynamics of acute inflammation. **Journal of Theoretical Biology**, n. 230, p.145-55, 2004.

LAHOZA, C.; MOSTAZAA, J.M. Atherosclerosis as a systemic disease. **Revista Española de Cardiología**, v. 60, p.184-95, 2007

MELO, M. G. D.; DÓRIA, G. A. A.; SERAFINI, M. R.; ARAÚJO, A. A. S. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Scientia Plena**, v.8, p.49, 2012.

MORAES, É. A.; NATAL, D. I. G.; QUEIROZ, V. A. V.; SCHAFFERT, R. E.; CECON, P. R.; PAULA, S. O.; BENJAMIN, L. D. A.; RIBEIRO, S. M. R.; MARTINO, H. S. D. Sorghum genotype may reduce low-grade inflammatory response and oxidative stress and maintains jejunum morphology of rats fed a hyperlipidic diet. **Food Research International**, v. 49, n.1, p.553-559, 2012.

MURIU, J. I.; NJOKA-NJIRU, E. N.; TUITOEK, J. K.; NANUA, e J. N. Evaluation of sorghum (*Sorghum bicolor*) as replacement for maize in the diet of growing rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). **Asian-Australasian journal of animal sciences**, v. 15, n.4, p. 565-569, 2002.

PAIVA, C.L.; EVANGELISTA, W.P.; QUEIROZ, V.A.V.; GLORIA, M.B.A. Bioactive amines in sorghum: method optimization and influence of line, tannin and hydric stress. **Food chemistry**, v.173, p.224-230, 2014.

PAREKH, S.; ANANIA, F.A. Abnormal lipid and glucose metabolism in obesity: implications for nonalcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, v.132, n.6, p.2191-2207, 2007.

PENICAÚD, L.; COUSIN, B.; LELOUP, C.; ATEF, N.; CASTEILLA, L.; KROZA, A. The autonomic nervous system, adipose tissue plasticity, and energy balance. **Nutrition**, v.16, p.903-908, 2000.

PRICE, M. L.; VAN SCOYOC, S.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.26, n.5, p.1214-1218, 1979.

QUEIROZ, V. A. V.; CARNEIRO, H. L.; DELIZA, R.; RODRIGUES, J. A. S.; VASCONCELLOS, J. H. D.; TARDIN, F. D.; QUEIROZ, E L. R. Genótipos de sorgo para produção de barra de cereais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, p.287-293, 2012.

RAMAIAH, S. K. A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. **Food and Chemical Toxicology**, v.45, n.9 , p. 1551-1557, 2007.

REEVES, P.G.; NIELSEN, F.H.; FAHEY, G.C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents: Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **Journal of Nutrition**, v.123, n.11, p.1939-1951,1993.

RESTLE, J.; FATURI, C.; ALVES FILHO, D. C.; BRONDANI, I. L.; SILVA, J. H. S. D.; KUSS, F.; SANTOS, C. V. M. D.; FERREIRA, J. J. Substituição do grão de sorgo por casca de soja na dieta de novilhos terminados em confinamento. **Revista Brasileira de Zootecnia**, v.33, p. 1009-1015, 2004.

ROMIJN J.A.; FLIERS, E. Sympathetic and parasympathetic innervation of adipose tissue: metabolic implications. **Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care**, v. 8: p.440-444, 2005.

ROSS, M. G.; DESAI, M. Developmental Programming of Offspring Obesity, Adipogenesis, and Appetite. **Clinical Obstetrics and Gynecology**, v.56, n.3, p.529–536, 2014.

SABARENSE, C.M.; ROCHA, K.S.O.; ROSA, D.D.; MARTINS, J.H.; PEREIRA, M.M.L.S.; SILVA, F.F.; STEWARD, B.L. Design and validation of a new computational method for counting hepatic fat micro-vesicles in histological study in rats. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 418, n.2, p.284–289, 2012.

SAMPEY, B. P., FREEMERMAN, A. J., ZHANG, J., KUAN, P. F., GALANKO, J. A., O'CONNELL, T. M.; MAKOWSKI, L. Metabolomic profiling reveals mitochondrial-derived lipid biomarkers that drive obesity-associated inflammation. **PLoS ONE**, v. 7, n.6, p.49-54, 2012.

SHIH, C.H.; SIU, S.O.; NG, R.; WONG, E.; CHIU, L.C.M.; CHU, I.K.; LO, C. Quantitative analysis of anticancer 3-deoxyanthocyanidins in infected sorghum seedlings. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, n. 2, p. 254-259, 2006.

SERNA-SALDIVAR, S.O.; ROONEY, W.; Structure and chemistry of sorghum and millets. **American associations of cereal chemists**, 1^aed, p. 69-124, 1995.

SEYMOUR, E.M.; LEWIS, S.K.; URCUYO-LLANES, D.E.; TANONE, I.I.; KIRAKOSYAN, A.; KAUFMAN, P.B.; BOLLING, S.F. Regular tart cherry intake alters abdominal adiposity, adipose gene transcription, and inflammation in obesity-prone rats fed a high fat diet. **Journal of Medicinal Food**, v.12, n.5, p.935- 942, 2009.

SHOELSON, S.E; GOLDFINE, A.B. Getting away from glucose:fanning the flames of obesity-induced inflammation. **Nature Medicine**, v. 15, n. 4, pp. 373–374, 2009.

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

SOUZA, C. C. D.; DANTAS, J. P.; SILVA, S. D. M.; SOUZA, V. C. D.; ALMEIDA, F. A. D.; SILVA, L.E. D. Produtividade do sorgo granífero cv. Sacarino e qualidade de produtos formulados isoladamente ou combinados ao caldo de cana-de-açúcar. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 25, p.512-517, 2005.

STRACZKOWSKI, M; KOWALSKA, MD; NIKOLAJUK, A; KRUKOWSKA, A; GORSKA, M. Plasma interleukin-10 concentration is positively related to insulin sensitivity in young healthy individuals. **Diabetes Care**, v. 28, n.8, 2005.

TALEON, V.; DYKES, L.; ROONEY, W.L.; ROONEY, L.W. Effect of genotype and environment on flavonoid concentration and profile of black sorghum grains. **Journal of Cereal Science**, v. 56, p.470-475, 2012.

TAKAMURA, T.; MISU, H.; OTA, T.; KANEKO, S. Fatty liver as a consequence and cause of insulin resistance: lessons from type 2 diabetes liver. **Endocrine Journal**, v.59, n.9, p.745-763, 2012.

TAYLOR, J. R. N.; SCHOBER, T. J.; BEAN, S. R. Novel food and non-food uses for sorghum and millets. **Journal of Cereal Science**, v. 44, n. 3, p.252-271, 2006.

TIAN, H.; MILLS, K.Y.;YAO,L.; DEMANELIS, K.;ELOUSTAZ,M.;YANCY, W.S.; TANIKA, J.R.; KELLY, N.; JIANG, H.E.;BAZZANO, L.A. Effects of Low-Carbohydrate Diets Versus Low-Fat Diets on Metabolic Risk Factors: A Meta-Analysis of Randomized Controlled Clinical Trials. **American Journal of Epidemiology**, v.176, n.7, p.44-54, 2012.

USDA. National Nutrient Database for Standard Reference. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/cgi-bin/list_nut_edit.pl>. Acesso em: 15/06/2015.

VARGAS-SOLÓRZANO, J.W.; CARVALHO, C.W.P.; TAKEITI, C.Y.; ASCHERI, J.L.R.; QUEIROZ, V.A.V. Physiochemical properties of expanded extrudates from colored sorghum genotypes. **Food research international**, v.55, n.1, p. 37-44, 2014.

WHITE, M.P.; PAUL, S.; ASHBULLBY, K.; HERBERT, S.; DEPLEDGE, M.H. Feelings of Restoration from Recent Nature Visits. *Journal of Environmental Psychology*, v.35, p.40-51, 2013.WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic, report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 2014a.

WHO. Obesity: preventing and managing the global epidemic, report of a WHO consultation. Geneva: World Health Organization; 2014b.

YANG, L.; BROWNING, J. D.; AWIKA, J. M.. Sorghum 3-deoxyanthocyanins possess strong phase ii enzyme inducer activity and cancer cell growth inhibition properties. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.57, n.5, p.1797-1804, 2009.

YANG, Y.; ANDREWS, M.C.; HU, Y.; WANG, D.; QIN, Y.; ZHU, Y.; NI, H.; LING, W. Anthocyanin extract from black rice significantly ameliorates platelet hyperactivity and hypertriglyceridemia in dyslipidemic rats induced by high fat diets. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**, v.59, p.6759–6764, 2011.

ANEXO I

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV certifica que o processo nº 06/2014, intitulado “Potencial do sorgo (*Sorghum bicolor* L.) na modulação do estresse oxidativo e da inflamação em ratos com síndrome metabólica”, coordenado pela professora Hércia Stampini Duarte Martino do Departamento de Nutrição, está de acordo com a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI, portanto sendo aprovado por esta Comissão em 25/02/2015, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 06/2014, named “Potential of sorghum (*Sorghum Biocolor* L.) in the modulation of oxidative stress and inflammation in rats with metabolic syndrome”, is in agreement with the actual Brazilian legislation (Lei Nº 11.794, 2008), Normative Resolutions edited by CONCEA/MCTI, the DBCA (Brazilian Practice Guideline for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes and Teaching) and the Guidelines of Practice the Euthanasia recommended by CONCEA/MCTI therefore being approved by the Committee on February 25, 2014 valid for 12 months.


Prof. Cláudio César Fonseca

Coordenador

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV