

**EFEITOS DO RESVERATROL NA FUNÇÃO HEPÁTICA DE RATAS
WISTAR OBESAS**

NÁDIA DE ARAÚJO MIGUEL

**EFEITOS DO RESVERATROL NA FUNÇÃO HEPÁTICA DE RATAS
WISTAR OBESAS**

NÁDIA DE ARAÚJO MIGUEL

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal. - Área de Concentração: Fisiopatologia Animal

Orientador:
Dr^a. Silvia Maria Caldeira Franco Andrade

636.085 2 Miguel, Nádia de Araujo.
M636e Efeitos do Resveratrol na Função Hepática de Ratas Wistar Obesas / Nádia de Araujo Miguel. – Presidente Prudente, 2014.
64 f.: il.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade do Oeste Paulista – Unoeste, Presidente Prudente, SP, 2014.

Bibliografia.

Orientador: Sílvia Maria Caldeira Franco Andrade

1. Resveratrol. 2. Obesidade. 3. Dislipidemia. 4. Doença hepática gordurosa não alcoólica. 5. Fibrose hepática I. Título.

NÁDIA DE ARAUJO MIGUEL

**EFEITOS DO RESVERATROL NA FUNÇÃO HEPÁTICA DE RATAS
WISTAR OBESAS**

Dissertação apresentada a Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação, Universidade do Oeste Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Presidente Prudente, 27 de março de 2014.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Caldeira Franco Andrade
Universidade do Oeste Paulista – Unoeste
Presidente Prudente-SP

Prof^a. Dr^a. Francis Lopes Pacagnelli
Universidade do Oeste Paulista - Unoeste
Presidente Prudente - SP

Prof^a. Dr^a. Alessandra Melchert
Universidade Estadual Paulista – Unesp
Botucatu - SP

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais (Elias e Maria do Rosário) que me ensinaram a perseguir meu ideal com dedicação e coragem.

Minhas referências!

AGRADECIMENTOS

A Deus por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar os caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

Aos meus irmãos (Leila, Jorge e Roberto) e a toda minha família, a qual amo muito, pelo carinho, paciência e incentivo.

À Prof^a. Dr^a. Alessandra Melchert idealizadora deste trabalho pela dedicação constante, por estar sempre disposta a me ajudar nas minhas dificuldades, pela confiança e carinho, sem os quais a realização deste trabalho não seria possível.

À minha orientadora e amiga Prof^a. Dr^a. Silvia Maria Caldeira Franco de Andrade por acreditar em mim, me mostrar o caminho da ciência, fazer parte da minha vida nos momentos bons e ruins, por ser exemplo de profissional e de mulher, sempre fará parte da minha vida.

Aos professores: Dr^a. Gisele Alborghetti Nai, Dr^a. Cecília Braga Laposy e Dr. Rogério Giuffrida por sua ajuda nos momentos mais críticos, por acreditarem no futuro deste projeto e contribuírem para o meu crescimento profissional.

Aos amigos que fizeram parte desses momentos sempre me ajudando e incentivando, em particular ao Marcio Bocari e Adriana.

Aos técnicos do Biotério de Experimentação Animal pelo apoio técnico excepcional.

A todos os colegas e professores da pós-graduação em Ciência Animal pelo convívio e aprendizado.

Por fim agradeço, aos animais, aqueles que deram sua vida para a pesquisa, meu muito obrigada!

*“Não sei se a vida é curta ou longa para nós,
mas sei que nada do que vivemos tem sentido,
se não tocarmos o coração das pessoas.
Muitas vezes basta ser: colo que acolhe, braço que envolve,
palavra que conforta, silêncio que respeita,
alegria que contagia, lágrima que corre, olhar que acaricia,
desejo que sacia, amor que promove.
E isso não é coisa de outro mundo, é o que dá sentido à vida.
É o que faz com que ela não seja nem curta, nem longa demais,
mas que seja intensa, verdadeira, pura enquanto durar.
Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.”*

Cora Coralina

RESUMO

Efeitos do resveratrol na função hepática de ratas Wistar obesas

A obesidade vem se destacando como um dos mais importantes problemas de saúde pública e sua incidência aumentou muito nas duas últimas décadas. Como consequência traz uma série de prejuízos metabólicos e sobrecarga ao sistema cardiovascular e fígado. O resveratrol, presente em diversos frutos como as uvas, vem sendo investigado com ênfase na última década, devido a seus efeitos antioxidantes. Este estudo avaliou os efeitos da suplementação com o resveratrol sobre o perfil lipídico e hepático de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica para indução da obesidade. Sessenta e quatro ratas Wistar foram distribuídas em 4 grupos (n=16): Grupo Controle (C); Grupo Controle Obeso (CO); Grupo Resveratrol (R) e Grupo Resveratrol Obeso (RO). Os animais dos grupos C e R foram alimentados com ração comercial LABINA[®] e os animais dos Grupos CO e RO foram alimentados com dieta palatável hiperlipídica (DPH) durante 12 semanas. Após 6 semanas, os animais dos grupos C e CO receberam suplementação de placebo, via oral, por gavagem e os animais dos grupos R e RO receberam suplementação de 30mg de resveratrol/kg de peso/dia diluído, via oral, por gavagem, durante 6 semanas. Ao final das 12 semanas os animais foram submetidos à anestesia geral para coleta de sangue e posterior eutanásia. Foram avaliados os parâmetros peso corporal, do fígado e da gordura retroperitoneal e os perfis lipídico e hepático séricos e análise histopatológica do fígado. A administração de resveratrol durante 6 semanas não induziu perda de peso corporal e também não reduziu os parâmetros do perfil lipídico, porém diminuiu as enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA) e produziu menor ocorrência de esteatose (75%) no grupo RO em comparação com o grupo CO (81,25%). Em conclusão, a suplementação do resveratrol pelo período curto de 6 semanas, promoveu um efeito benéfico sobre a função hepática por meio da redução da esteatose hepática e das enzimas hepáticas AST e FA em ratas obesas.

Palavras-chave: Resveratrol. Obesidade. Quimioprevenção. Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica. Fibrose Hepática.

ABSTRACT

Effects of resveratrol on liver function of obese Wistar rats

The obesity is one of the most important problems of public health and your incidence increased a lot in the last two decades. As consequence a series of metabolic damages happens and overload to the cardiovascular and hepatic system. Resveratrol, found in many fruits such as grapes, has been investigated with emphasis on the last decade due to its antioxidant effects. This study evaluated the effects of the resveratrol supplementation on the lipid and hepatic profile of female Wistar rats submitted to the hyperlipid diet for induction of the obesity. Sixty four female Wistar rats were divided in 4 groups (n=16): Group Controls (C); Group Control Obese (CO); Group Resveratrol (R) and Group Resveratrol Obese (RO). The animals of the groups C and R were fed with commercial ration and Group CO animals and RO were fed with hyperlipid palatable diet (DPH) for 12 weeks. After 6 weeks, the animals of the groups C and CO received placebo supplementation, orally, for gavage and the animals of the groups RM and RO received supplementation of 30 mg of resveratrol/kg of diluted weigh/day, orally, for gavage, for 6 weeks. At the end of 12 weeks the animals were submitted to the general anesthesia for collection of blood sample and subsequent euthanasia. They were appraised the parameters corporal weight, the liver and the retroperitoneal fat and the lipid and hepatic profile and histopathological analysis of the liver. The resveratrol administration for 6 weeks didn't induce loss of corporal weight and it didn't also reduce the parameters of the lipid profile, but decreased hepatic enzymes aspartate aminotransferase (AST) and alkaline phosphatase (AP) and smaller steatosis occurrence (75%) in the group RO in comparison with the group CO (81,25%). In conclusion, supplementation of resveratrol by the short period of six weeks, although it does not induce weight loss and improved lipid profile, promoted a beneficial effect on liver function by reducing hepatic steatosis and liver enzymes AST and FA in obese rats

Key-words: Resveratrol. Obesity. Chemoprevention. Nonalcoholic Fatty Liver Disease. Hepatic Fibrosis.

LISTA DE SIGLAS

AG	- Ácidos graxos
ALT	- Alanina aminotransferase
AST	- Aspartato aminotransferase
C	- Grupo Controle
CO	- Grupo Controle Obeso
DHGA	- Doença hepática gordurosa não alcoólica
EHNA	- Esteato-hepatite não alcoólica
FA	- Fosfatase alcalina
HDL colesterol	- Lipoproteína de alta densidade
HSC	- Células estreladas hepáticas
LDL colesterol	- Lipoproteína de baixa densidade
LHS	- Lipase hormônio sensível
MDA	- Malondialdeído
NF-κB	- Fator nuclear Kappa B
R	- Grupo Resveratrol
RO	- Grupo Resveratrol Obeso

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	11
2 REVISÃO DE LITERATURA	14
2.1 Obesidade	14
2.2 Síndrome Metabólica	16
2.3 Perfil Lipídico na Síndrome Metabólica	17
2.4 Perfil Hepático na Síndrome Metabólica	18
2.4.1 Doença hepática gordurosa não alcoólica.....	19
2.5 Alimentos Funcionais	24
2.6 Resveratrol	25
2.6.1 Fontes de resveratrol	25
2.6.2 Efeitos farmacológicos do resveratrol	26
2.6.2.1 Atividade antioxidante	26
2.6.2.2 Atividade anti-inflamatória	27
2.6.2.3 Atividade na agregação plaquetária	28
2.6.2.4 Atividade no relaxamento muscular	28
2.6.2.5 Atividade no metabolismo lipídico	29
2.6.2.6 Atividade hepatoprotetora	30
3 OBJETIVOS	31
REFERÊNCIAS.....	32
ARTIGO CIENTÍFICO	43
ANEXO.....	58

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é caracterizada pelo excesso de gordura corpórea, decorrente principalmente de um desequilíbrio entre o excesso de ingestão calórica e o baixo gasto energético, associados à má alimentação e hábitos de exercícios físicos inadequados. A prevalência de obesidade (índice de massa corporal superior a 30 kg/m^2) aumentou dramaticamente em todo o mundo nas últimas duas décadas. Em 2009-2010, dentre a população adulta dos EUA 35,5% dos homens e 35,8% das mulheres eram obesos (FLEGAL et al., 2012). Sobrepeso e obesidade são considerados importantes problemas de saúde pública, uma vez que estão se disseminando pelo mundo em todas as faixas de idade, atingindo não só adultos, mas também muitas crianças e adolescentes e também animais de companhia como cães e gatos, em incidência superior aos 20% na maioria dos países industrializados (DIEZ; NGUYEN, 2006).

Obesidade provoca efeitos negativos na qualidade de vida e é associada a diversas doenças crônicas, como diabetes mellitus, acidente vascular cerebral e hipertensão arterial sistêmica (JAMES et al., 2004). É uma doença crônica e progressiva que predispõe ao aumento da taxa de mortalidade, como demonstrado em diversos estudos populacionais (ZANELLA, 2000). Sua importância torna-se ainda maior quando se observa que sua prevalência vem aumentando drasticamente, tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento, como o Brasil (VIGITEL, 2011). Trata-se de doença multifatorial que se relaciona com componentes culturais, ambientais, socioeconômicos, psicológicos e genéticos (ANDERSON; KONZ, 2001).

Distúrbios típicos de indivíduos obesos são denominados síndrome metabólica e incluem: resistência à insulina; níveis aumentados de insulina plasmática; obesidade central; alterações do colesterol total e suas frações, com altos níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e baixos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL); níveis elevados de triglicérides; hipertensão arterial, entre outros (DEFRONZO; FERRANNINI, 1991). O principal risco atribuído à obesidade/síndrome metabólica diz respeito às implicações cardiovasculares a que ela está associada (JONSSON; HEDBLAD; ENGSTROM, 2002), em virtude de sua relação com outros fatores de risco, como a hipertensão, a resistência à insulina e a dislipidemia (CARNEIRO; FARIA; RIBEIRO FILHO, 2003).

A doença hepática gordurosa não alcoólica é mais uma característica associada à síndrome metabólica. Ela engloba um aumento de ácidos graxos livres concomitantemente a um decréscimo da beta oxidação, levando a maior susceptibilidade à fibrose hepática (MARCHESINI et al., 2001). Fibrose hepática é uma resposta de cicatrização à lesão hepática crônica, que culmina em cirrose e danos graves ao fígado. Na fibrose hepática, as células estreladas hepáticas (HSC) quiescentes se ativam, proliferam e passam a expressar um fenótipo miofibroblástico ativado, perdendo as gotas lipídicas, vitamina A e aumentando a secreção de matriz extracelular (FRIEDMAN, 2008a, 2008b). Agentes terapêuticos que bloqueiam a ativação da célula estrelada hepática, isto é, diminuindo a proliferação e mantendo o fenótipo lipocítico, constituem um pré-requisito para o tratamento da fibrose (GERLACH, 2005).

A população mundial demonstra crescente preocupação com a alimentação e seus constituintes, incentivando, deste modo, o investimento da indústria em produtos saudáveis, os chamados alimentos e suplementos funcionais (MARQUES et al., 2008). A grande procura por meios que favoreçam uma vida saudável tem impulsionado as pesquisas por novas substâncias, capazes de satisfazer tais necessidades. Entre estas substâncias encontram-se os polifenóis como o resveratrol que está presente em diversas plantas, em especial nas uvas e seus derivados (SAUTTER, 2005).

O resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é uma fitoalexina natural encontrada nas uvas e seus derivados como vinhos tintos, que tem sido relatado por apresentar uma grande variedade de propriedades farmacológicas (ATHAR et al., 2007). O resveratrol apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, modula o metabolismo lipídico, por atenuar peroxidação lipídica hepática (FREMONT, 2000; BAUR; SINCLAIR, 2006), além de atuar na prevenção de doenças cardiovasculares.

Os efeitos do resveratrol sobre a lipólise foram analisados por Szkudelska, Nogowski e Szkudelski (2009) que observaram reforçada resposta lipolítica à adrenalina induzida por resveratrol, sugerindo que este resultado seja devido a um aumento de AMPc em adipócitos. Efeitos sobre a redução da inflamação, via inibição das prostaglandinas mediada por inibição da atividades das ciclooxigenase-2 e do fator nuclear kB (NF-kB), foram relatadas (SHANKAR; SINGH; SRIVASTAVA, 2007). Os mediadores inflamatórios podem estimular a ativação das

células estreladas hepáticas (HSC) (WALLACE; BURT; WRIGHT, 2008). Assim, o efeito anti-inflamatório do resveratrol pode contribuir para a atividade antifibrótica no fígado com injúria, por meio da inibição da ativação das células estreladas. Recentemente, o resveratrol tem sido proposto como substância com potencial anti-obesidade. Parece ter efeitos na restrição de energia, levando à redução da gordura corporal e aumentando a sensibilidade à insulina (LAGOUGE et al., 2006; BAILE et al., 2011). O resveratrol está agora disponível nos diferentes tipos de sucos de uva produzidos no Brasil, o que favorece sua utilização em todos os níveis sócioeconômicos (SAUTTER, 2005).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Obesidade

A obesidade é considerada uma epidemia mundial (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998), que se caracteriza pelo excesso de gordura corpórea, podendo ser desencadeada por erros no metabolismo e na utilização dos nutrientes ou por balanço energético positivo, que ocorre quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto, promovendo aumento dos estoques de energia e peso corporal (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1998; PEREIRA et al., 1999). Os estoques de energia no organismo são regulados pela ingestão e pelo gasto energético, sendo que, quando há equilíbrio entre a ingestão e o gasto energético, o peso corporal é mantido (OLIVEIRA; COSTA; RIBEIRO, 2008). Desta forma, um pequeno balanço positivo acarreta baixo incremento de peso, mas o desequilíbrio crônico entre a ingestão e o gasto levará à obesidade ao longo do tempo (ESCRIVÃO et al., 2000).

São descritos dois diferentes tipos de obesidade: obesidade andróide ou abdominal ou centralizada, na qual o tecido adiposo localiza-se predominantemente no tronco e a obesidade ginecóide, na qual a gordura localiza-se primariamente nos quadris, nádegas e cintura (OLIVEIRA; COSTA; RIBEIRO, 2008). O acúmulo de gordura visceral está associado à maior prevalência de desarranjos metabólicos, hormonais, inflamatórios e hemodinâmicos, que no conjunto implicarão em acometimento da microvasculatura e impacto negativo sobre os órgãos-alvo, particularmente sobre o eixo cárdio-renal, levando a alto consumo de oxigênio, alta incidência de doenças cardiovasculares, complicações metabólicas, insulinoresistência, hiperuricemia e dislipoproteinemia (ROSA et al., 2005).

O acúmulo excessivo de gordura corporal sob a forma de triglicérides no tecido adiposo deriva de um aporte calórico excessivo e crônico de substratos combustíveis, presentes nos alimentos e bebidas (carboidratos, proteínas, lipídios e álcool), em relação ao gasto energético (metabolismo basal, efeito termogênico e atividade física) (CARDOSO; MARTINS; BENITES, 2010). A obesidade está fortemente associada às dislipidemias, e o controle do peso corporal parece ser uma medida eficaz no controle destas, relacionando-se à diminuição do colesterol LDL e ao aumento do colesterol HDL (GIULIANO; COUTINHO; FREITAS, 2005).

Como a causa definitiva da obesidade é um desequilíbrio entre a ingestão e o gasto energético, um balanço energético negativo é necessário para produzir a perda de peso e pode ser conseguido quer diminuindo a ingestão alimentar, quer aumentando o gasto calórico e esse estímulo ao gasto calórico ou a prevenção do seu declínio durante a dieta pelo uso de recursos naturais com ingredientes à base de plantas (HURSEL; WESTERTERP-PLANTENGA, 2010).

A obesidade era considerada mero e passivo depósito de triglicerídeos e ácidos graxos livres, hoje o tecido adiposo é visto como importante órgão endócrino e parácrino, produtor de diversas substâncias pró-inflamatórias (MAZUREK; ZHANG; ZALEWSKI, 2003).

No processo de diferenciação dos pré-adipócitos em adipócitos maduros, estes adquirem a capacidade de produção de centenas de proteínas: enzimas, citocinas, fatores de crescimento e hormônios envolvidos em diversos eventos metabólicos (LAU et al., 2005).

Componentes envolvidos na adipogênese incluem a lipase lipoproteica, angiotensinogênio, adiposina, adiponectina, IL-6, prostaglandinas, TNF-alfa e óxido nítrico. Essas moléculas possuem ação moduladora nos depósitos lipídicos e distribuição corporal de gordura (REILLY et al., 2007).

Mais recentemente, o tecido adiposo vem sendo considerado uma fonte de mediadores pró-inflamatórios que contribuem para injúria vascular, resistência insulínica e aterogênese. Hoje em dia chamadas adipocinas incluem: TNF-alfa, IL-6, leptina, inibidor do ativador de plasminogênio (PAI)-1, angiotensinogênio, resistina e proteína C-reativa (PCR). (BERGMAN; MITTELMAN, 1998) Algumas possuem ação protetora contra inflamação vascular e resistência insulínica, dentre as quais figuram a adiponectina e o óxido nítrico (BERGMAN; MITTELMAN, 1998).

As adipocinas estão elevadas em pacientes obesos e com resistência insulínica, sendo mais produzidas em tecido adiposo abdominal do que em outros locais. A perda de peso está associada à diminuição dos níveis dessas substâncias (LAU et al., 2002).

Distúrbios típicos de indivíduos obesos são denominados síndrome metabólica, o principal risco atribuído à obesidade/síndrome metabólica diz respeito às implicações cardiovasculares a que ela está associada (JONSSON; HEDBLAD; ENGSTROM, 2002), em virtude de sua relação com outros fatores de risco, como a

hipertensão, a resistência à insulina e a dislipidemia (CARNEIRO; FARIA; RIBEIRO FILHO, 2003).

A doença hepática gordurosa não alcoólica vem sendo apontada como o componente hepático da síndrome metabólica. Ela engloba um aumento de ácidos graxos livres concomitantemente a um decréscimo da beta oxidação levando a maior susceptibilidade à fibrose hepática (MARCHESINI et al., 2001).

2.2 Síndrome Metabólica

As mudanças no estilo de vida observado a partir da segunda metade do século XX, que incluíram alterações nos hábitos alimentares e a adoção de um estilo de vida sedentário, contribuíram para a epidemia crescente de doenças crônicas tais como a obesidade, o diabetes mellitus e a hipertensão arterial, condições que por sua vez freqüentemente cursam com alterações lipídicas, hipercoagulabilidade e risco aumentado de doença cardiovascular. A concomitância de todas estas alterações com um quadro subjacente de resistência insulínica compõe a chamada síndrome metabólica (BARROS et al., 2013).

Defronzo e Ferranini (1991) sugerem que a resistência insulínica seja uma condição endêmica na população, podendo ser de origem genética ou adquirida, como consequência de um ganho de peso ponderal. Sugerem ainda que a expressão clínica da resistência insulínica pode variar na dependência da base genética específica do indivíduo. Ainda segundo os autores, na maior parte da população, a expressão fenotípica da resistência insulínica não seria observada, a menos que se aferisse a sua contraparte bioquímica: a hiperinsulinemia. A exata natureza dos mecanismos implicados nas alterações lipoproteicas da síndrome de resistência insulínica não se encontra totalmente elucidada, porém a hiperinsulinemia certamente tem um papel marcante no processo, uma vez que está implicada na modulação de enzimas-chave do metabolismo lipídico (VERGES, 2001). Os agonistas de certos receptores nucleares (PPAR) são capazes de induzir melhora na resistência insulínica e na dislipidemia associada, evidenciando o papel central destes receptores na regulação de diversas vias metabólicas relacionadas com a homeostase glicídica, a pressão arterial, a adipogênese e o metabolismo lipídico. (PUDDU; PUDDU; MUSCARI, 2003)

Síndrome metabólica é definida como um distúrbio complexo representado por um conjunto de fatores de risco cardiovasculares que são normalmente associados com resistência à insulina e adiposidade central (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2005). Entre os principais fatores que contribuem para a sua ocorrência são a predisposição genética, dieta inadequada e inatividade física (SCHILD; SANTOS; ALVES, 2012). Embora não faça parte dos critérios de diagnóstico da síndrome metabólica, a esteatose hepática é freqüentemente associada com esta desordem (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2005).

2.3 Perfil Lipídico na Síndrome Metabólica

As condições que cursam com hiperinsulinemia, em geral estão associadas à chamada tríade lipídicas, aumento moderado de triglicerídeos, redução do HDL-colesterol e presença de níveis aumentados de LDL pequenas e densas, sendo que a determinação destas últimas requer meios laboratoriais mais complexos, não sendo empregada na prática médica habitual de acordo com o Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM [NCEP III], 2002).

Lemieux et al. (2000) descreveram que a presença simultânea, em indivíduos do sexo masculino, de perímetro de cintura ≥ 90 cm e níveis de triglicerídeos ≥ 180 mg/dl, estava associada a um risco 3,5 vezes maior de coronariopatia, sendo, além disso, marcadora de um perfil metabólico caracterizado por hiperinsulinemia, elevação das LDLs e elevação de apo-proteína-B. Os autores denominaram esta condição de “Cintura Hipertrigliceridêmica”, sugerindo que a sua determinação demandaria meios simples, sendo portanto uma alternativa de mais baixo custo.

No adipócito, a resistência insulínica causa um aumento na liberação de ácidos graxos livres, enquanto no fígado determina uma menor supressão na síntese de VLDL. O resultado do processo é a liberação de um excesso de partículas de VLDL grandes, ricas em triglicerídeos, que por sua vez geram uma cascata de eventos de troca que culminam com a redução nos níveis de colesterol na HDL. Outras alterações tais como a redução da ação da lipoproteína-lipase e o aumento da ação da lipase hepática são também necessárias para a completa

expressão fenotípica da tríade lipídica, contribuindo para a transformação da LDL em partículas de menor diâmetro e maior densidade, e ainda para a manutenção de um estado de lipemia pós-prandial, com a circulação de lipoproteínas remanescentes ricas em colesterol (MANZU; ALVEAR; ALAYÓN, 2010).

Em diferentes populações descrevem-se incrementos nos níveis de triglicerídeos e redução nos níveis de HDL quando se analisam grupos com quintis mais elevados de insulina. Também já se descreveu uma relação direta entre insulinemia e apo-proteína-B e inversa com a apoproteína-A1 (GALVÃO et al., 2011).

Numa série de 2264 casos na cidade do Rio de Janeiro (BRANDÃO, 2004), observou-se que 64,3% dos indivíduos com quintil mais elevado de insulina apresentavam diagnóstico de dislipidemia, independente do lípide alterado e que os fenótipos lipídicos mais observados foram: HDL-colesterol alterado isoladamente em 30,0%; colesterol total alterado isoladamente em 19,4%; HDL-colesterol e triglicerídeos alterados concomitantemente em 16,3% e triglicerídeos alterados isoladamente em 10,6% dos indivíduos estudados.

2.4 Perfil Hepático na Síndrome Metabólica

Considerada um problema de saúde pública, a obesidade tem aumentando sua prevalência em um ritmo alarmante nos últimos anos. Estudos realizados pela Vigilância de Fatores de Risco e Proteção para Doenças Crônicas por Inquérito Telefônico (Vigilância de Fatores de Risco e Proteção Para Doenças Crônicas Por Inquérito Telefônico - VIGITEL) em 2011 mostrou que 15,8% da população adulta brasileira é obesa. Juntamente com o aumento da obesidade, a prevalência de doenças crônicas também cresceu. Entre eles, doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) (MÁRQUEZ et al., 2008; LAM; YOUNOSSI, 2010) associada à síndrome metabólica (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2005).

A doença hepática gordurosa não alcoólica ou esteatose hepática é definida como condição clínico-patológica anormal, devido ao acúmulo de triglicerídeos nos hepatócitos, não superior a 5% do peso do fígado (ADAMS; ANGULO, 2005). Tem fases diferentes, que vão desde simples acúmulo (DHGNA), para acúmulo com inflamação (esteato-hepatite não-alcoólica) (EHNA) ou pode

evoluir para fibrose, cirrose ou hepatocarcinoma (MÁRQUEZ et al., 2008). Estima-se que a esteato-hepatite não-alcoólica afete 10% a 24% da população em muitos países do mundo. Esta prevalência cresce de forma alarmante na população obesa, atingindo 57,5% a 74% (TARANTINO et al., 2007).

Esteatose hepática está fortemente associada com resistência à insulina, diabetes mellitus tipo II, obesidade, e dislipidemia (BELLENTANI; MARINO, 2009). É mais comum entre os homens e sua prevalência aumenta com a idade (COTRIM et al., 2011). Seu diagnóstico requer a exclusão de doença hepática alcoólica e hepatite viral (BAYARD; HOLT; BOROUGHS, 2006) e pode ser obtido por ultra-som abdominal, um método não invasivo, de baixo custo e facilmente acessível com uma sensibilidade de 89% e especificidade de 93%. (CHARATCHAROENWITTHAYA; LINDOR, 2007).

Além de levar a alterações histopatológicas importantes, pode causar alterações nos marcadores de lesão hepática como a elevação de enzimas hepáticas, sendo que a alteração na função hepática pode variar de esteatose a esteato-hepatite, fibrose e cirrose (CHAVES et al., 2012).

2.4.1 Doença hepática gordurosa não alcoólica

A insulina tem efeitos importantes no metabolismo dos carboidratos e lipídios, mediando e sendo essencial para o desenvolvimento da esteatose hepática e da esteatohepatite. Em condições fisiológicas a insulina promove a lipogênese periférica e a síntese de glicogênio, inibe a gliconeogênese e diminui a oxidação lipídica. A resistência à insulina está associada ao aumento da disponibilidade de ácidos graxos (AG) livres para o fígado, aumento da β -oxidação mitocondrial e aumento da síntese de triglicerídeos a partir desses AG livres. Os triglicerídeos podem se acumular no fígado devido ao aumento da disponibilidade de AG livres ou à diminuição na produção e/ou secreção de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) (CONTOS; SANYAL, 2002). Os triglicerídeos acumulados no citoplasma constituem vacúolo [identificado à hematoxilina-eosina (HE)] que rechaça o núcleo para a periferia (esteatose macrovacuolar). Se há oxidação dos AG há formação de radicais livres, peróxido de hidrogênio e espécies reativas do oxigênio (MCCULLOUGH, 2002).

A peroxidação lipídica parece ligar a esteatose à atividade inflamatória. Dois dos aldeídos produzidos na peroxidação são os principais mediadores: o malondialdeído (MDA) e o 4-hidroxinonenal (MCCULLOUGH, 2002). O MDA ativa o NF- κ B (fator de transcrição regulador da expressão de citocinas pró-inflamatórias e de moléculas de adesão), promovendo a produção do fator de necrose tumoral alfa, interleucina 8 e selectina E. O 4-hidroxinonenal ativa as células estreladas do fígado, promovendo a deposição de colágeno e conseqüente fibrose. Ele também está implicado na formação dos corpúsculos hialinos de Mallory e na quimiotaxia dos neutrófilos (DAY; JAMES, 1998).

A partir dessas informações Day e James (1998) propuseram o modelo dos dois hits, o qual tenta explicar por que alguns pacientes permanecem indefinidamente apenas com esteatose e outros evoluem com esteatohepatite e fibrose. Segundo eles, em adição à esteatose (primeiro hit), o desenvolvimento da esteatohepatite requer um segundo hit referente à maior produção ou incapacidade de inativação dos radicais livres produzidos na β -oxidação, com persistência da sua ação lesiva na célula (estresse oxidativo).

Wanless e Shiota (2004) propuseram um modelo para a patogênese da esteatohepatite não alcoólica onde haveria extravasamento dos lipídios no interstício hepático levando ao dano direto e à inflamação das veias hepáticas e posterior obstrução venosa com colapso secundário, fibrose e finalmente cirrose.

Na maioria dos pacientes (77%) a doença hepática gordurosa não alcoólica é assintomática (CONTOS; SANYAL, 2002; ZAFRANI, 2004). Eles geralmente procuram o atendimento médico por outros motivos e acabam descobrindo enzimas hepáticas pouco elevadas e/ou hepatomegalia. Fadiga e mal-estar podem ser atribuídos à doença hepática (BACON; FARAHVASH; JANNEY, 1994). Dor no quadrante superior direito descrita como vaga e inespecífica também podem ocorrer. Uma fração menor dos pacientes experimenta prurido, anorexia e náuseas, indicando doença mais grave. Ascite, anasarca, varizes esofagianas e encefalopatia hepática ocorrem apenas quando há cirrose descompensada (CONTOS; SANYAL, 2002).

A hepatomegalia está presente em até 50% dos pacientes (CONTOS; SANYAL, 2002). Sua presença pode chegar até 95% quando as dimensões hepáticas são avaliadas por ultrassom. Ao exame ultrasonográfico, a esteatose hepática produz aumento difuso da ecogenicidade quando comparada com a dos

rins. A ultra-sonografia tem sensibilidade de 89% e especificidade de 93% na detecção de esteatose e sensibilidade e especificidade de 77 e 89%, respectivamente, para o diagnóstico de fibrose (CHARATCHAROENWITTHAYA; LINDOR, 2007).

A alteração laboratorial mais comum é o aumento de duas a quatro vezes das aminotransferases hepáticas: alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST) (BACON; FARAHVASH; JANNEY, 1994; TELI; JAMES; BURT, 1995). Cinquenta a 90% dos pacientes hospitalares mostram aminotransferases elevadas, sendo o valor de ALT normalmente mais alto que o de AST (BACON; FARAHVASH; JANNEY, 1994; CONTOS; SANYAL, 2002). A relação AST/ALT é geralmente menor que um na doença hepática gordurosa não alcoólica, o que ajuda a distingui-la da doença hepática alcoólica (MATTEONI; YOUNOSSI; GRAMLICH, 1999). Relação maior que um na doença hepática gordurosa não alcoólica sugere estágio avançado da doença (MATTEONI; YOUNOSSI; GRAMLICH, 1999). Vale ressaltar que todo o espectro histológico da doença hepática gordurosa não alcoólica pode ocorrer em indivíduos com valores normais de ALT e um valor normal não garante que o indivíduo não tenha um quadro de fibrose avançada (MOFRAD; CONTOS; HAQUE, 2003). No estudo de Sorrentino, Tarantino e Conca (2004), de um total de 80 pacientes com síndrome metabólica e enzimas hepáticas normais, 72,5% apresentavam quadro histológico compatível com esteatohepatite. Destes, 10% apresentavam cirrose. A gama glutamil transpeptidase (GGT) pode estar aumentada em duas ou três vezes em 50% dos pacientes. Bilirrubina e albumina são geralmente normais, a não ser que a doença tenha avançado para cirrose (CONTOS; SANYAL, 2002; ADAMS; TALWALKAR, 2006).

Atualmente não existem métodos não invasivos capazes de estabelecer o diagnóstico de esteatohepatite (SANYAL, 2002). A intensidade da elevação das aminotransferases não é específica e não é capaz de diferenciar entre esteatose e esteatoepatite (LEE, 1994). O mesmo acontece com os métodos de imagem (SANYAL, 2002). A biópsia hepática é, portanto, o melhor método diagnóstico para confirmar a doença hepática gordurosa não alcoólica, verificar a existência de inflamação e fibrose e fornecer informações prognósticas, além de poder ser usada para avaliar os efeitos de tratamento. Ela é considerada o exame

de padrão-ouro, devendo o diagnóstico da doença ser efetivado através da correlação anátomo-clínica (ADAMS; TALWALKAR, 2006).

As lesões histopatológicas necessariamente presentes para o diagnóstico de esteatohepatite não alcoólica são: a esteatose predominantemente macrovacuolar, a balonização hepatocitária e os focos de infiltrado inflamatório misto com mono e polimorfonucleares neutrófilos (BACON; FARAHVASH; JANNEY, 1994; BRUNT, 2001; BRUNT, 2004). Os critérios mínimos, no entanto, até hoje ainda não são bem definidos. Concorda-se que o diagnóstico histopatológico de esteatohepatite não alcoólica baseia-se em uma série de características e não apenas em uma delas. Nenhum achado isolado na microscopia é suficiente para o diagnóstico de esteatohepatite (BRUNT, 2001). A esteatose é a única variável histológica presente em 100% dos casos. Predomina a forma macrovacuolar, aquela caracterizada pela presença de grande vacúolo de gordura que empurra o núcleo para a periferia. Em muitos casos, geralmente os mais graves (BRUNT, 2001), há também esteatose microvacuolar formada por numerosos pequenos vacúolos citoplasmáticos que provocam indentações no núcleo centralmente localizado. Ambos os tipos de esteatose são facilmente reconhecidos à microscopia óptica, não sendo necessário o uso de colorações especiais.

Na doença hepática gordurosa não alcoólica, a esteatose acomete primeiramente a zona 3 do ácino, poupando a zona 1. Ela pode também ser panacinar. Em casos em que há evolução para cirrose, a esteatose pode diminuir e até mesmo desaparecer (BUGIANESI; LEONE; VANNI, 2002; LIOU; KOWDLEY, 2006). A maioria dos estudos gradua de forma semiquantitativa a esteatose macrovacuolar: ela é classificada como discreta quando compromete de 0 a 33% dos hepatócitos; moderada quando compromete 33 a 66% e acentuada quando compromete mais de 66% dos hepatócitos (BRUNT, 2001; BRUNT 2004).

A balonização, alteração morfológica que denota dano celular, é consequência da disfunção de microtúbulos e da diminuição de secreção de proteínas, acompanhada de retenção de fluido dentro do hepatócito (BURT; MUTTON; DAY, 1998). O citoplasma dos hepatócitos baloniformes adquire aspecto finamente granular e eles se tornam arredondados, edemaciados. Geralmente estão presentes nas áreas com esteatose, ou seja, na região perivenular (zona 3) (BRUNT, 2001; BRUNT; 2004).

As células baloniformes podem conter hialinos de Mallory. Eles são inclusões homogêneas, eosinofílicas e perinucleares, podendo ser vistos em colorações de rotina. Eles são formados por proteínas do citoesqueleto agregadas, podendo também ser detectadas por imuno-histoquímica (são positivos para citoqueratinas 7, 18 e 19 e ubiquitina) (BURT; MUTTON; DAY, 1998). A natureza quimiotática dos hialinos de Mallory promove o acúmulo de neutrófilos ao redor do hepatócito que o contém, fenômeno chamado de satelitose. Eles tendem a ser menos freqüentes que na hepatite alcoólica (LUDWIG et al., 1980; BURT; MUTTON; DAY, 1998; DIEHL; GOODMAN; ISHAK, 1998) e nem sempre são bem formados (BURT; MUTTON; DAY, 1998).

A inflamação da esteatohepatite não alcoólica é tipicamente discreta e lobular. O infiltrado inflamatório portal pode ser discreto e composto por mononucleares. Inflamação portal intensa com atividade de interface sugere outra etiologia, como hepatite crônica viral, autoimune ou induzida por drogas. Os infiltrados lobulares se caracterizam por um misto de mononucleares e polimorfonucleares neutrófilos (BRUNT, 2001). A atividade inflamatória na esteatohepatite não alcoólica é geralmente mais discreta que na hepatite alcoólica (DIEHL; GOODMAN; ISHAK, 1998). Lipogranulomas podem também estar presentes, embora não sejam diagnósticos de esteatohepatite não alcoólica. Eles nada mais são do que uma reação gigante-celular tipo corpo estranho a hepatócitos repletos de lipídios que se romperam (BURT; MUTTON; DAY, 1998). São formados por células mononucleares e células de Kupffer, com eosinófilos ocasionais (BRUNT, 2001).

Corpos acidofílicos densamente eosinofílicos resultam de hepatócitos apoptóticos. Eles são detectados não apenas na esteatohepatite não alcoólica, mas também em casos de hepatite alcoólica e esteatose simples (BRUNT, 2001; BRUNT 2004). A presença de núcleos vacuolizados, repletos de glicogênio, é comum, mas não diagnóstica de esteatohepatite não alcoólica (BRUNT, 2001). Eles são vistos em 70 a 80% dos casos de doença hepática gordurosa não alcoólica e em apenas 5 a 10% dos casos de hepatite alcoólica (HÜBSCHER, 2004).

Mitocôndrias aumentadas de tamanho, conhecidas como megamitocôndrias, podem ocorrer na esteatohepatite não alcoólica. Aparecem como inclusões citoplasmáticas arredondadas ou em forma de agulha (BRUNT, 2001). O pigmento férrico detectado pela coloração de Perls nos hepatócitos é pouco usual e

quando presente ocorre em pequena quantidade (tipicamente graduado como 1+ ou 2+) (BRUNT, 2004).

O padrão da fibrose é uma das características da esteatohepatite não alcoólica. A deposição de colágeno é observada primeiramente na região perivenular/perisinusoidal da zona 3, juntamente com as outras lesões da esteatohepatite não alcoólica. O colágeno pode envolver células isoladamente, em um padrão conhecido como fibrose pericelular ou em “cerca de galinheiro” (do inglês *chicken wire*). Esse padrão de fibrose distingue as esteatohepatites alcoólica e não alcoólica de outras formas de doenças crônicas do fígado que têm como base fibrose portal. Com a progressão do dano, há fibrose portal, formação de septos que acabam por ligar veias centrolobulares e espaços portas entre si e finalmente estabelecimento da cirrose (BRUNT, 2001). Quando densa a fibrose pode ser observada na coloração pela hematoxilina e eosina (HE), mas em todos os casos é imediatamente detectada por colorações histoquímicas para colágeno, como por exemplo, o tricrômico de Masson. A reticulina de Sweet e o picrosirius evidenciam mais tipos de colágeno que o tricrômico de Masson. O uso dessas colorações pode resultar na observação de mais fibrose que a detectada pelo tricrômico de Masson (BRUNT, 2004).

2.5 Alimentos Funcionais

Os alimentos funcionais são definidos pelo International Food Information Council (IFIC) como alimentos que provêm benefícios adicionais à saúde, atribuídos aos nutrientes que contêm (LAMARÃO; FIALHO, 2009). São alimentos que, além de fornecerem os nutrientes básicos (carboidratos, proteínas, lipídios, vitaminas, minerais, fibras e água) e cumprirem suas funções nutricionais, promovem a saúde por possuírem determinadas substâncias capazes, através de mecanismos não previstos pela nutrição convencional, de promover a saúde e não a cura de doenças (BASHO; BIN, 2010).

As substâncias dos alimentos funcionais atuam modulando e ativando os processos metabólicos, melhorando, garantindo e mantendo as condições de saúde, modulando a fisiologia do organismo. São capazes de promover efeito hipocolesterolemizante, hipotensivo, redução dos riscos de aterosclerose, anticancerígenos, hipoglicêmico, entre outros, pelo aumento e estimulação da

efetividade do sistema imune, promovendo o bem-estar das pessoas e prevenindo o aparecimento precoce de alterações patológicas e de doenças degenerativas, que levam a uma diminuição da longevidade (THAMER; PENNA, 2006).

A procura por esses alimentos tem estimulado a descoberta, bem como a fabricação de novos produtos (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008). O uso dos alimentos para promover a saúde e a qualidade de vida, reduzindo os riscos de certas doenças, tem levado ao aumento das pesquisas e a descoberta de novos componentes naturais, bem como ingredientes, possibilitando o aparecimento de produtos alimentícios, que renovam cada vez mais as opções de mercado (THAMER; PENNA, 2006).

Os ingredientes responsáveis pela funcionalidade desses produtos são liderados pelas fibras dietéticas, óleos de peixe, esteróis de plantas, minerais, vitaminas, prebióticos e probióticos (KOMATSU; BURITI; SAAD, 2008). Ao resveratrol que está presente principalmente no vinho tinto têm sido atribuídas uma série de benefícios, incluindo a proteção contra o diabetes tipo 2, câncer, doenças cardíacas, inflamação e doenças neurodegenerativas. No entanto, o que essas doenças têm em comum é a sua associação com o envelhecimento, de modo que o resveratrol é classificado como alimento funcional por vários estudiosos (HOWITZ et al., 2003).

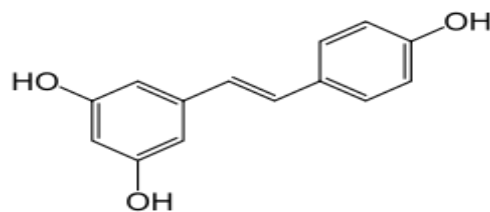
2.6 Resveratrol

2.6.1 Fontes de resveratrol

O resveratrol (Figura 1) é um composto fenólico, que quimicamente pertence ao grupo dos estilbenos que possuem um esqueleto característico C6-C2-C6. Encontra-se em vários frutos, como uvas, amendoins, e frutos do bosque e em partes das plantas como, por exemplo, raízes, como é o caso da sua presença no *Polygonum cuspidatum*. Este último é a fonte mais rica em resveratrol e é muito utilizado na medicina oriental para tratar, entre outras, doenças hiperlipidemicas, cardiovasculares e hepáticas e inflamação da pele (ARICHI et al., 1982; VASTANO et al., 2000).

Nas plantas, o resveratrol é uma fitoalexina sendo sintetizado em resposta a um stress ambiental, nomeadamente infecções microbianas, radiações UV, variações de temperatura e exposição ao ozônio (DAS; MAULIK, 2006).

FIGURA 1 - Estrutura química do *trans*-resveratrol



Fonte : Brito (2007)

Por existir na casca da uva, o resveratrol é extraído para o vinho durante a maceração necessária à sua produção. Assim sendo, ele tem sido detectado em diversos tipos de vinhos, oriundos de várias regiões do globo, inclusive nos vinhos portugueses (RIBEIRO DE LIMA et al., 1999). A concentração nos vinhos varia consideravelmente (1,5 – 14 mg/L, valores obtidos no laboratório) e depende da espécie da uva, do local geográfico, do tipo de vinho, do grau de infecção pelo fungo *Botrytis cinerea*, das práticas enológicas e das condições climáticas (BAVARESCO, 2003).

2.6.2 Efeitos farmacológicos do resveratrol

2.6.2.1 Atividade antioxidante

Frankel e colaboradores foram os primeiros a estudar a capacidade antioxidante do resveratrol, tendo verificado que o resveratrol protege as LDL humanas da oxidação catalisada pelo cobre (FRANKEL; WATERHOUSE; KINSELLA, 1993). Desde então, vários estudos demonstraram, que a atividade antioxidante direta do resveratrol se deve essencialmente à sua capacidade em quelar o cobre e à atividade captadora de radicais livres (BELGUENDOUZ;

FREMONT; LINARD, 1997; FAUCONNEAU et al., 1997; FREMONT; BELGUENDOUZ; DELPAL, 1999; ZOU et al., 1999). Adicionalmente, o resveratrol também diminui de uma forma eficiente a peroxidação lipídica das LDL induzida pela ferrilmioglobina, reduzindo o complexo óxido-ferrico a metamioglobina, assim como as modificações oxidativas proteicas das LDL induzidas pelo peroxinitrito (BRITO; ALMEIDA; DINIS, 2002).

Além da atividade antioxidante direta, o resveratrol caracteriza-se por uma ação antioxidante indireta devido aos seus efeitos em diferentes sistemas enzimáticos e antioxidantes celulares que no seu conjunto melhoram o estado redox da célula. Por um lado, o resveratrol diminui a atividade de várias enzimas envolvidas na produção de espécies reativas, nomeadamente a NAD(P)H oxidase, a xantina ou hipoxantina oxidase, a mieloperoxidase e as lipoxigenases (PINTO; GARCIA-BARRADO; MACIAS, 1999; MACCARRONE et al., 1999; ORALLO et al., 2002; CAVALLARO et al., 2003; CAO; LI, 2004).

2.6.2.2 Atividade anti-inflamatória

Os diversos estudos que se encontram publicados na literatura, relativos às propriedades anti-inflamatórias do resveratrol, indicam que ele poderá melhorar a inflamação subjacente à aterosclerose por, em parte, reduzir a produção de moléculas de adesão e citocinas. A expressão de mRNA de VCAM-1, CAM-1 e E-selectina, produzidos por células endoteliais estimuladas com LDLox, TNF- α , LPS ou H₂O₂ é inibida pelo resveratrol, assim como a adesão dos monócitos às células endoteliais (FERRERO et al., 1998; BERTELLI et al., 2001; PENDURTHI; RAO, 2002; CARLUCCIO et al., 2003; CSISZAR et al., 2006).

Adicionalmente, as propriedades anti-inflamatórias do resveratrol são, também, sustentadas pela sua capacidade em alterar a síntese de eicosanóides através da inibição das cicloxigenases1(COX1) e ciclo-oxigenases2 (COX-2) (KUNDU et al., 2006). O resveratrol reduz produção de prostaglandina E₂ (PGE₂) e a formação de espécies reativas de oxigênio (ROS) inibindo o recrutamento de leucócitos (CANDELARIO-JALIL et al., 2007; KIM et al., 2007), consequentemente inibindo a atividade de linfócitos T, B e macrófagos e amplificando a resposta anti-inflamatória (SHARMA et al., 2007).

Finalmente, a diminuição da síntese de óxido nítrico através da inibição da expressão de mRNA da enzima óxido nítrico sintetase (iNOS) pelo resveratrol poderão igualmente contribuir para a sua atividade anti-inflamatória (TSAI; LIN-SHIAU; LIN, 1999).

2.6.2.3 Atividade na agregação plaquetária

O resveratrol inibe a agregação plaquetária por inibir a síntese de eicosanóides a partir do ácido araquidônico, assim inibe a síntese de 12-hidroxiheptadecatrienoato, 5-hidroxi-eicosatetraenoato, 12hidroxi-eicosatetraenoato e tromboxano B₂ induzidas por ácido araquidônico, colageno, trombina e ADP (KIMURA; OKUDA; ARICHI, 1985; PACE-ASCIAC et al., 1995; BERTELLI et al., 1995; OLAS et al., 2002).

Alguns estudos sugeriram a inibição da 12-lipoxigenase. A atividade anti-plaquetária do resveratrol também foi observada in vivo (WANG et al., 2002). Dobrydneva e colaboradores concluíram que a ação bloqueadora do resveratrol no influxo de cálcio é responsável pela inibição da agregação plaquetária induzida pela trombina em plasma rico em plaquetas (DOBRYDNEVA; WILLIAMS; BLACKMORE, 1999; DOBRYDNEVA et al., 2003). Adicionalmente, o resveratrol inibe a adesão de plaquetas, ativadas por trombina e ADP, ao fibrinogênio (ZBIKOWSKA; OLAS, 2000; OLAS et al., 2002).

2.6.2.4 Atividade no relaxamento muscular

O relaxamento vascular, deficiente na aterosclerose, é modulado por dois reguladores cruciais: o vasoconstritor endotelina-1 e o vasodilatador do óxido nítrico. O papel do óxido nítrico no relaxamento vascular foi sugerido, após ter sido demonstrado que o resveratrol relaxa anéis de aortas pré-contraídas com endotélio intacto, sem afetar aortas cujo endotélio foi removido (FITZPATRICK; HIRSCHFIELD; COFFEY, 1993; LI et al., 2006; RUSH et al., 2007).

O resveratrol pode, ainda, exercer os seus efeitos vasodilatadores de uma forma independente do endotélio consequentemente por estimular o óxido nítrico diretamente pelos canais de K⁺/Ca²⁺ (CHEN; PACE-ASCIAC, 1996; LI; CHEN; WU, 2000; NOVAKOVIC et al., 2006).

2.6.2.5 Atividade no metabolismo lipídico

Estudos realizados em animais há aproximadamente 25 anos, demonstraram que o resveratrol afetava o metabolismo lipídico (ARICHI et al., 1982). Mais recentemente, estudos realizados *in vitro* com uma linha de hepatocarcinoma humano – HepG2, que retém a maioria das funções das células do parênquima hepático normal, em particular, as que se relacionam com a síntese e secreção de lipoproteínas, indicaram que o resveratrol diminui a concentração intracelular e a capacidade de secreção da apoB e de ésteres de colesterol, assim como a capacidade de secreção de triglicerídeos, apesar dos seus níveis intracelulares se manterem inalterados (GOLDBERG; HAHN; PARKES, 1995; PAL et al., 2003). O resveratrol teria então capacidade de diminuir a produção de VLDL e conseqüentemente LDL. MIURA e colaboradores observaram que o resveratrol diminui os níveis séricos de triglicerídeos e colesterol associado às VLDL e LDL (MIURA; MIURA; YAGASAKI, 2003).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar efeito do resveratrol na redução de gordura corporal e conseqüentemente na redução dos lípides plasmáticos. Uma grande quantidade de trabalhos tem sido desenvolvido em cultura de adipócitos, limitando assim a extrapolação dos resultados para a situação *in vivo*. Neste contexto, os resultados provenientes de estudos *in vitro*, realizado com vários tipos de adipócitos como células 3T3-L1 em adipócitos suínos e adipócitos humanos têm mostrado que o resveratrol aumenta a apoptose (RAYALAM et al., 2007; MADER et al., 2010), diminui a proliferação e diferenciação dos pré-adipócitos (PICARD et al., 2004; FISCHER-POSOVSKY et al., 2010) e reduz a lipogênese (FISCHER-POSOVSKY et al., 2010).

Além disso, tanto em experimentos *in vitro* como *in vivo*, o resveratrol tem demonstrado aumentar a biogênese mitocondrial, assim como aumentar a oxidação de ácidos graxos e a lipólise por indução de adrenalina (AHN et al., 2008; SHANG et al., 2008; SZKUDELKA; SZKUDELSKI, 2010).

Os efeitos do resveratrol sobre a lipólise foram analisados por Szkudelska, Nogowski e Szkudelski (2009). Eles observaram reforçada resposta lipolítica à adrenalina induzida por resveratrol sugerindo que este resultado seja devido a um aumento de AMPc em adipócitos.

2.6.2.6 Atividade hepatoprotetora

Doença hepática continua a ser uma grande causa de morbidade e mortalidade significativas com custos econômicos e sociais. Novas abordagens estão sendo estudadas atualmente que pode fornecer uma melhora no resultado terapêutico. O resveratrol, um polifenol de uva, mostrou promessa considerável como um agente terapêutico para o tratamento das doenças do fígado. Vários estudos têm destacado propriedades hepatoprotetoras do resveratrol. Wang, Fu e Xu (2009), propôs o uso de resveratrol no tratamento da doença hepática gordurosa não alcoólica, pois este impedia o acúmulo de triglicerídeos nas células hepáticas por inibir do fator de transcrição SREBP, e conseqüentemente aumentava a expressão das sirtuinas 1 (BAUR; SINCLAIR, 2010; TENNEN; KIOI; CHUA, 2012).

Resveratrol também tem sido demonstrado para reduzir a inflamação através da inibição das prostaglandinas, por reduzir a atividade de ciclooxigenase-2 e do fator nuclear-kB (NF-kB) (SHANKAR; SINGH; SRIVASTAVA, 2007). Os mediadores inflamatórios podem estimular ativação das células estreladas hepáticas (HSC), é concebível que o efeito anti-inflamatório do resveratrol pode contribuir para a sua atividade antifibrótica no fígado doente através da inibição da ativação das células estreladas hepáticas (WALLACE; BURT; WRIGHT, 2008).

3 OBJETIVOS

Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do uso do resveratrol na função hepática de ratas Wistar com obesidade induzida.

REFERÊNCIAS

- ADAMS, L. A.; ANGULO, P. Recent concepts in nonalcoholic fatty liver disease. **Diabetic Medicine**, v. 22, p. 1129-33, 2005.
- ADAMS, L. A.; TALWALKAR, J. A. Diagnostic evaluation of nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 40, p. S34-S38, 2006.
- AHN, J. et al. Dietary resveratrol alters lipid metabolism-related gene expression of mice on an atherogenic diet. **Journal of Hepatology**, v. 49, p. 1019-1028, 2008.
- ANDERSON, J. W.; KONZ, E. C. Obesity and disease management: effects of weight loss on comorbid conditions. **Obesity Research**, v. 9, n. 4, p. 326-334, 2001.
- ARICHI, H. et al. Effects of stilbene components of the roots of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. on lipid metabolism. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, Tokyo, v. 30, p. 1766-1770, 1982.
- ATHAR, M. et al. Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevention. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 224, p. 274-283, 2007.
- BACON, B. R.; FARAHVASH, M. J.; JANNEY, C. G. Nonalcoholic steatohepatitis: an expanded clinical entity. **Gastroenterology**, v. 107, p. 1103-9, 1994.
- BAILE, C. A. et al. Effect of resveratrol on fat mobilization. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1215, p. 40-47, 2011.
- BARROS, C. R. et al. Implementação de programa estruturado de hábitos de vida saudáveis para redução de risco cardiometabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 57, n. 1, fev. 2013.
- BASHO, S. M.; BIN, M. C. Propriedades dos alimentos funcionais e seu papel na prevenção e controle da hipertensão e diabetes. **Interbio**, v. 4, n. 1, p. 48-58, 2010.
- BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the *in vivo* evidence. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 5, p. 493-506, 2006.
- _____. Sirtuins, and the promise of a DR mimetic. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 131, p. 261-269, 2010.
- BAVARESCO, L. Role of viticultural factors on stilbene concentrations of grapes and wine. **Drugs under Experimental and Clinical Research**, v. 29, p. 181-187, 2003.
- BAYARD, M. M. D.; HOLT, J. M. D.; BOROUGHS, E. M. D. Nonalcoholic fatty liver disease. **American Family Physician**, v. 73, n. 11, p. 1961-1969, 2006.
- BELGUENDOUZ, L.; FREMONT, L.; LINARD, A. Resveratrol inhibits metal ion-dependent and independent peroxidation of porcine low-density lipoproteins. **Biochemical Pharmacology**, v. 53, p. 1347-1355, 1997.

BELLENTANI, S.; MARINO, M. Epidemiology and natural history of non alcoholic fatty liver disease (NAFLD). **Annals of Hepatology**, v. 8, p. S4-8, 2009.

BERGMAN, R.; MITTELMAN, S. Central role of the adipocyte in insulin resistance. **Journal of Basic and Clinical Physiology and Pharmacology**, v. 9, p. 205-221, 1998.

BERTELLI, A. A. et al. Antiplatelet activity of synthetic and natural resveratrol in red wine. **International Journal of Tissue Reactions**, v. 17, p. 1-3, 1995.

_____. Resveratrol inhibits TNF alpha-induced endothelial cell activation. **Therapie**, v. 56, p. 613-616, 2001.

BRANDÃO, A. A. Blood pressure and overweight in adolescence and their association with insuline resistance and metabolic syndrome. **Journal of Hypertension**, v. 22, supl.1, 2004.

BRITO, P.; ALMEIDA, L. M., DINIS, T. C. The interaction of resveratrol with ferrylmyoglobin and peroxynitrite; protection against LDL oxidation. **Free Radical Research**, v. 36, p. 621-631, 2002.

BRITO, P. M. **Papel do resveratrol no contexto da prevenção da aterosclerose: mecanismos moleculares envolvidos na apoptose e proliferação celular**. 2007. Dissertação (Doutorado em Bioquímica) - Faculdade de Farmácia da Universidade de Coimbra, Portugal.

BRUNT, E. M. Nonalcoholic steatohepatitis: definition and pathology. **Seminars in Liver Disease**, v. 21, p. 3-16, 2001.

_____. Nonalcoholic steatohepatitis. **Seminars in Liver Disease**, v. 24, p. 3-20, 2004.

BUGIANESI, E.; LEONE, N.; VANNI, E. Expanding the natural history of nonalcoholic steatohepatitis: from cryptogenic cirrhosis to hepatocellular carcinoma. **Gastroenterology**, v. 123, p. 134-40, 2002.

BURT, A. D.; MUTTON, A.; DAY, C. P. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. **Seminars in Diagnostic Pathology**, v. 15, p. 246-258, 1998.

CANDELARIO-JALIL, E. et al. Resveratrol potently reduces prostaglandin E2 production and free radical formation in lipopolysaccharide-activated primary rat microglia. **Journal of Neuroinflammation**, v. 4, p. 25, 2007.

CAO, Z.; LI, Y. Potent induction of cellular antioxidants and phase 2 enzymes by resveratrol in cardiomyocytes: protection against oxidative and electrophilic injury. **European Journal of Pharmacology**, v. 489, p. 39-48, 2004.

CARDOSO, J.; MARTINS, J.; BENITES, J. et al. **Uso de alimentos termogênicos no tratamento da obesidade**. 2010. 18 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Centro de Ciências da Saúde, Instituto de Nutrição Josué

de Castro, Universidade Federal do Rio de Janeiro - Universidade do Brasil, Rio de Janeiro.

CARLUCCIO, M. A. et al. Olive oil and red wine antioxidant polyphenols inhibit endothelial activation: antiatherogenic properties of Mediterranean diet phytochemicals. **Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology Journal**, v. 23, p. 622-629, 2003.

CARNEIRO, G.; FARIA, N. A.; RIBEIRO FILHO, F. F. Influence of body fat distribution on the prevalence of arterial hypertension and other cardiovascular risk factors in obese patients. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 49, n. 3, p. 306-311, 2003.

CAVALLARO, A. et al. Effect of resveratrol on some activities of isolated and in whole blood human neutrophils. **Physiological Research**, v. 52, p. 555-562, 2003.

CHARATCHAROENWITTHAYA, P.; LINDOR, K. D. Role of radiologic modalities in the management of non alcoholic steatohepatitis. **Clinical Liver Disease**, v. 11, n. 1, p. 37-54, 2007.

CHAVES, G. V. et al. Associação entre doença hepática gordurosa não alcoólica e marcadores de lesão/função hepática com componentes da síndrome metabólica em indivíduos obesos classe III. **Revista da Associação Médica Brasileira**, v. 58, n. 3, 2012.

CHEN, C. K.; PACE-ASCIAK, C. R. Vasorelaxing activity of resveratrol and quercetin in isolated rat aorta. **General Pharmacology**, v. 27, p. 363-366, 1996.

CONTOS, M. J.; SANYAL, A. J. The clinicopathologic spectrum and management of nonalcoholic fatty liver disease. **Advances in Anatomic Pathology**, v. 9, p. 37-51, 2002.

COTRIM, H. P. et al. Nonalcoholic fatty liver disease in Brazil, clinical and histological profile. **Annals of Hepatology**, v. 10, p. 33-7, 2011.

CSISZAR, A. et al. Resveratrol attenuates TNF-alpha-induced activation of coronary arterial endothelial cells: role of NF-kappaB inhibition. **American Journal of Physiology: Heart and Circulatory Physiology**, v. 291, p. H1694-H1699, 2006.

DAS, D. K.; MAULIK, N. Resveratrol in cardioprotection: a therapeutic promise of alternative medicine. **Molecular Interventions**, v. 6, p. 36-47, 2006.

DAY, C. P.; JAMES, O. F. W. Steatohepatitis: a tale of two "hits"? **Gastroenterology**, p.114-842, 1998.

DEFRONZO, R. A.; FERRANNINI, E. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. **Diabetes Care**, v. 14, n. 3, p. 173-94, 1991.

DIEHL, A. M.; GOODMAN, Z.; ISHAK, K. G. A clinical and histologic comparison with alcohol-induced liver injury. **Gastroenterology**, v. 95, p. 1056-62, 1988.

DIEZ, M.; NGUYEN, P. The epidemiology of canine and feline obesity. **Waltham Focus**, v. 16, n. 1, p. 2-8, 2006.

DOBRYDNEVA, Y.; WILLIAMS, R. L.; BLACKMORE, P. F. Trans-Resveratrol inhibits calcium influx in thrombin-stimulated human platelets. **British Journal of Pharmacology**, v. 128, p. 149-157, 1999.

DOBRYDNEVA, Y. et al. Diethylstilbestrol and tetrahydrochrysenes are calcium channel blockers in human platelets: relationship to the stilbene pharmacophore. **Thrombosis Research**, v. 110, p. 23-31, 2003.

ESCRIVÃO, M. A. M. S. et al. Obesidade exógena na infância e na adolescência. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 76, supl. 3, p. 305-310, 2000.

FAUCONNEAU, B. et al. Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from *Vitis vinifera* cell cultures using in vitro tests. **Life Sciences**, v. 61, p. 2103-2110, 1997.

FERRERO, M. E. et al. Activity in vitro of resveratrol on granulocyte and monocyte adhesion to endothelium. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 68, p. 1208-1214, 1998.

FISCHER-POSOVSKY, P. et al. Resveratrol regulates human adipocyte number and function in a Sirt1-dependent manner. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 92, p. 5-15, 2010.

FITZPATRICK, D. F.; HIRSCHFIELD, S. L.; COFFEY, R. G. Endothelium-dependent vaso-relaxing activity of wine and other grape products. **American Journal of Physiology**, v. 265, p. H774-H777, 1993.

FLEGAL, K. M. et al. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults 1999–2010. **Journal of the American Medical Association**, v. 307, p. 491-497, 2012.

FRANKEL, E. N., WATERHOUSE, A. L., KINSELLA, J. E. Inhibition of human LDL oxidation by resveratrol. **The Lancet**, v. 341, p. 1103-1104, 1993.

FREMONT, L., BELGUENDOZ, L., DELPAL, S. Antioxidant activity of resveratrol and alcohol-free wine polyphenols related to LDL oxidation and polyunsaturated fattyacids. **Life Sciences**, v. 64, p. 2511-2521, 1999.

FRÉMONT, L. Biological effects of resveratrol. **Life Sciences**, v. 66, p. 663-673, 2000.

FRIEDMAN, S. L. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. **Physiological Reviews**, v. 88, p. 125-172, 2008a.

- FRIEDMAN, S. L. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. **Gastroenterology**, v. 134, p. 1655-1669, 2008b.
- GALVÃO, R. et al. Efeitos de diferentes graus de sensibilidade à insulina na função endotelial de pacientes obesos. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 98 n. 1, 2011.
- GERLACH, A. Ácido graxo ômega-3 e resveratrol mantêm a síntese dos lipídios da célula estalada hepática, preservando fenótipo quiescente (linhagem celular GRX). In: SALÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 17., 2005, Porto Alegre. **Anais...** Porto Alegre: UFRGS, 2005. p. 17-21.
- GIULIANO, I. C. B.; COUTINHO, M. S. S. A.; FREITAS, S. F. T. Lípidos séricos em crianças e adolescentes de Florianópolis. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 85, n. 2, p.23-30, 2005.
- GOLDBERG, D. M.; HAHN, S. E.; PARKES, J. G. Beyond alcohol: beverage consumption and cardiovascular mortality. **Clinica Chimica Acta**, v. 237, p. 155-187, 1995.
- HOWITZ, T. K. et al. Ativadores de pequenas moléculas de sirtuínas extend *Saccharomyces cerevisiae* vida. **Nature**, v. 426, p. 119, 2003.
- HÜBSCHER, S. G. Role of liver biopsy in the assessment of non-alcoholic fatty liver disease. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, v. 16, p. 1107-1115, 2004.
- HURSEL, R.; WESTERTER-PLANTENGA, M. S. Thermogenic ingredients and body weight regulation. **International Journal of Obesity**, v. 34, p. 659-669, 2010.
- JAMES, P. et al. The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies. **European Journal of Cardiovascular Prevention & Rehabilitation**, v. 11, p. 3-8, 2004.
- JONSSON, S.; HEDBLAD, B.; ENGSTROM, G. Influence os obesity on cardiovascular risk. Twenty-threeyear follow-up pf 22025 men from an urban Swedish population. **International Journal of Obesity and related Metabolic Disorders**, v. 26, n. 8, p. 1046-1053, 2002.
- KIMURA, Y.; OKUDA, H.; ARICHI, S. Effects of stilbenes on arachidonate metabolism in leukocytes. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 834, p. 275-278, 1985.
- KIM, Y. A. et al. Resveratrol inhibits nitric oxide and prostaglandin E2 production by lipopolysaccharide-activated C6 microglia. **Journal of Medicinal Food**, v. 10, p. 218-224, 2007.
- KOMATSU, T. R.; BURITI, F. C. A.; SAAD, S. M. I. Inovação, persistência e criatividade superando barreiras no desenvolvimento de alimentos probióticos.

Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas, v. 44, n. 3, p. 329-347, jul./set. 2008.

KUNDU, J. K. et al. Resveratrol inhibits phorbol ester-induced expression of COX-2 and activation of NF-kappaB in mouse skin by blocking IkappaB kinase activity. **Carcinogenesis**, v. 27, p. 1465-1474, 2006.

LAGOUGE, M. et al. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. **Cell**, v. 27, p. 1109-1122, 2006.

LAMARÃO, R. C.; FIALHO, E. Aspectos Funcionais das Catequinas de chá verde no metabolismo celular e sua relação com a redução da gordura corporal. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 22, n. 2, p. 257-269, mar./abr. 2009.

LAM, B.; YOUNOSSI, Z. M. Treatment options for nonalcoholic fatty liver disease. **Therapeutic Advances in Gastroenterology**, v. 3, p. 121-37, 2010.

LAU, D. et al. Adipokines and the paracrine control of their production in obesity and diabetes. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders**, v. 26, S111, 2002.

_____. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. **American Journal of Heart and Circulatory Physiology**, v. 288, p. 2031-2041, 2005.

LEE, R. G. General principles. In: LEE, R. G. **Diagnostic liver pathology**. St. Louis, MO: Mosby-year Book, 1994. p. 1-21.

LEMIEUX, I. et al. Hypertriglyceridemic waist. A marker of the atherogenic metabolic triad (hyperinsulinemia, hyperapolipoprotein B, small dense LDL) in men. **Circulation**, v. 101, p. 179-84, 2000.

LI, H. F.; CHEN, S. A.; WU, S. N. Evidence for the stimulatory effect of resveratrol on Ca(2+)-activated K⁺ current in vascular endothelial cells. **Cardiovascular Research**, v. 45, p. 1035-1045, 2000.

LI, H. F. et al. A study of mechanisms involved in vasodilatation induced by resveratrol in isolated porcine coronary artery. **Physiological Research**, v. 55, p. 365-372, 2006.

LIU, I.; KOWDLEY, K. V. Natural history of nonalcoholic steatohepatitis. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 40, p. S11-S16, 2006.

LUDWIG, J. et al. Nonalcoholic steatohepatitis: Mayo Clinic experiences with a hitherto unnamed disease. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 55, p. 434-438, 1980.

MACCARRONE, M. et al. Resveratrol prevents apoptosis in K562 cells by inhibiting lipoxygenase and cyclooxygenase activity. **European Journal of Biochemistry**, v. 265, p. 27-34, 1999.

MADER, I. et al. Identification of a novel proapoptotic function of resveratrol in fat cells: SIRT1-independent sensitization to TRAIL-induced apoptosis. **FASEB Journal**, v. 14, p. 1997-2009, 2010.

MANZU, F.; ALVEAR, C.; ALAYÓN, A. N. Adipocitos, obesidad visceral, inflamación y enfermedad cardiovascular. **Revista Colombiana de Cardiología**, Bogotá, v. 17, n. 5, sep./oct. 2010.

MARCHESINI, G. et al. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of metabolic syndrome. **Diabetes**, v. 50, p. 1884-1850, 2001.

MARQUES, A. C. et al. Efeito da linhaça (*Linum usitatissimum L.*) sob diferentes formas de prepare na resposta biológica em ratos. **Revista de Nutrição**, Campinas, p. 131-141, 2008.

MÁRQUEZ, M. F. et al. Prevalence and associated factors to non alcoholic steatohepatitis in obese patients subjected to bariatric surgery. **Cirugía Española** (English Edition), v. 84, p. 313-317, 2008.

MATTEONI, C. A.; YOUNOSSI, Z. M.; GRAMLICH, T. Non alcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. **Gastroenterology**, v. 116 p. 1413-1419, 1999.

MAZUREK, T.; ZHANG, L.; ZALEWSKI, A. Human epicardial adipose tissue is a source of inflammatory mediators. **Circulation**, v. 108, p. 2460-2466, 2003.

MCCULLOUGH, A. J. Update on nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Clinical Gastroenterology**, v. 34, p. 255-262, 2002.

MIURA, D., MIURA, Y., YAGASAKI, K. Hypolipidemic action of dietary resveratrol, a phytoalexin in grapes and red wine, in hepatoma-bearing rats. **Life Sciences**, v. 73, p. 1393-1400, 2003.

MOFRAD, P.; CONTOS, M. J.; HAQUE, M. Clinical and histologic spectrum of non alcoholic fatty liver disease associated with normal ALT values. **Hepatology**, v. 37, p. 1286-1292, 2003.

NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM [NCEP III]. Third report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III): final report. [S.l.]: National Institute of Health, National Heart, Lung and Blood Institute, 2002.

NOVAKOVIC, A. et al. The mechanism of endothelium-independent relaxation induced by the wine polyphenol resveratrol in human internal mammary artery. **Journal of Pharmacological Sciences**, v. 101, p. 85-90, 2006.

- OLAS, B. et al. Effect of resveratrol, a natural polyphenolic compound, on platelet activation induced by endotoxin or thrombin. **Thrombosis Research**, v. 107, p. 141-145, 2002.
- OLIVEIRA, C. N.; COSTA, R. G.; RIBEIRO, R. L. Obesidade abdominal associada à fatores de risco à saúde em adultos. **Saúde & Ambiente em Revista**, Duque de Caxias, v. 3, n. 1, p. 34-43, jan./jun. 2008.
- ORALLO, F. et al. The possible implication of trans-Resveratrol in the cardioprotective effects of longterm moderate wine consumption. **Molecular Pharmacology**, v. 61, p. 294-302, 2002.
- PACE-ASCIAK, C. R. et al. The red wine phenolics trans-resveratrol and quercetin block human platelet aggregation and eicosanoid synthesis: implications for protection against coronary heart disease. **Clinica Chimica Acta**, v. 235, p. 207-219, 1995.
- PAL, S. et al. Red wine polyphenolics increase LDL receptor expression and activity and suppress the secretion of ApoB100 from human HepG2 cells. **Journal of Nutrition**, v. 133, p. 700-706, 2003.
- PENDURTHI, U. R.; RAO, L. V. Resveratrol suppresses agonist-induced monocyte adhesion to cultured human endothelial cells. **Thrombosis Research**, v. 106, p. 243-248, 2002.
- PEREIRA, L. O. et al. Obesidade e suas implicações: ação da atividade física e controle nutricional. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica**, Posto Alegre, v. 14, p. 9-17, 1999.
- PICARD, F. et al. Sirt1 promotes fat mobilization in white adipocytes by repressing PPAR-gamma. **Nature**, v. 429, p. 771-776, 2004.
- PINTO, M. C.; GARCIA-BARRADO, J. A.; MACIAS, P. Resveratrol is a potent inhibitor of the dioxygenase activity of lipoxygenase. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 4842-4846, 1999.
- PUDDU, P.; PUDDU, G. M.; MUSCARI, A. Peroxisome proliferators-activated receptors: are they involved in atherosclerosis progression. **International Journal of Cardiology**, v. 90, p. 133-40, 2003.
- RAYALAM, S. et al. Resveratrol potentiates genistein's antiadipogenic and proapoptotic effects in 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Nutrition**, v. 137, p. 2668-2673, 2007.
- REILLY, M. P. et al. Plasma cytokines, metabolic syndrome, and atherosclerosis in humans. **Journal of Investigative Medicine**, v. 55, p. 26-35, 2007.
- RIBEIRO DE LIMA, M. T. et al. Determination of stilbenes (trans-astringin, cis- and trans-piceid, and cis- and trans-resveratrol) in Portuguese wines. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 47, p. 2666-2670, 1999.

ROSA, E. C. et al. Obesidade visceral, hipertensão arterial e risco cárdio-renal: uma revisão. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49, n. 2, p. 196-204, abr. 2005.

RUSH, J. W. et al. Chronic resveratrol enhances endothelium-dependent relaxation but does not alter eNOS levels in aorta of spontaneously hypertensive rats. **Experimental Biology and Medicine (Maywood.)**, v. 232, p. 814-822, 2007.

SANYAL, A. J. AGA technical review on non alcoholic fatty liver disease. **Gastroenterology**, v. 123, p. 1705-1725, 2002.

SHARMA, S. et al. Resveratrol and curcumin suppress immune response through CD28/CTLA-4 and CD80 co-stimulatory pathway. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 147, p. 155-163, 2007.

SAUTTER, C. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 25, p. 437-442, jul./set. 2005.

SCHILD, B.; SANTOS, L. N.; ALVES, M. K. Nonalcoholic fatty liver disease and its association with metabolic syndrome in the preoperative period in patients undergoing bariatric surgery. **Associação Médica Brasileira**, v. 2, p. 155-160, 2012.

SHANG, J. et al. Resveratrol improves non-alcoholic fatty liver disease by activating AMP-activated protein kinase. **Acta Pharmacologica Sinica**, v. 29, p. 698-706, 2008.

SHANKAR, S.; SINGH, G.; SRIVASTAVA, R. K. Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential. **Frontiers in Bioscience**, v. 12, 4839-4854, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, supl. 1, 2005.

SORRENTINO, P.; TARANTINO, G.; CONCA, P. Silent non-alcoholic fatty liver disease – a clinical histological study. **Journal of Hepatology**, v. 41, p. 751-757, 2004.

SZKUDELSKA, K.; NOGOWSKI, L.; SZKUDELSKI, T. Resveratrol, a naturally occurring diphenolic compound, affects lipogenesis, lipolysis and the antilipolytic action of insulin in isolated rat adipocytes. **Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology**, v. 113, p. 17-24, 2009.

SZKUDELSKA, K.; SZKUDELSKI, T. Resveratrol, obesity and diabetes. **European Journal of Pharmacology**, v. 635, p. 1-8, 2010.

- TARANTINO, G. et al. Non alcoholic fatty liver disease: further expression of the metabolic syndrome. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 22, p. 293-303, 2007.
- TELI, M. R.; JAMES, O. F. W.; BURT, A. D. The natural history on nonalcoholic fatty liver disease: a follow-up study. **Hepatology**, v. 22, p. 1714-1719, 1995.
- TENNEN, R. I.; KIOI, E. M.; CHUA, K. F. Finding a target for resveratrol. **Cell**, v. 148, n. 3, p. 387-389, feb. 2012.
- THAMER, K. G.; PENNA, A. L. B. Caracterização de bebidas lácteas funcionais fermentadas por probióticos e acrescidas de prebiótico. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 26, n. 3, p. 589-595, jul./set, 2006.
- TSAI, S. H.; LIN-SHIAU, S. Y.; LIN, J. K. Suppression of nitric oxide synthase and the down-regulation of the activation of NFkappaB in macrophages by resveratrol. **British Journal of Pharmacology**, v. 126, p. 673-680, 1999.
- VASTANO, B. C. et al. Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 48, p. 253-256, 2000.
- VERGES, B. Insulin sensitivity and lipids. **Diabetes & Metabolism**, v. 27, p. 223-227, 2001.
- VIGITEL. **Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico**. Brasília: Ministério da Saúde, 2011.
- WALLACE, K.; BURT, A. D.; WRIGHT, M. C. Liver fibrosis. **Biochemical Journal**, v. 411, p. 1-18, 2008.
- WANG, G. L.; FU, Y. C.; XU, W. C. Resveratrol inhibits the expression of SREBP1 in cell model of steatosis via Sirt1-FOXO1 signaling pathway. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 380, p. 644-649, 2009.
- WANG, Z. et al. Effect of resveratrol on platelet aggregation *in vivo* and *in vitro*. **Chinese Medical Journal (English Edition)**, v. 115, p. 378-380, 2002.
- WANLESS, I. R.; SHIOTA, K. The pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis and other fatty liver diseases: a four step model including the role of lipid release and hepatic venular obstruction in the progression to cirrhosis. **Seminars in Liver Disease**, v. 24, p. 99-106, 2004.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Obesity: preventing and managing the global epidemic. **Report of a WHO Consultation on Obesity**, Geneva, 1998.
- ZAFRANI, E. S. Non-alcoholic fatty liver disease: an emerging pathological spectrum. **Virchows Archiv**, v. 444, p. 3-12, 2004.

ZANELLA, M. T. Obesidade como fator de risco cardiovascular. **Revista Brasileira de Hipertensão**, Rio de Janeiro, v. 7, n. 2, p. 127, 2000.

ZBIKOWSKA, H. M.; OLAS, B. Antioxidants with carcinostatic activity (resveratrol, vitamin E and selenium) in modulation of blood platelet adhesion. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v. 51, p. 513-520, 2000.

ZOU, J. G. et al. Resveratrol inhibits copper ion-induced and azo compound-initiated oxidative modification of human low density lipoprotein. **International Journal of Biochemistry and Molecular Biology**, v. 47, p. 1089-1096, 1999.

ARTIGO CIENTÍFICO

Efeitos do resveratrol na função hepática de ratas Wistar obesas

Nádia A Miguel¹, Sílvia F Andrade¹, Gisele A Nai¹, Cecília Laposy¹, Felipe F Nascimento², Heloíse R Dinallo², Wellington J Santos², Alessandra Melchert³

Resumo

A obesidade vem se destacando como um dos mais importantes problemas de saúde pública e sua incidência aumentou muito nas duas últimas décadas. Como consequência traz uma série de prejuízos metabólicos e sobrecarga ao sistema cardiovascular e fígado. O resveratrol, presente em diversos frutos como as uvas, vem sendo investigado com ênfase na última década, devido a seus efeitos antioxidantes. Este estudo avaliou os efeitos da suplementação com o resveratrol sobre o perfil lipídico e hepático de ratas Wistar submetidas à dieta hiperlipídica para indução da obesidade. Sessenta e quatro ratas Wistar foram distribuídas em 4 grupos (n=16): Grupo Controle (C); Grupo Controle Obeso (CO); Grupo Resveratrol (R) e Grupo Resveratrol Obeso (RO). Os animais dos grupos C e R foram alimentados com ração comercial para ratos e os animais dos Grupos CO e RO foram alimentados com dieta palatável hiperlipídica (DPH) durante 12 semanas. Após 6 semanas, os animais dos grupos C e CO receberam suplementação de placebo, via oral, por gavagem e os animais dos grupos R e RO receberam suplementação de 30mg de resveratrol diluído em meio aquoso, via oral, por gavagem, durante 6 semanas. Ao final das 12 semanas os animais foram submetidos à anestesia geral para coleta de sangue e posterior eutanásia. Foram avaliados os parâmetros peso corporal, peso do fígado, peso da gordura retroperitoneal, perfis lipídico e hepático séricos e análise histopatológica do fígado. A administração de resveratrol durante 6 semanas não induziu perda de peso corporal e também não reduziu os parâmetros do perfil lipídico, porém diminuiu as enzimas hepáticas aspartato aminotransferase (AST) e fosfatase alcalina (FA) e produziu menor ocorrência de esteatose (75%) no grupo RO em comparação com o grupo CO (81,25%). Desta maneira, concluímos que a suplementação do resveratrol pelo período curto de 6 semanas, promoveu um efeito benéfico sobre a função hepática por meio da redução da esteatose hepática e das enzimas hepáticas AST e FA em ratas obesas.

¹ Mestrado em Ciência Animal da Universidade do Oeste Paulista.

² Curso de Medicina Veterinária da Universidade do Oeste Paulista, ³Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista – Unesp, Botucatu, SP.

Palavras-chave-: resveratrol; obesidade; quimioproteção; doença hepática gordurosa não alcoólica; fibrose hepática.

Título abreviado: Resveratrol fígado ratas Wistar obesas

Abreviações: C, Grupo Controle; CO, Grupo Controle Obeso; R, Grupo Resveratrol; RO, Grupo Resveratrol Obeso; DPH, Dieta palatável hiperlipídica; AST, Aspartato aminotransferase; ALT, Alanina aminotransferase; FA, Fosfatase alcalina; LDL colesterol, Lipoproteína de baixa densidade; HDL colesterol, Lipoproteína de alta densidade; HSC, Células estreladas hepáticas; DHGNA, Doença hepática gordurosa não alcoólica; EHNA, Esteato-hepatite não alcoólica; LHS, Lipase hormônio sensível.

Introdução

A obesidade é caracterizada pelo excesso de gordura corpórea, decorrente principalmente de um desequilíbrio entre o excesso de ingestão calórica e o baixo gasto energético, associados à má alimentação e hábitos de exercícios físicos inadequados. A prevalência de obesidade (índice de massa corporal superior a 30 kg/m²) aumentou dramaticamente em todo o mundo nas últimas duas décadas. Em 2009-2010, dentre a população adulta dos EUA, 35,5% dos homens e 35,8% das mulheres eram obesos.¹³ Sobrepeso e obesidade são considerados importantes problemas de saúde pública, uma vez estão se disseminando pelo mundo em todas as faixas de idade, atingindo não só adultos, mas também muitas crianças e adolescentes. Em animais de companhia como cães e gatos, sua incidência já superiora aos 20% na maioria dos países industrializados.¹¹

Obesidade provoca efeitos negativos na qualidade de vida e é associada a diversas comorbidades, como diabetes mellitus, acidente vascular cerebral e hipertensão arterial.²⁰ É uma doença crônica e progressiva que predispõe ao aumento da taxa de mortalidade, como demonstrado em diversos estudos populacionais.²⁹ Sua importância torna-se ainda maior quando se observa que sua prevalência vem aumentando drasticamente, tanto em países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento, como o Brasil.²⁹ Trata-se de doença multifatorial que se relaciona com componentes culturais, ambientais, socioeconômicos, psicológicos e genéticos.²

Distúrbios típicos de indivíduos obesos são denominados síndrome metabólica e incluem: resistência à insulina; níveis aumentados de insulina plasmática; obesidade

central; alterações do colesterol total e suas frações, com altos níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) e baixos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL); níveis elevados de triglicérides; hipertensão arterial, entre outros.¹⁰ O principal risco atribuído à obesidade/síndrome metabólica diz respeito às implicações cardiovasculares a que ela está associada,²¹ em virtude de sua relação com outros fatores de risco, como a hipertensão, a resistência à insulina e a dislipidemia.⁷

A doença hepática gordurosa não alcoólica vem sendo apontada como mais uma característica associada à síndrome metabólica.²⁴ Ela engloba um aumento de ácidos graxos livres concomitante a um decréscimo da beta oxidação promovendo a maior susceptibilidade à fibrose hepática.²⁴ Fibrose hepática é uma resposta de cicatrização à lesão hepática crônica que culmina em cirrose e danos graves ao fígado. Na fibrose hepática, as células estreladas hepáticas (HSC) quiescentes se ativam, proliferam e passam a expressar um fenótipo miofibroblástico ativado, perdendo as gotas lipídicas, vitamina A e aumentando a secreção de matriz extracelular.^{15,16} Agentes terapêuticos que bloqueiam a ativação da célula estrelada hepática, isto é, diminuindo a proliferação e mantendo o fenótipo lipocítico, constituem uma forma de tratamento para a fibrose.²⁶

A população mundial demonstra crescente preocupação com a alimentação e seus constituintes, incentivando, deste modo, o investimento da indústria em produtos saudáveis, os chamados alimentos e suplementos funcionais.²⁶ A grande procura por meios que favoreçam uma vida saudável tem impulsionado as pesquisas por novas substâncias, capazes de satisfazer tais necessidades. Entre estas substâncias encontram-se os polifenóis como o resveratrol que está presente em diversas plantas, em especial nas uvas e seus derivados.²⁶

O resveratrol (trans-3,5,4'-trihidroxiestilbeno) é uma fitoalexina natural encontrada nas uvas e seus derivados como vinhos tintos, que tem sido relatado por apresentar uma grande variedade de propriedades farmacológicas.³ Apresenta propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, modula o metabolismo lipídico, por atenuar peroxidação lipídica hepática,^{14,5} além de atuar na prevenção de doenças cardiovasculares.

Os efeitos do resveratrol sobre a lipólise foram relatados onde observou reforçada resposta lipolítica à adrenalina induzida por resveratrol, sugerindo que este resultado seja devido a um aumento de AMPc em adipócitos.²⁸ Efeitos sobre a redução da inflamação, via inibição das prostaglandinas mediada por inibição da atividades das ciclooxigenase-2 e do fator nuclear kB (NF-kB), também foram relatados.²⁷ Os

mediadores inflamatórios podem estimular a ativação das células estreladas hepáticas (HSC).³⁰ Assim, o efeito anti-inflamatório do resveratrol pode contribuir para a atividade antifibrótica no fígado com injúria, por meio da inibição da ativação das células estreladas. Recentemente, o resveratrol tem sido proposto como substância com potencial anti-obesidade.^{22,4} Parece ter efeitos na restrição de energia, levando à redução da gordura corporal e aumentando a sensibilidade à insulina.^{22,4} O resveratrol está agora disponível nos diferentes tipos de sucos de uva, o que favorece sua utilização em todos os níveis sócioeconômicos.²⁶ Este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do uso do resveratrol na função hepática de ratas Wistar com obesidade induzida.

Materiais e Métodos

Local e Animais. O estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) protocolo nº. 1195 da Universidade do Oeste Paulista. Foram utilizadas 64 ratas Wistar, adultas com 8 semanas de idade, de peso corporal entre 200 e 250g, provenientes do Biotério Central da UNOESTE – Campus II. Durante o experimento os animais foram mantidos no Biotério Experimentação Animal do Campus II da Unoeste, em caixas de polipropileno agrupados em 4 animais por caixa, com livre acesso a água e alimento, com fotoperíodo de 12 horas para ciclos claro/escuro, temperatura média de $22^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, por 12 semanas, sendo realizada a eutanásia ao final do experimento.

Delineamento experimental. Os animais receberam dietas específicas durante 12 semanas. Nas seis primeiras semanas do experimento as ratas foram divididas em 2 grupos (n=32) que receberam dois tipos de dieta: ração comercial para ratos (LABINA®) (grupo controle); dieta palatável hiperlipídica (DPH) (grupo obeso). Nas últimas 6 semanas foram divididos em quatro grupos (n=16) de acordo com as dietas e suplementação adotados:

- **Grupo Controle (C):** animais alimentados com ração comercial Labina® (Purina) “*ad libitum*”, suplementados diariamente com placebo (0,5 mL de água filtrada) em dose única por gavagem.
- **Grupo Resveratrol (R):** animais alimentados com ração comercial Labina® (Purina) “*ad libitum*”, mais suplementação diária de resveratrol na dose de 30 mg/kg/dia diluídos

em 0,5 mL de água filtrada,^{18,32,1} em dose única, por gavagem, sempre no mesmo período do dia.

- **Grupo Controle Obeso (CO):** animais alimentados com dieta palatável hiperlipídica (DPH), mais suplementação diária de placebo (0,5 ml de água filtrada) em dose única, por gavagem.

- **Grupo Resveratrol Obeso (RO):** animais alimentados com DPH, mais suplementação diária de resveratrol, realizada de modo similar ao grupo R.

A DPH utilizada foi a padronizada por Estadella¹² e consiste em uma mistura hipercalórica, normoprotéica e hiperlipídica contendo ração comercial LABINA®, amendoim torrado, chocolate ao leite e bolacha maisena na proporção 3:2:2:1 respectivamente. Esta dieta apresenta a seguinte composição: 20% de proteínas, 24% de lipídios, 41% de carboidratos, 5,9% de fibras e 5% de resíduos minerais com densidade calórica de 20,2 kJ/100g, sendo 35% das calorias provenientes de gorduras, após avaliação em calorímetro adiabático.⁶

Peso corporal: Durante as seis semanas finais do estudo (período de suplementação com resveratrol) foram aferidos o peso corporal das ratas, avaliado em gramas (g) em balança digital (ELC-10).

Anestesia e coleta de sangue. Ao final das 12 semanas do estudo, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (Thiopentax®), na dose 60 mg/kg, por via intraperitoneal, seguido da administração da tiletamina e zolazepam (Zoletil®) na dose de 30 mg/kg, via intramuscular. Foi então realizada coleta de sangue, por punção cardíaca, para as avaliações bioquímicas. O sangue foi colhido em tubos a vácuo, sem anticoagulante e, posteriormente, centrifugado a 3000 RPM por 15 minutos para obtenção do soro. A eutanásia foi realizada por meio de exanguinação por punção cardíaca, no momento da coleta de sangue. Foram verificados os parâmetros vitais tais como ausência de reflexos, movimentos respiratórios e registro eletrocardiográfico em eletrocardiógrafo computadorizado (ECG PC TEB®) compatível com a vida, para constatação do óbito.

Mensuração do perfil lipídico e hepático. Para determinação do perfil lipídico, foram avaliados triglicérides, colesterol total e HDL colesterol (lipoproteínas de alta densidade) e para o perfil hepático foram dosadas as enzimas fosfatase alcalina (FA), aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT). Os exames de colesterol e triglicérides foram realizados através do método colorimétrico enzimático, utilizando o Kit Labtest®. Os exames de HDL colesterol, FA, AST, ALT foram

realizados através do método cinético, utilizando também Kit Labtest[®]. Todos os exames foram dosados em analisador semi-automático (Quick Lab II - Drake[®]), no Laboratório de Patologia Clínica do Hospital Veterinário da Unoeste.

Peso do fígado e da gordura retroperitoneal. Após a eutanásia foram coletados o fígado e a gordura retroperitoneal, que tiveram seus pesos mensurados em gramas, em balança digital de precisão (Marte A500)[®].

Histopatológico. Amostras do fígado foram coletadas para análise histopatológica. Os fragmentos de fígado foram fixados em formol a 10% durante 24 horas e submetidos a processamento histológico habitual, com inclusão em parafina. Cortes de 5 micra foram obtidos e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE), sendo processados no Laboratório de Anatomia Patológica da Unoeste. Os cortes histológicos de fígado foram analisados em microscópio Labophot (Nikon[®]) em aumento de cem vezes e classificados quanto à presença de congestão, infiltrado inflamatório, colestase, esteatose e necrose hepática.

Análise Estatística. Os dados foram testados para normalidade pelo teste de Shapiro-Wilk. Para análise do peso corporal foi realizado teste de análise de variância para comparar as médias e desvios padrões nos grupos dentro de cada momento, com contrastes pelo método de Tukey. Para comparação entre momentos, dentro de cada grupo, recorreu-se ao teste de análise de variância para amostras repetidas, com contrastes pelo método de Sidak e validação dos pressupostos de esfericidade dos dados pelo teste de Mauchly. Para os dados referentes aos perfis lipídicos e hepáticos e peso dos órgãos, foi utilizado análise de variância para comparar as médias e desvios padrões nos diferentes grupos, com contraste pelo método de Tukey. O nível de significância adotado foi de 5%. Para a histopatologia hepática foi realizada análise descritiva.

Resultados

Peso corporal. Na evolução semanal em cada um dos grupos, o grupo CO apresentou aumento significativo do peso a partir da quinta semana do estudo, e o grupo RO revelou aumento do peso já a partir da segunda semana de suplementação. Os grupos C e R não apresentaram ganho de peso ($p > 0,05$) significativo nas seis semanas avaliadas. Na comparação entre os grupos, em cada uma das semanas do estudo, o grupo RO apresentou peso superior ao dos grupos C e R, da segunda a sexta semanas, e superior ao do grupo CO da segunda a quarta semanas de avaliação. O grupo CO revelou-se com peso significativamente superior ($p < 0,05$) ao dos grupos C e R apenas

nas semanas finais do estudo (quinta e sexta semanas). Não foram observadas diferenças significativas ($p>0,05$) de peso entre os grupos R e C (Tabela 1).

Perfil lipídico e hepático. Não houve diferença estatística significativa ($p>0,05$) nos valores médios obtidos de colesterol, HDL colesterol e triglicérides entre os grupos C, CO, R e RO (Tabela 3). Houve diferença estatística ($p<0,05$) nos valores de ALT do grupo RO que revelou valores significativamente superiores aos observados nos grupos C, CO e R. Nos parâmetros AST e FA houve diferença estatística ($p<0,05$), sendo que os valores foram significativamente menores nos grupos R e RO em relação aos grupos C e CO. Para a FA, valores significativamente elevados no grupo CO foram observados, em relação aos demais grupos. O grupo C apresentou elevação significativa ($p<0,05$) em relação aos grupos R e RO, e inferiores aos do grupo CO (Tabela 4). Os valores de colesterol, HDL colesterol, triglicérides, ALT, AST e FA estavam dentro dos valores de referência normais para espécie (Tabelas 3 e 4).

Tabela 1. Médias e desvios padrões do peso corpóreo em gramas durante 6 semanas de estudo em ratas Wistar dos grupos Controle, Controle Obeso, Resveratrol e Resveratrol Obeso.

Semanas	Peso (g)/Grupos			
	Controle	Controle Obeso	Resveratrol	Resveratrol Obeso
1 ^a	221,3±17,8 (Aa)*	212,1±19,3 (Aa)	207,5±14,5 (Aa)	221,2±17,8 (Aa)
2 ^a	209,0±13,5 (Aa)	222,2±18,7 (Aa)	210,9±15,1 (Aa)	234,7±18,4 (Bb)
3 ^a	210,2±16,2 (Aa)	225,7±20,3 (Aa)	215,6±16,5 (Aa)	239,9±22,8 (Bb)
4 ^a	214,0±15,8 (Aa)	223,1±29,2 (Aa)	222,3±16,3 (Aa)	251,3±25,7 (Bb)
5 ^a	216,4±16,3(Aa)	237,6±20,8 (Bb)	227,1±13,5 (Aa)	257,3±24,2 (Bb)
6 ^a	224,3±15,8 (Aa)	242,7±22,5 (Bb)	226,5±16,6 (Aa)	262,1±20,8 (Bb)

*Letras maiúsculas comparam grupos para cada momento e letras minúsculas comparam momentos para cada grupo. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p<0,05$).

Tabela 2. Médias e desvios padrões do peso do fígado e da gordura retroperitoneal em gramas após 6 semanas de estudo em ratas Wistar dos grupos Controle, Controle Obeso, Resveratrol e Resveratrol Obeso.

Grupos	Peso do Fígado (g)	Gordura Retroperitoneal (g)
Controle	6,6±0,5 (A)*	2,5±1,0 (A)
Controle obeso	7,5±1,1 (A)	3,3±1,5 (A)
Resveratrol	6,7±0,7 (A)	2,3±0,9 (A)
Resveratrol obeso	8,3±1,2 (B)	4,4±1,7 (B)

*Letras maiúsculas comparam grupos. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 3 – Médias e desvios padrões dos valores séricos em mg/dL de colesterol, triglicérides, HDL colesterol de ratas Wistar dos grupos Controle, Controle Obeso, Resveratrol e Resveratrol Obeso.

Grupos	Valores (mg/dL)		
	Colesterol	HDL colesterol	Triglicérides
Controle	54,3±12,1 (A)*	50,8±11,1 (A)	71,0±22,9 (A)
Controle obeso	63,5±14,3 (A)	50,1±12,5 (A)	79,1±22,6 (A)
Resveratrol	69,8±15,8 (A)	52,0±9,0 (A)	68,3±21,1 (A)
Resveratrol obeso	64,1±16,7 (A)	52,3±9,6 (A)	79,6±21,6 (A)

Valores de referência: Colesterol: 24-73 mg/dL e Triglicérides: 20-114 mg/dL; HDL colesterol: 48,0±11,4mg/dL.¹⁷

*Letras maiúsculas comparam grupos. Letras diferentes indicam diferenças significativas ($p < 0,05$).

Tabela 4. Médias e desvios padrões das enzimas hepáticas séricas em U/L de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT) e fosfatase alcalina (FA) de ratas Wistar dos grupos Controle, Controle Obeso, Resveratrol e Resveratrol Obeso.

Grupos	Valores (mg/dL)		
	ALT	AST	FA
Controle	29,9 ±7,9 (A)*	136,3±42,9 (A)	139,1±84,5 (A)
Controle obeso	31,7±7,2 (A)	138,5±60,0 (A)	186,4±55,5 (B)
Resveratrol	29,4 ±10,7 (A)	115,2±45,9 (C)	118,2±56,6 (C)
Resveratrol obeso	41,9 ±10,3 (B)	110,8±53,4 (C)	119,3±31,9 (C)

Valores de Referência: ALT: 16-48 U/L; AST: 65-203 U/L; FA: 26-147 U/L.¹⁷

*letras maiúsculas comparam grupos. Letras diferentes indicam diferenças significativas (p<0,05).

Histopatológico. Os achados histopatológicos demonstraram ausência de lesão no parênquima hepático, ausência de colestase e necrose no grupo C (Figura 1 - A1, A2 e A3) e ausência de necrose hepática também nos grupos CO, R e RO. O grupo R apresentou 87,5 % de congestão leve e 12,5% de congestão moderada, sendo que 87,5 % destas ratas apresentaram ausência de infiltrado inflamatório no parênquima hepático, em contraste 8% das ratas deste grupo apresentaram infiltrados inflamatórios com presença de linfócitos no espaço porta (Figura 1 – B1 e B2) e 4,5 % de neutrófilos, com ausência de esteatose. Nos grupos que receberam dieta hiperlipídica observamos a presença de esteatose hepática sendo que no grupo CO as ratas apresentaram 18,75% de congestão moderada, sem infiltrado inflamatório com 81,25% das ratas apresentando esteatose microvesicular difusa (Figura 1 – C1 e C2). Em contraste, o grupo RO apresentou congestão leve, sem infiltrado inflamatório, mas com 75% das ratas com esteatose microvesicular difusa e esteatose macrovesicular focal (Figura 1 – D1 e D2).

Discussão

No presente estudo, durante as 6 semanas de suplementação (resveratrol ou placebo), os grupos magros (C e R) não apresentaram ganho de peso corporal, porém nos grupos obesos (CO e RO) houve aumento significativo de peso. A administração de resveratrol (RO) não impediu o ganho de peso ressaltando que o ganho foi maior do que aquele observado no grupo CO. O peso do fígado e da gordura retroperitoneal também foram significativamente maiores no grupo RO. Estes resultados diferem de estudos publicados¹, onde se observou uma redução na gordura corporal de ratos alimentados com dieta hiperlipídica e suplementados com resveratrol, atribuindo-se esse efeito a uma diminuição da lipogênese e aos efeitos positivos do resveratrol sobre a lipólise devido ao aumento da enzima lipase hormônio-sensível (LHS), mostrando que a molécula de polifenol funciona nas diferentes formas de lipases e também ao aumento da resposta lipolítica à epinefrina induzida pelo resveratrol. Estes efeitos observados decorrem do aumento de AMP cíclico nos adipócitos.²⁸ De modo contrário a estes relatos, o resveratrol não foi capaz de impedir o ganho de peso no presente estudo. Entretanto, deve-se considerar que, as ratas foram alimentadas com DPH com 35% das calorias provenientes de lipídios ao passo que nos relatos mencionados a concentração de lipídios na DPH foi de 22,5%.^{6,1}

No perfil lipídico não houve alterações nas concentrações séricas de colesterol, HDL colesterol e triglicérides em todos os grupos experimentais discordando com estudos,⁹ onde foi investigado o efeito hipolipemiante do resveratrol por diminuição da expressão do mRNA da enzima HMG-CoA redutase (hidroxi 3 metil glutaril CoA redutase) que é uma enzima envolvida na síntese de colesterol (LDL colesterol) e outros isoprenóides via metabólica mevolonato. Estes autores relatam também que o resveratrol aumentou a razão entre apolipoproteínas apo A1 e Apo B, o principal componente proteico do HDL colesterol plasmático. Estes relatos foram realizados com 8 semanas de tratamento com resveratrol ao passo que no presente estudo a suplementação foi realizada durante 6 semanas. Na função hepática, a enzima ALT foi maior no grupo RO o que pode ser interpretado como uma evolução de esteatose hepática para esteato-hepatite²⁵ e também dados publicados no "Third National Health and Nutrition Survey" refletem uma significativa associação entre concentrações elevadas de ALT, resistência à insulina, diabetes mellitus tipo 2 e síndrome metabólica.²³ Já em relação à AST e FA, no presente estudo, foram estatisticamente menores nos grupos R e RO. A literatura indica que anormalidades em relação a AST e

FA séricas ocorrem exclusivamente em casos graves de doença hepática gordurosa não alcoólica avançada⁸, o que pode sugerir efeito protetor do resveratrol na evolução da esteatose hepática.

Os achados histopatológicos demonstraram que a administração de resveratrol às ratas do grupo controle induziu congestão hepática de leve a moderada, o que sugeri que o tratamento com resveratrol tenha reduzido a expressão das interleucinas 6 (IL-6), a atividade do fator nuclear NF- κ B e a atividade da enzima COX₂, os principais mediadores da resposta inflamatória.¹⁹ Nos grupos que receberam dieta hipercalórica (CO e RO) observou-se a presença de esteatose hepática em todos os animais, que pode ser explicado pelo fato da gordura visceral ser drenada diretamente no sistema porta, expondo o fígado a grandes quantidades de ácidos graxos livres, o que aumenta a síntese hepática de triglicerídeos, podendo também diminuir sua capacidade de secretá-los, causando acúmulo nos hepatócitos.⁸ A administração de resveratrol no presente estudo diminuiu a porcentagem de esteatose de 81,25% (CO) para 75% (RO) provavelmente pelo impedimento do acúmulo de triglicérides nos hepatócitos por inibição do fator de transcrição SREBP1 via aumento de sirtuinas 1, sugerindo possível benefício do uso do resveratrol no tratamento da doença hepática gordurosa não alcoólica (esteatose).³¹

Podemos concluir que o resveratrol suplementado por período curto de tratamento, durante 6 semanas, promoveu um efeito positivo na função hepática, diminuindo as enzimas hepáticas AST e FA e a ocorrência de esteatose hepática, porém aumentou as concentrações séricas da ALT em ratas obesas e não interferiu na perda de peso corporal e no perfil lipídico. Mais estudos devem ser realizados, inclusive com adição de exercícios físicos, para elucidar melhor os efeitos do resveratrol em pacientes magros e obesos num período curto de tratamento.

Referências

1. **Alberdi G, Rodríguez V, Miranda J, Macarulla M, Arias N, Lacueva A, Portillo M.** 2011. Changes in white adipose tissue metabolism induced by resveratrol in rats. *Nutrition & Metabolism* **8**:29.
2. **Anderson JW, Konz EC.** 2001. Obesity and disease management: effects of weight loss on comorbid conditions. *Obesity Research* **9**(4):326-334.

3. **Athar M, Back JH, Tang X, Kim HK, Kopelovich L, Bickers DR, Kim A.** 2007. Resveratrol: a review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicol. Appl. Pharmacol.* **224**:274-283.
4. **Baile CA, Yang JY, Rayalam S, Hartzell DL.** 2011. Effect of resveratrol on fat mobilization. *Ann N Y Acad Sci* **1215**:40-47.
5. **Baur JA, Sinclair DA.** 2006. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nat Rev Drug Discov* **5**:493-506.
6. **Bueno AA, Habitante CA, Oyama LM et al.** 2011. White adipose tissue re-growth after partial lipectomy in high fat diet induced obese Wistar rats. *J Physiol Sci* **61**:55-63.
7. **Carneiro G, Faria NA, Ribeiro Filho FF.** 2003. Influence of body fat distribution on the prevalence of arterial hypertension and other cardiovascular risk factors in obese patients. *Rev Assoc Med Bras* **49**(3):306-311.
8. **Chaves GV, Souza DS, Pereira SE, Saboya CJ, Peres WAF.** 2012. Associação entre doença hepática gordurosa não alcoólica e marcadores de lesão/função hepática com componentes da síndrome metabólica em indivíduos obesos classe III. *Revista da Associação Médica Brasileira* **58**(3).
9. **Cho LJ, Ahn JY, Kim S.** 2008. Resveratrol attenuates the expression of HMG-CoA reductase mRNA in hamsters. *Biochem Biophys Res Commun* **367**:190-4.
10. **DeFronzo RA, Ferrannini E.** 1991. Insulin resistance. A multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia and atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* **14**(3):173-94.
11. **Diez M, Nguyen P.** 2006. The epidemiology of canine and feline obesity. *Waltham focus* **16**(1):2-8.
12. **Estadella D, Oyama LM, Bueno AA.** et al. 2011. Palatable hyperlipidic diet causes obesity and affects brain glucose metabolism in rats. *Lipid Health Dis* **10**(168):1-9.
13. **Flegal KM, Carroll MD, Kit BK, Ogden CL.** 2012. Prevalence of obesity and trends in the distribution of body mass index among US adults 1999-2010. *JAMA* **307**:491-497.
14. **Fremont L.** 2000. Biological effects of resveratrol. *Life Sci* **66**: 663-7.
15. **Friedman SL.** 2008a. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* **134**:1655-1669.
16. **Friedman SL.** 2008b. Hepatic stellate cells: protean, multifunctional, and enigmatic cells of the liver. *Physiol. Rev* **88**:125-172.

17. **Giknis MLA, Clifford CB.** 2008. Clinical laboratory parameters for Crl:WI (Han) Rats, Charles Rivers Laboratories, 17p.
18. **Goldberg DMNG, Yan J, Karumanchiri A.** 1996. Regional differences in resveratrol isomer concentrations of wines from various cultivars. *Journal of Wine Research* **7**:13-24.
19. **Gómez ZS, Fernández QA, Lasa A, Hijona E, Bujanda L, Portillo MP.** 2013. Effects of resveratrol on obesity-related inflammation markers in adipose tissue of genetically obese rats. *Nutrition* **29**:11-12.
20. **James P, Rigby N, Leach R, Force IOT.** 2004. The obesity epidemic, metabolic syndrome and future prevention strategies. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* **11**:3-8.
21. **Jonsson S, Hedblad B, Engstrom G.** 2002. Influence of obesity on cardiovascular risk. Twenty-three year follow-up of 22025 men from an urban Swedish population. *Int J Obes Relat Metab Disord* **26**(8):1046-53.
22. **Lagouge M, Argmann C, Gerhart-Hines Z, Meziane H.** 2006. Resveratrol improves mitochondrial function and protects against metabolic disease by activating SIRT1 and PGC-1alpha. *Cell* **27**:1109-1122.
23. **Liangpunsakul S, Chalasani N.** 2005. Unexplained elevations in alanine aminotransferase in individuals with the metabolic syndrome: results from the Third National Health and Nutrition Survey (NHANES III). *Am J Med Sci* **329**:111-6.
24. **Marchesini G, Brizi M, Bianchi G, Tomassetti S, Bugianesi E, Lenzi M, McCullough AJ, Natale S, Forlani G, Melchionda N.** 2001a. Nonalcoholic fatty liver disease: a feature of metabolic syndrome. *Diabetes* **50**:1884-1850.
25. **McCullough AJ.** 2002. Update on nonalcoholic fatty liver disease. *J Clin Gastroenterol* **34**:255-62.
26. **Min-Hsiung Pan¹, Ching-Shu Lai¹, Mei-Ling Tsai, Chi-Tang Ho.** 2014. Chemoprevention of nonalcoholic fatty liver disease by dietary natural compounds. *Mol. Nutr. Food Res* **58**, 147–171.
27. **Shankar S, Singh G, Srivastava RK.** 2007. Chemoprevention by resveratrol: molecular mechanisms and therapeutic potential. *Front. Biosci* **12**:4839-4854.
28. **Szkudelska K, Nogowski L, Szkudelski T.** 2009. Resveratrol, a naturally occurring diphenolic compound, affects lipogenesis, lipolysis and the antilipolytic action of insulin in isolated rat adipocytes. *J Steroid Biochem Mol Biol* **113**:17-24.
29. **Vigitel.** 2011. Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Ministério da Saúde. [cited 19 May 2012].

30. **Wallace K, Burt AD, Wright MC.** 2008. Liver fibrosis. *Biochem. J.* **411**:1-18.
31. **Wang GL, Fu YC, Xu WC.** 2009. Resveratrol inhibits the expression of SREBP1 in cell model of steatosis via Sirt1-FOXO1 signaling pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* **380**: 644-9.
32. **Zamora-Ros R, Andres-Lacueva C, Lamuela-Raventós R, Berenguer T.** 2008. Concentrations of resveratrol and derivatives in foods and estimation of dietary intake in a Spanish population: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC)-Spain cohort. *Br J Nutr* **100**:188-196.

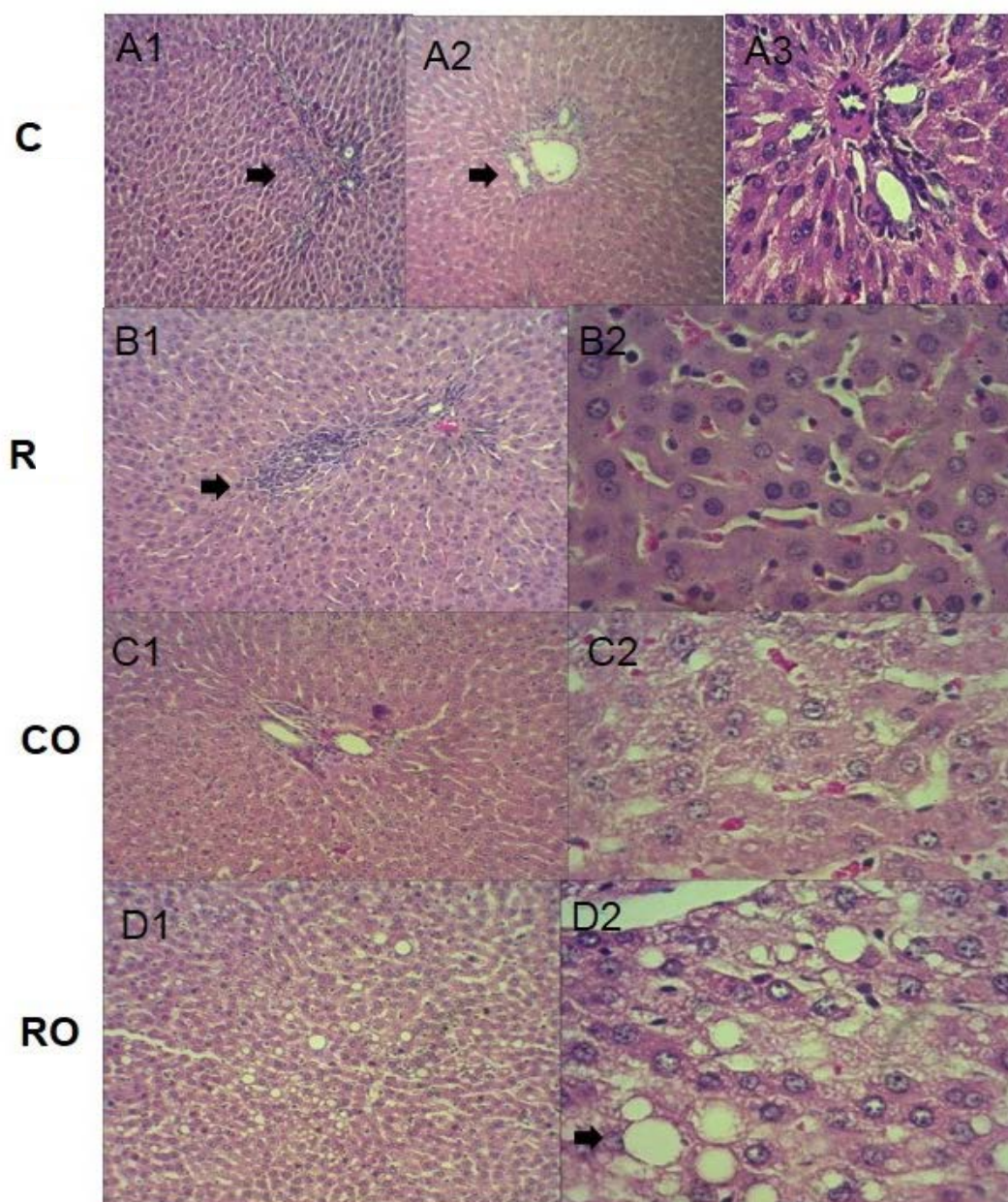


Figura 1 - Grupo Controle (C) - Corte histológico de fígado normal – ratas n.1 A1 e n.5 A2 – espaço porta (seta) e traves de hepatócitos (hematoxilina-eosina, aumento de 100x), A3 - Detalhe do espaço porta (hematoxilina-eosina, aumento de 400x). **Grupo Resveratrol (R)** - B1 – Corte histológico de fígado de rata n.2 com infiltrado mononuclear focal, entre hepatócitos (seta) (hematoxilina-eosina, aumento de 100x). B2 – Detalhe dos hepatócitos normais rata n. 4 (hematoxilina-eosina, aumento de 400x). **Controle Obeso (CO)** C1 - Corte histológico de fígado de rata n.6 com esteatose (hematoxilina-eosina, aumento de 100x). C2 - Detalhe mostrando com esteatose microvesicular difusa de rata n.1 (hematoxilina-eosina, aumento de 400x). **Resveratrol Obeso (RO)** D1- Corte histológico de fígado de rata n. 14 com esteatose (hematoxilina-eosina, aumento de 100x). D2 - Detalhe mostrando com esteatose microvesicular difusa rata n.15 e focos de esteatose macrovesicular (seta) (hematoxilina-eosina, aumento de 400x) rata n.8.

ANEXO

Normas da Revista Comparative Medicine

Submit Comparative Medicine articles to <http://mc.manuscriptcentral.com/aalas-cm>.

Submit JAALAS articles to <http://mc.manuscriptcentral.com/aalas-jaalas>.

General Information

The American Association for Laboratory Animal Science (AALAS) currently publishes two journals containing data-driven, peer-reviewed articles.

The mission of Comparative Medicine (CM) is to disseminate high-quality, peer-reviewed information that expands biomedical knowledge and promotes human and animal health through the study of laboratory animal disease, animal models of disease, and basic biologic mechanisms related to disease in people and animals.

The mission of The Journal of the American Association for Laboratory Animal Science (JAALAS) is to disseminate high-quality, peer-reviewed information on animal biology, technology, facility operations, management, and compliance as relevant to the AALAS membership.

The types of articles accepted are Case Report, Case Study, Research Report, Overview, and Letter to the Editor.

The editorial style of AALAS journals is based on that described in Scientific Style and Format: The CSE Manual for Authors, Editors, and Publishers (seventh edition). Consult previous issues of the relevant journal for information not addressed in Scientific Style and Format or the following material.

http://www.aalas.org/publications/cm_jaalas_info_for_au.aspx - top

CM

Average submission to acceptance time: 46 days
568 pages printed in 2012
46% acceptance rate

JAALAS

Average submission to acceptance time: 50 days
872 pages printed in 2012
54% acceptance rate

- No submission fee.
- No page charges.
- No color charges.
- Complementary uploading to PubMed Central

Manuscript Preparation

Title page

Manuscript should be single spaced, with no page or line numbers. On the first page of the manuscript, include the:

- Full Title—a concise informative description of the presented work including the common name of the animals used (add genus and species in parentheses for nonhuman primates and species whose common name may be unfamiliar to readers).
- List of authors—the first name, middle initial (or first initial and middle name), and last name of each author
- Institutional affiliation of each author—the Department (or Program), Institution (or Company), City, State (or province), and Country (if not USA) at which the described work was done.
 - Use superscripted Arabic numerals to indicate respective institutions
 - Spell out all locations in full
- Corresponding author—the person who readers can contact regarding information or reagents
 - Indicate with * in the list of authors and provide that author's email address
- Running title—a descriptive phrase of no more than 72 characters (including spaces) to be used as a running head on each printed page
- Abbreviations and acronyms—a list of all nonstandard acronyms and abbreviations used throughout the manuscript and their definitions
 - Standard Abbreviations need not be included on the title page.
 - Do not abbreviate terms used fewer than five times in a manuscript.

Abstract

Provide a single paragraph (no subheadings) of 300 words or fewer that sequentially summarizes the background, rationale, methods, results, and conclusions of the work.

Body



Use coded or nonproprietary language throughout the manuscript. Cite the proprietary, brand, or vendor name associated with an assay, instrument, machine, service, or compound only in Materials and Methods.

Define all nonstandard abbreviations and acronyms at first use. Limit the number of novel abbreviations used. Refer to the list of Standard Abbreviations for abbreviations that can be used without definition.

The length of and subsections comprising the body of the manuscript will vary depending on the type of article submitted. The manuscript may include some or all of the following sections:

- Introduction
 - Provide the rationale and supporting background for the presented work and its importance and relevance.
 - Extensive reviews of the existing literature are inappropriate for research reports and case studies/reports.
- Materials and Methods
 - Describe the animals, husbandry, tests, equipment, procedures, reagents, and services used in sufficient detail to permit replication of the work,

with citation of published references as consistent with brevity and clarity.

- Clearly define use of the term ‘specific pathogen-free’ by including specific criteria (for example, tests, organisms surveilled, housing, husbandry conditions) or citing publications providing that information.
- Include statistical methods where relevant and attribute (name of software program used and name and location of vendor) or reference them appropriately. In addition, provide the P value used to define statistical significance.
- Include a statement regarding Institutional Animal Care and Use Committee approval (or equivalent) for procedures and protocols involving animals.
- Provide assurances regarding humane care and use of animals , citing AALAS Position Statements and national standards as appropriate to the country in which the work was performed.
- For research involving human subjects, identify the committee that approved the experiments and include a statement that informed consent was obtained from all subjects, that measures are in place to protect the identity of all subjects, and that no coercion was used to solicit subjects.
- Provide the vendor’s name and location for any sole-source item or service.
- Insert callouts (in parentheses) for all Figures and Tables, which are numbered in order of their mention in the text.
- Follow correct nomenclature  for laboratory animals, genes, genetic markers, alleles, mutations, and microbes.
- Wherever possible, use International System of Units base and derived units for numerical data.
- Results
 - Use headings as needed to guide readers.
 - Accompany statements of differences between groups with appropriate statistics.
 - Summarize selected data from Figures and Tables in the Results section; do not merely repeat all information presented in graphics.
 - Save interpretation of data for the Discussion section.
- Discussion
 - Begin the Discussion with a brief summary of the key findings.
 - Limit discussion of study findings to those that have been presented in the Results.
 - Address any limitations of the study and directions for potential future research.

Acknowledgments

Recognize (with their permission) people and institutions whose contributions of funding, technical assistance, reagents, data collection and analysis, and other services do not meet the criteria for authorship.

References

Provide complete and accurate bibliographic information for all cited materials. Only information that is published or is already accepted for publication (that is, “in press”) can be used as references. We will not accept citations of unpublished information or materials (for example, personal communications, unpublished data, manuscripts still undergoing review) in a reference list or parenthetically in the text.

Journals published by AALAS follow a modified version of the citation style found in Scientific Style and Format. Refer to previous issues of JAALAS or CM or the Example References Word file linked at left for specific types of referenced material.

Organize references numerically in strict ("letter-by-letter") alphabetical order. List references by the same author(s) chronologically.


Journal style template files are available for EndNote and RefMan.

- [RefMantemplate](#)
- EndNote template file: download from the EndNote website (enter Comparative Medicine in the box titled Publication Name and click on Find Style)

Figure Legends

Provide complete, concise descriptions of all figures in order of their mention in the text. Define additional abbreviations or acronyms.

Indicate the original magnification of images by citing the magnification factor in the legend or by using scale bars within images themselves.


Use of previously published material (in whole or part) must be cited in the legend and accompanied by a signed Permission for Use form .

Appropriate manipulation of digital images  must be made explicit in the accompanying legend.

Tables

Tables must be generated by using the Table function of Microsoft Word. Tables generated by using other programs (for example, Microsoft Excel) will be returned to the authors for reformatting, potentially delaying publication of the article.

Number tables in order of their mention in the text and provide a brief title describing the information presented. Footnotes to tables are indicated by using superscript lowercase letters.

Tables are used to present numerical data and are not wholly narrative. According to AALAS journal style, narrative information in a tabular format  (for example, descriptions of scoring systems, experimental protocols) is submitted as a figure.

http://www.aalas.org/publications/cm_jaalas_info_for_au.aspx - top

Figure Preparation

Figures are submitted electronically, separately from the manuscript. Do not embed any images within the manuscript file. Also, all submitted micrographs must be in color; black and white micrographs will not be accepted for publication.

File formats accepted are TIFF (preferred), EPS, high-resolution JPG, and high-quality PDF (no image compression). PowerPoint slides, Excel graphs, and images embedded in Word are not acceptable.

Minimal resolution: 600 dpi for line art (for example, graphs in black and white); 300 dpi for color (save as CMYK; not RGB or indexed) or grayscale images (save black and white images as grayscale); 1200 dpi for scanned line art (save as TIFF). Photos taken with a digital camera must have a resolution of at least 4 megapixels.

Create figures with a width of 89 mm (single column) or 187 mm (double column); do not enlarge created figure to meet these dimensions.

Designate panels of figures by using uppercase letters (no periods) in the upper left corner of the image; keep size of lettering and other labels (at least 2 mm in height as submitted) consistent between panels of a figure and between figures. Embed fonts within digital images.

Indicate the magnification factor of an image by including an appropriate size bar in its lower right corner.

Minimize the use of color in charts, graphs, and drawings to that necessary for clarity of communication and ease of understanding. Use solid fill or percentage screens (not pattern or textured fills) and a minimum line weight of 0.5 pt throughout.

Additional information regarding generating and formatting figures is available by emailing Amy Tippett.

Manuscript Submission

Letters to the Editor are submitted by email (journals@aalas.org; please specify whether the letter is intended for publication in CM or JAALAS in the subject line) or through the USPS (Letter to the Editor, CM or JAALAS; AALAS; 9190 Crestwyn Hills Drive, Memphis, TN, 38125).


Research Reports, Case Reports, Case Studies, and Overviews are submitted electronically through the Manuscript Central system. To avoid publication delays, ensure that all portions of the manuscript conform to the specifications in the Information for Authors.

To submit a manuscript for possible publication, you need

- A Microsoft Word file of the manuscript itself. Do not add line numbers to the file.
- All associated image files.

- A list of MeSH terms (maximum, 7) for use as key words appropriate for indexing of the article.
- Names, institutional affiliations, and email addresses (maximum, 4) of suggested persons to include or exclude as potential reviewers.

Submit all necessary files for CM manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/aalas-cm>. Submit files for JAALAS manuscripts at <http://mc.manuscriptcentral.com/aalas-jaalas>.

As part of the submission process, return signed copies of the Copyright Transfer and Declaration of Potential Competing Interests form  by email (journals@aalas.org) or fax (901-334-5152).

The corresponding author must retain editable electronic copies of all text and illustrations used in the submitted manuscript.

Manuscript Review and Status

The Editor-in-Chief reviews all submissions and makes an initial determination regarding suitability for publication. If an Associate Editor transfers a submitted manuscript from CM to JAALAS (or vice versa), the contact author will be notified by email and may opt to withdraw the manuscript from consideration.

Before being sent for peer review, newly submitted manuscripts are screened to ensure that the text, figures (charts, graphs, images), and tables comply with the criteria described in the Information for Authors.

All manuscripts undergo thorough peer review (including digital assessment for plagiarism prior to acceptance), typically by three reviewers with relevant experience. Selection of the panel of reviewers ultimately is the prerogative of the Associate Editor.

AALAS gives timely review the highest priority. Once all reviewers for a manuscript have been assigned, authors can check the status of their submission through Manuscript Central. Whether a manuscript is accepted, requires revisions, or is rejected for publication typically is decided within 4 weeks of being sent for review. To avoid publication delays, regularly verify and update authors' contact information (<http://mc.manuscriptcentral.com/aalas-cm> for CM manuscripts; <http://mc.manuscriptcentral.com/aalas-jaalas> for JAALAS manuscripts).

Changes requested by reviewers must be completed within 2 months or an extension requested (email journals@aalas.org or call the journals office at 901-754-8620). Without timely return of revisions or a request for extension, the manuscript will be withdrawn from the publication process.

Approximately 5 weeks before the slated publication date, the contact author receives a copyedited version of the manuscript, which will have undergone a final review by the Editor-in-Chief.

After any additional queries that arise during copyediting and final review are addressed satisfactorily, the contact author receives a PDF of the page proofs of the article. At this late stage in the publication process, only minor revisions can be accommodated.

Approved page proofs must be emailed to journals@aalas.org within 48 hours of receipt.

After publication, the manuscript will be submitted to PubMed Central for indexing. Articles will become available to the general public 6 months after publication.