

CENTRO UNIVERSITÁRIO FAG
RAFAELA BEATRIZ MENEGUSSO

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE FARINHA DE BANANA
VERDE E KOMBUCHA NO FÍGADO DE RATOS WISTAR**

CASCABEL

2019

CENTRO UNIVERSITÁRIO FAG
RAFAELA BEATRIZ MENEGUSSO

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE FARINHA DE BANANA
VERDE E KOMBUCHA NO FÍGADO DE RATOS *WISTAR***

Trabalho de Conclusão de Curso como
requisito parcial para obtenção do título de
Bacharel em Nutrição.

**Professor Orientador Dr. Sóstenez
Alexandre Vessaro da Silva e
Professora Coorientadora Dra. Daniela
Miotto Bernardi**

CASCADEL

2019

CENTRO UNIVERSITÁRIO FAG
RAFAELA BEATRIZ MENEGUSSO

**AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE FARINHA DE BANANA
VERDE E KOMBUCHA NO FÍGADO DE RATOS *WISTAR***

Trabalho apresentado ao Curso de Nutrição do Centro Universitário Assis Gurgacz, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Nutrição, sob a orientação do Professor Dr. Sóstenez Alexandre Vessaro da Silva e coorientação da Professora Dra. Daniela Miotto Bernardi.

BANCA EXAMINADORA

Daniela Miotto Bernardi

Doutora em Alimentos e Nutrição pela Universidade Estadual de Campinas

Sóstenez Alexandre Vessaro da Silva

Doutor em Biologia Comparada pela Universidade Estadual de Maringá

Solange Maria Cottica

Doutora em Química pela Universidade Estadual De Maringá e Professora da Universidade
Tecnológica Federal do Paraná

Cascavel, junho de 2019.

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SUPLEMENTAÇÃO DE FARINHA DE BANANA VERDE E KOMBUCHA NO FÍGADO DE RATOS WISTAR

MENEGUSSO, Rafaela Beatriz¹

DA SILVA, Sóstenez Alexandre Vessaro²

RESUMO

Os hábitos alimentares da população ocidental atual se baseiam no consumo de alimentos ricos em gorduras saturadas e açúcares simples. Esse comportamento é responsável pelo aumento no quadro de diversas doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade, diabetes e dislipidemias, as quais afetam o fígado, órgão essencial para bom funcionamento do organismo. Assim, este trabalho teve por objetivo avaliar o efeito do kombucha e da farinha de banana verde sobre a morfologia e enzimas hepáticas e relação de peso corporal e peso do fígado de ratos *Wistar*. Trinta e cinco ratos, machos e sadios, foram divididos em cinco grupos, compostos por 7 animais cada um, sendo eles: Grupo 1: controle (dieta ração comercial), Grupo 2: dieta de cafeteria modificada, Grupo 3: dieta de cafeteria modificada + kombucha, Grupo 4: dieta de cafeteria modificada + farinha de banana verde, Grupo 5: dieta de cafeteria modificada + farinha de banana verde + kombucha. Todos receberam água *ad libitum*. O experimento ocorreu no período de 55 dias, em que a kombucha e solução salina foram administradas por meio de gavagem. Após a eutanásia dos animais, foram coletadas amostras biológicas (sangue e fígado) para realização de análise de enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT), presença de alterações de tecido hepático e avaliação da relação entre peso do órgão e do animal. Como resultado, foram obtidos valores alterados tanto de aspartato aminotransferase quanto de alanina aminotransferase em todos os grupos. A análise microscópica do tecido hepático mostrou que há vacuolização, característica de esteatose hepática, nos grupos DC, DCK, DCFBV e DCFBVK, induzido pela dieta de cafeteria. A ingestão da dieta com kombucha e farinha de banana verde não foi eficaz na diminuição da vacuolização e não teve associação com a relação entre peso corporal e peso do fígado.

Palavras-chave: prebiótico, probiótico, enzimas hepáticas.

1 INTRODUÇÃO

Os padrões alimentares estabelecidos por um indivíduo podem estar relacionados à composição corporal, parâmetros bioquímicos e inflamatórios. Assim, hábitos considerados não saudáveis afetam negativamente a saúde (ROCHA *et al.*, 2017).

O aumento alarmante da obesidade e as morbidades relacionadas a essa doença têm sido associados ao padrão alimentar (MOREIRA *et al.*, 2012). De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS, 2014), a obesidade eleva a possibilidade de desenvolvimento de doenças como alterações cardiovasculares, diabetes mellitus (DM) tipo 2, distúrbios metabólicos e alterações no fígado. Esta ocorre devido a alterações no processo de metabolismo hepático, proveniente do aumento da absorção de ácidos graxos saturados (consequência de uma dieta excessivamente calórica), síntese de ácido graxo pela ativação da

¹ Acadêmica do Curso de Nutrição do Centro Universitário FAG.

² Docente do Curso de Nutrição do Centro Universitário FAG. Doutor em Biologia Comparada pela Universidade Estadual de Maringá.

lipogênese, diminuição da beta-oxidação de ácido graxo e diminuição da secreção hepática de VLDL (BERLANGA *et al.*, 2014). O aumento de gordura hepática caracteriza uma patologia denominada doença hepática gordurosa, que pode conferir apenas uma esteatose hepática, até uma esteato-hepatite, em que há presença de inflamação e degeneração do órgão. A gordura no fígado pode estar, ainda, associada à fibrose e cirrose ou carcinoma (COHEN *et al.*, 2011).

Dessa forma, a população em geral está sempre em busca de alimentos que previnam doenças ou auxiliem no tratamento (ROCHA *et al.*, 2017). Alguns alimentos são denominados funcionais, pois proporcionam uma série de benefícios. Esses alimentos, além das propriedades nutricionais, produzem efeitos metabólicos e fisiológicos no organismo (MOURA *et al.*, 2018).

A farinha de banana verde é considerada um alimento funcional prebiótico (SILVA *et al.*, 2015). Esse tipo de alimento é capaz de favorecer o aumento de bactérias benéficas ao organismo e diminuir o número de bactérias patogênicas (OLIVEIRA *et al.*, 2018). Em um estudo, Rech *et al.* (2014) comprovaram que a suplementação da dieta com farinha de banana verde durante 28 dias em ratos provocou perda de peso significativa nos animais. Assim, a inclusão regular de farinha de banana na alimentação, em conjunto com bons hábitos alimentares e prática regular de atividade física, poderia contribuir favoravelmente para o tratamento de pessoas com diabetes, obesidade e dislipidemias (WASZAK; FERREIRA, 2011).

O kombucha, bebida fermentada a partir de um chá açucarado, tem potente ação antioxidante, além de atividade antimicrobiana, anti-inflamatória e anticarcinogênica. (VILLAREAL-SOTO *et al.*, 2018). Trata-se de uma bebida probiótica por conter micro-organismos vivos que trazem efeitos benéficos (UMBRELLA *et al.*, 2016). Segundo Aloulou *et al.* (2012), os metabólitos do kombucha ainda têm efeito inibitório tanto da enzima α -amilase pancreática, como da lipase pancreática, fato que dificultaria uma rápida absorção da glicose e das gorduras provenientes da ingestão alimentar.

Atualmente, do ponto de vista comercial, o kombucha apresenta uma boa aceitabilidade da população mundial e as suas reconhecidas propriedades funcionais e medicinais fazem com que as pessoas se interessem cada vez mais em consumi-lo (GRAMZA-MICHALOWSKA *et al.*, 2016). Da mesma forma, a farinha de banana verde vem ganhando espaço na alimentação da população e está sendo utilizada como ingrediente em preparações da indústria alimentícia (SILVA *et al.*, 2015).

Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi investigar propriedades benéficas para o organismo, observando a influência da dieta de cafeteria e da administração de kombucha e

farinha de banana verde sobre a morfologia do fígado, relação entre peso do órgão e peso corporal e ação sobre enzimas hepáticas de ratos *Wistar*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Animais e critérios éticos

A pesquisa se baseou nos princípios dos estudos experimentais que consistem na aplicação de fenômenos que definem certos acontecimentos. A partir disso foram realizadas análises das mudanças ocorridas. Assim, demonstram-se as variáveis que atuam sobre as modificações de tais fenômenos (TRIVIÑOS, 1987).

O experimento foi realizado de acordo com a legislação brasileira sobre o uso científico de animais (lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008). O protocolo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro Universitário Fundação Assis Gurgacz (CEUA-FAG), protocolo número 058/2018 do mês de julho de 2018.

2.2 Preparo do Kombucha

A bebida foi preparada de acordo com o método utilizado por Fu *et al.* (2014), com algumas modificações.

Foi utilizada uma colônia de kombucha proveniente da última muda de um *scooby* adquirido por doação. O kombucha foi embebido em uma solução açucarada de chá verde em folhas desidratadas, adquirido em um celeiro da cidade de Cascavel-PR.

Para a preparação do chá verde, 15 gramas de folhas foram submersas durante 20 minutos em 1 litro de água recém fervida. Após esse procedimento, a infusão foi filtrada em papel filtro e 50 gramas de sacarose foram adicionadas.

Após o resfriamento em temperatura ambiente, o chá foi inserido em um frasco de vidro, previamente esterilizado, provido de 100 ml da fase líquida pertencente à cultura anterior de kombucha e depois incorporado o novo *scooby*, que permaneceu em contato com o líquido durante 15 dias em temperatura ambiente e ausência de luz, para a realização da fermentação aeróbica.

Depois de terminada a fermentação aeróbica, o chá foi colocado em garrafas para proceder a fermentação anaeróbica por dois dias.

A administração de kombucha e solução salina foram calculadas conforme o peso dos animais (5ml/1kg peso). Eles foram acompanhados toda semana e o controle do peso foi registrado em planilha. Para a administração, os ratos foram submetidos à gavagem, com uma sonda orogástrica de ponta arredondada.

2.3 Preparo da Farinha de Banana Verde

A farinha de banana verde foi obtida através de parceria com a Empresa de Pesquisa e Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI) que desenvolveu o cultivo BRS SCS Belluna. Análises realizadas demonstram que ela possui 40,25% de amido resistente em sua composição centesimal. Além disso, é rica em fibras e com menor conteúdo de carboidratos e valor calórico do que as cultivares comerciais.

A produção da farinha foi feita na Estação Experimental de Itajaí-SC, com metodologia e equipamentos próprios da empresa.

A parceria foi formalizada através de um contrato de transferência de material a terceiros para pesquisa e difusão.

2.4 Dietas experimentais

Para o desenvolvimento do trabalho, foram utilizados 35 ratos da linhagem *Wistar*. Os animais foram obtidos no Biotério do Centro Universitário FAG (Cascavel-PR) e mantidos no mesmo biotério durante todo o experimento por 55 dias, sob temperatura controlada (22 ± 2 °C), com ciclo de 12 horas claro e 12 horas escuro e em gaiolas individualizadas, divididos em cinco grupos. Três grupos receberam água e ração *ad libitum* e solução salina por gavagem e dois grupos receberam ração e água *ad libitum* e kombucha por gavagem.

Os animais foram divididos em cinco grupos experimentais, que receberam tratamentos diferentes, os quais estão descritos a seguir:

- GRUPO 1 - grupo controle (C): Composta por dieta comercial (BIOBASE) + água *ad libitum* + solução salina por gavagem.
- GRUPO 2 - grupo dieta de cafeteria modificada (DC): Composta por alimentos industrializados (biscoito doce, chocolate ao leite, batata palha, bacon, leite condensado e ração comercial) (COSTA *et al.*, 2013) + água *ad libitum* + solução salina por gavagem.

- GRUPO 3 - grupo dieta de cafeteria modificada + 20% farinha de banana verde na dieta (DCFBV): sendo ofertado a dieta de cafeteria modificada com adição de 20% de farinha de banana verde + água *ad libitum* + solução salina por gavagem.
- GRUPO 4 - grupo dieta de cafeteria modificada + kombucha (DCK): sendo ofertada a dieta de cafeteria modificada + água *ad libitum* + kombucha por gavagem.
- GRUPO 5 - grupo dieta de cafeteria modificada + 20% farinha de banana verde na dieta + kombucha (DCFBVK), sendo ofertada a dieta de cafeteria modificada com adição de 20% de farinha de banana verde + água *ad libitum* + kombucha por gavagem.

A descrição das dietas está dispon a na Tabela 1.

Tabela 1 - Rações: Formulação para 1kg de ração da dieta de cafeteria modificada e para 1kg da mesma dieta com acréscimo de 20% de farinha de banana verde

Ingrediente	Dieta de cafeteria modificada	Dieta de cafeteria modificada + 20% FBV
Ração comercial	142,85g	114,28g
Biscoito doce	142,85g	114,28g
Batata palha	142,85g	114,28g
Chocolate ao leite	142,85g	114,28g
Bacon	142,85g	114,28g
Leite condensado	285,7g	228,60g
FBV	-	200g

Fonte: COSTA *et al.* (2014), adaptada pela autora

Nos primeiros 10 dias, quatro grupos dos animais consumiram apenas dieta de cafeteria + água *ad libitum* para indução de alterações metabólicas, exceto o grupo controle, que consumiu ração comercial (BIOBASE) no mesmo período.

Para o preparo da dieta de cafeteria modificada, foram utilizados os ingredientes da Tabela 01, que foram adquiridos em comércio na cidade de Cascavel-PR.

2.5 Eutanásia, coleta de amostras biológicas e análises enzimáticas no soro

A morte dos animais foi acompanhada em todo momento por um médico veterinário e realizada através do método físico de exsanguinação, por meio de punção cardíaca ou de vasos sanguíneos de grande calibre. O método só foi utilizado após a inconsciência do animal, para evitar inquietação associada   hipovolemia. Antes do procedimento, os animais foram

previamente anestesiados com isoflurano. Os ratos passaram por confirmação de morte através de métodos como: ausência de batimentos cardíacos, de movimentos respiratórios, queda da temperatura corporal e perda de reflexos. Ainda pode ser confirmada através de métodos como: sangria, remoção do coração, congelamento, decapitação e evisceração.

Após a eutanásia, foi coletado o fígado, o qual foi limpo com solução fisiológica e pesado; posteriormente, foi armazenado para procedimentos de análise histológica.

No momento da eutanásia, foi coletada amostra de sangue dos animais, que foi repassada em tubo de polietileno sem anticoagulante. Os tubos foram centrifugados a 3.000 rpm por 20 minutos para obtenção do soro. Este foi separado e armazenado em freezer a -20 °C até o momento das análises.

A análise dos dados séricos das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram realizadas através do kit kovalent.

A análise dessas enzimas demonstra que são usadas como marcadores específicos de dano hepático. Elas catalisam a conversão dos ácidos α -ceto em ácidos amino pela transferência de grupos amino (AGUIAR, 2017).

2.6 Análise histológica das amostras

Os segmentos do fígado obtidos foram armazenados em frascos contendo 30 ml do fixador paraformaldeído e posteriormente armazenada em geladeira por 24 horas a 4 °C. Em seguida, o fixador foi trocado por álcool 70% para conservação do material, e após 12 horas o álcool foi retirado, descartado e substituído novamente para eliminação de toda a solução de paraformaldeído (BEÇAK; PAULLETE, 1976).

Os segmentos prosseguiram pelas etapas histológicas de rotina em uma série crescente de álcool (70%, 80%, 90%, 95% absoluto I, II e III), álcool-xilol, xilol I, xilol II e xilol III durante 5 minutos para desidratação e posteriormente a inclusão em parafina (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983). O material incluído foi seccionado em micrótomo Olympus CUT4055, com espessura de 5 μ m. Os cortes foram fixados às lâminas, que foram submetidas ao xilol I, II e III, álcool-xilol, álcool absoluto I, II e III, 95%, 90%, 80% e 70%. As lâminas obtidas foram coradas pela técnica Hematoxilina e Eosina (HE) (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983) para análise geral da morfologia hepática. Todas as lâminas foram analisadas em um microscópio de luz Olympus CBA e foto micrografados em equipamento no laboratório de análises clínicas do Centro Universitário FAG.

2.7 Análises estatísticas

Após a coleta de todos os dados, eles foram submetidos à análise estatística realizada em software estatístico R, onde as informações foram tabuladas e foi realizada análise de variância (ANOVA). Posteriormente, realizou-se o teste de Tukey. Os valores de probabilidade $p < 0,05$ são considerados significativos.

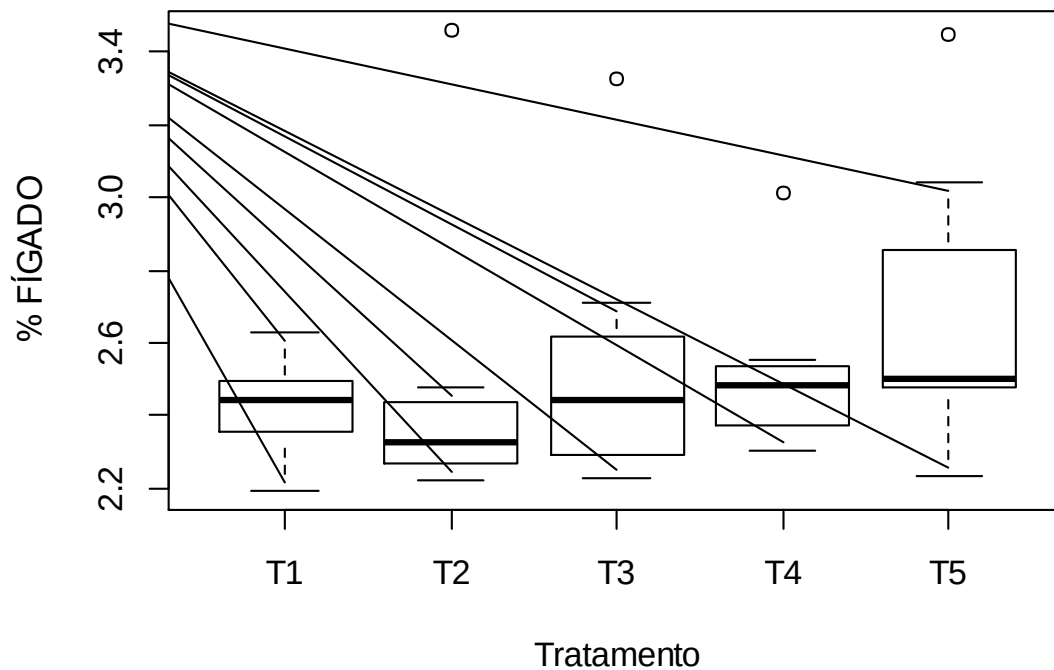
3 RESULTADOS

3.1 % Do peso do fígado em relação ao peso do rato

A partir do gráfico apresentado na Figura 1, é possível verificar que não houve diferença estatística significativa na relação entre peso do fígado e peso do animal ($p=0.6257$).

Todos os grupos variaram entre 2,42% e 2,68%, sendo que a média de desvio padrão corresponde a 0,34. O dado demonstra que a dieta e os elementos testados no estudo não exerceram efeito sobre a relação entre peso do órgão e peso do animal.

Figura 1 - Percentual do peso do fígado em relação ao peso corporal do animal nos diferentes tratamentos*

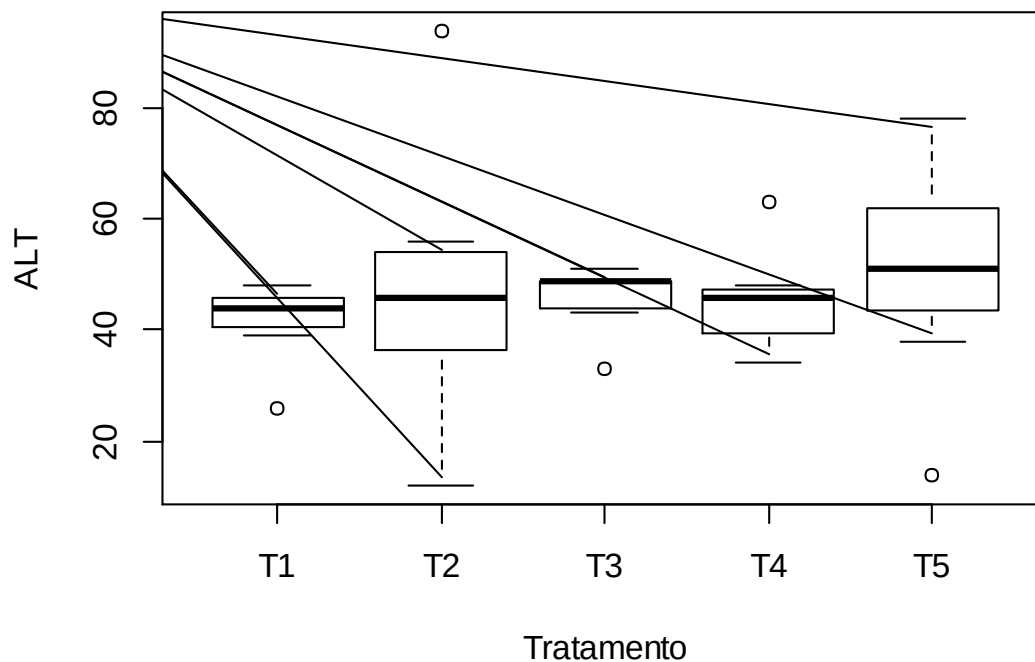


Fonte:*T1: dieta comercial (C); T2: dieta de cafeteria modificada (DC); T3: dieta de cafeteria modificada e kombucha (DCK); T4: dieta de cafeteria modificada e farinha de banana verde (DCFVBV); T5: dieta de cafeteria modificada e farinha de banana verde e kombucha (DCFVBVK).

3.2 Enzimas hepáticas

A Figura 2 representa os dados obtidos de alanina aminotransferase (ALT). Todos os grupos tiveram alterações, de acordo com o valor de referência (26 a 37 U/L), variando entre 41,57 U/L a 50,57 U/L, nos quais a média de desvio padrão corresponde a 0.496. O grupo DCFVBVK, que recebeu simbiótico (farinha de banana verde adicionada à dieta de cafeteria e kombucha), apresentou a maior expressão de alanina aminotransferase (ALT), correspondendo ao valor de $50,57 \pm 20,59$ U/L. Já o grupo com menor expressão de enzima alanina aminotransferase foi o que recebeu dieta comercial/controle, Grupo C ($41,57 \pm 7,50$ U/L).

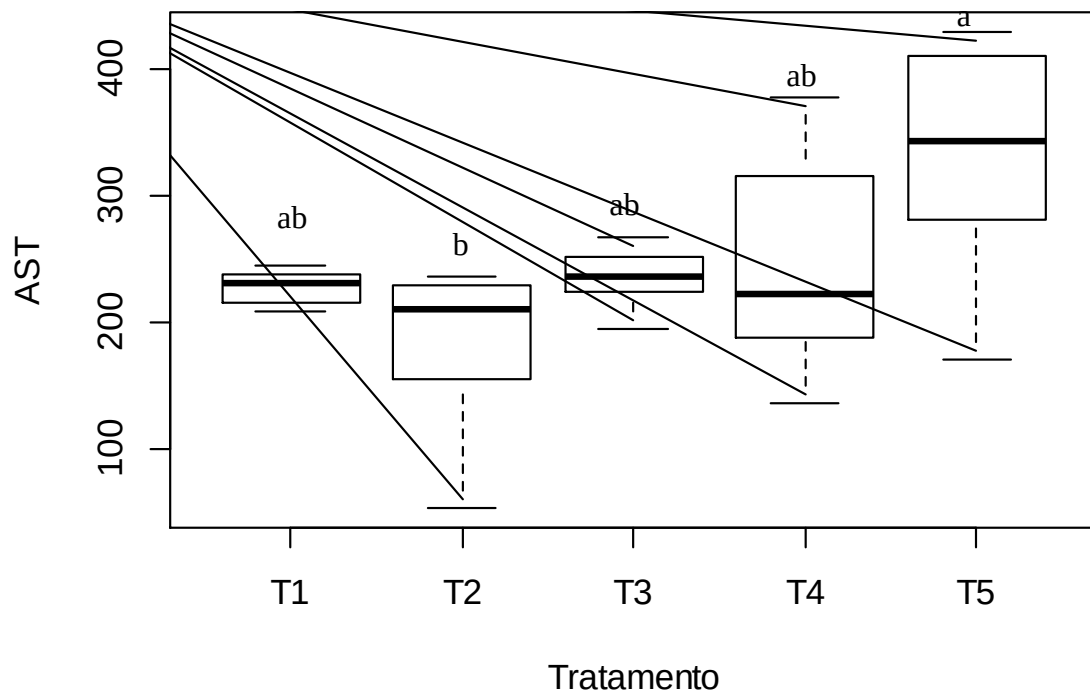
Figura 2 - Alanina aminotransferase (ALT)



*T1: dieta comercial (C); T2: dieta de cafeteria modificada (DC); T3: dieta de cafeteria modificada e kombucha (DCK); T4: dieta de cafeteria modificada e farinha de banana verde (DCFVBV); T5: dieta de cafeteria modificada e farinha de banana verde e kombucha (DCFVBVK).

A Figura 3 mostra os valores obtidos de aspartato aminotransferase (AST) no final do experimento. Todos os grupos tiveram alterações de acordo com o valor de referência (40 a 53 U/L), variando entre 181,57 U/L a 332,57 U/L, em que a média de desvio padrão corresponde a 0.04162, diferindo-se estatisticamente. O grupo DCFVBVK, que recebeu simbiótico (kombucha e farinha de banana verde adicionado à dieta de cafeteria), apresentou a maior expressão de aspartato aminotransferase (AST) ($332,57 \pm 94,34$ U/L), enquanto o grupo DC, que recebeu dieta de cafeteria, apresentou a menor expressão de aspartato aminotransferase (AST) ($181,57 \pm 73,49$ U/L). Ainda na Figura 3, os animais do grupo controle também tiveram alterações em aspartato aminotransferase (AST) ($227,14 \pm 14,51$ U/L), porém, as maiores variações foram dos grupos que receberam prebiótico, probiótico e simbiótico ($235,86 \pm 24,79$ U/L para o Grupo DCK; $248,71 \pm 90,17$ U/L para o Grupo DCFVBV; e $332,57 \pm 94,34$ U/L para o Grupo DCFVBVK).

Figura 3 - Aspartato aminotransferase (AST)



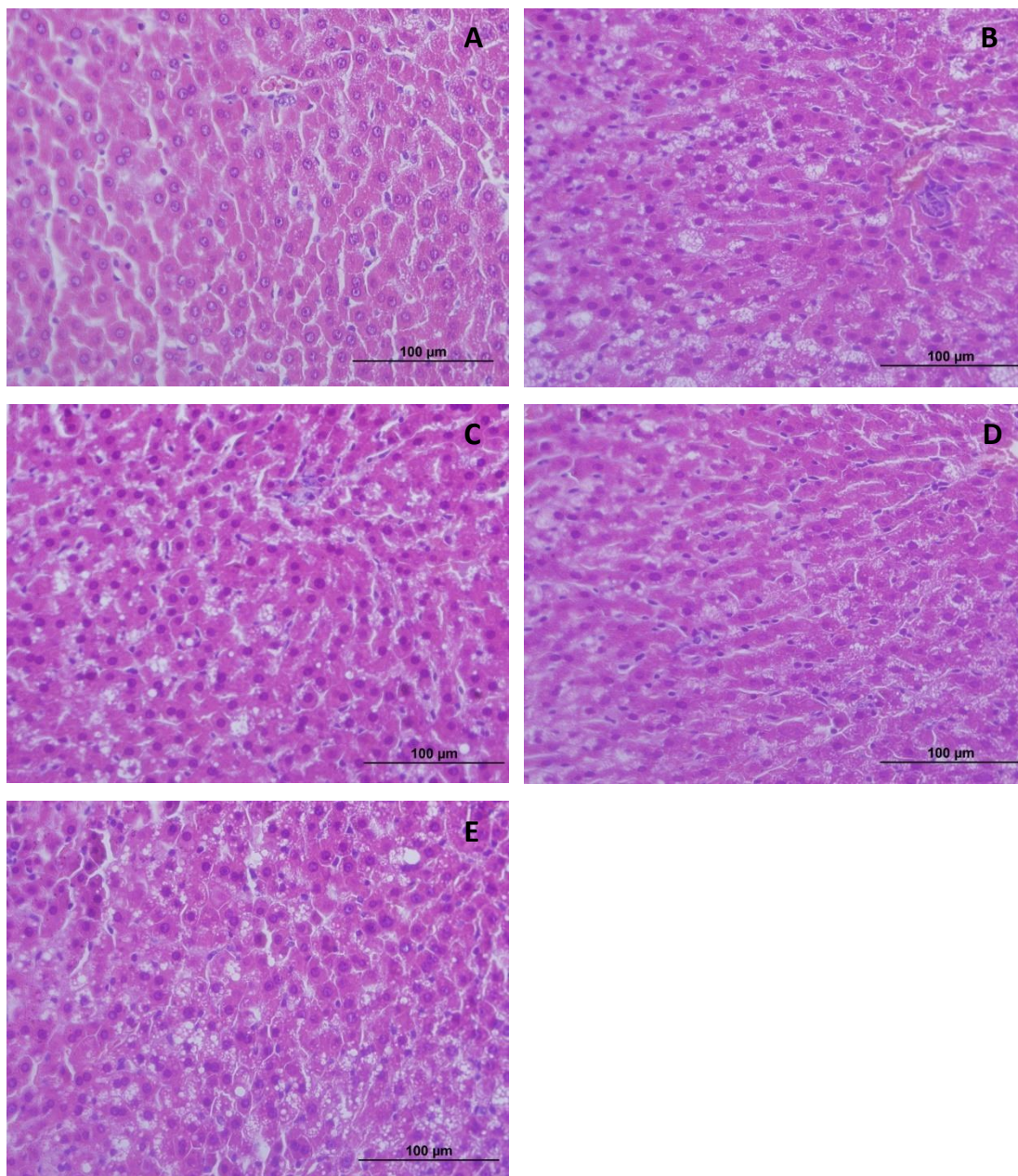
Fonte: *T1: dieta comercial (C); T2: dieta de cafeteria modificada (DC); T3: dieta de cafeteria modificada e kombucha (DCK); T4: dieta de cafeteria modificada e farinha de banana verde (DCFBV); T5: dieta de cafeteria modificada e farinha de banana verde e kombucha (DCFBVK).

É possível verificar que as amostras dos grupos 1, 3 e 4 são iguais estatisticamente. Amostras do grupo 5 se assemelham às amostras do grupo 1, 3 e 4, assim como as amostras do grupo 2. Amostras do grupo 5 e 2 se diferem estatisticamente.

3.3 Histologia hepática

A Figura 4 apresenta as imagens com a morfologia de células hepáticas, obtidas a partir das lâminas com tecido hepático dos animais. Através das imagens, pode-se observar que o grupo 1 não teve alterações significativas na histologia hepática. Os grupos 2, 3, 4 e 5 apresentaram vacuolização citoplasmática, característico de esteatose hepática. A imagem do grupo 2 indica que a dieta de cafeteria induziu ao acúmulo de gordura no fígado. Já as imagens dos grupos 3, 4 e 5 sugerem que kombucha e farinha de banana verde não foram capazes de reverter o acúmulo de gordura.

Figura 4 - Cortes histológicos de fígado de ratos



Legenda: Em A, grupo C; em B, grupo DC; em C, grupo DCFBV; em D, grupo DCK, em E, grupo DCFBVK.

4 DISCUSSÃO

Ao comparar peso corporal e peso do fígado, Bellassoued *et al.* (2015) demonstraram que, diferentemente do resultado obtido neste trabalho, o consumo de kombucha foi significativo na relação entre peso do fígado e peso corporal. No estudo dos autores, 48 ratos foram divididos em 6 grupos (grupo com dieta comercial, dieta comercial + chá verde, dieta comercial + kombucha, dieta rica em colesterol, dieta rica em colesterol + chá verde, dieta rica em colesterol + kombucha), por um período de 16 semanas. A relação entre peso do

fígado e peso corporal foi aumentada nos grupos que receberam dieta rica em colesterol, porém, dentre esses grupos, os que receberam chá verde e kombucha reduziram significativamente os valores dessa relação. Esse estudo avaliou, ainda, os valores de enzimas hepáticas. ALT e AST haviam aumentado 138% e 67%, respectivamente. Esses valores foram revertidos com o consumo de kombucha e chá verde (*Camellia sinensis*).

Segundo Mahan *et al.* (2013), esses marcadores bioquímicos são usados para avaliar alterações hepáticas em pessoas que têm suspeita ou já têm doenças hepáticas, pois medem a liberação de enzimas. Alanina aminotransferase é encontrada em maior quantidade no citosol de células hepáticas, assim como aspartato aminotransferase. Ambos são aumentados com dano em célula hepática, porém, essas enzimas não são encontradas somente em células hepáticas; podem estar presentes em outros tecidos, músculo cardíaco e esquelético, no cérebro, pâncreas, rim e leucócitos.

Neto *et al.* (2011) realizaram estudo que apresenta a relação de marcadores hepáticos e alterações metabólicas antes e após Bypass gástrico em Y de roux em pacientes obesos mórbidos. Nesse estudo, os marcadores hepáticos (ALT e AST) se relacionaram a alterações metabólicas, principalmente hiperglicemia em jejum. No início, os níveis de ALT aumentaram significativamente com o aumento de alterações metabólicas. Após oito meses da cirurgia de Bypass gástrico em Y de roux, os marcadores hepáticos diminuíram, assim como as anormalidades metabólicas.

Outro estudo, produzido por Tagliari *et al.* (2017), avaliou a administração de simbióticos (*Lactobacillus paracasei*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus acidophilus* e *frutooligosacarideo*) na redução de níveis de enzimas hepáticas e os marcadores pró-inflamatórios após a indução da esteatose por dieta hipercalórica. Foi possível observar que o simbiótico reduziu os níveis de aminotransferases, porém, foi incapaz de alterar a progressão histológica da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), o que, segundo o autor, pode estar relacionada à composição da dieta. Ou seja, apesar de o simbiótico favorecer a redução de enzimas hepáticas, o ideal seria a modificação da dieta hipercalórica para uma dieta adequada e balanceada. Essa teoria é demonstrada no estudo de Chaves *et al.* (2012), que associou doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e marcadores de lesão/função hepática com síndrome metabólica em indivíduos obesos. Desses, 49% possuíam síndrome metabólica, sendo que 81,4% dos que tinham DHGNA também possuíam síndrome metabólica, mostrando significativa associação entre DHGNA, síndrome metabólica e obesidade. Nesse estudo, os maiores valores de ALT pertenciam aos indivíduos com síndrome metabólica.

Ao avaliar a histopatologia, foi possível verificar que a dieta de cafeteria induziu ao acúmulo de gordura. Em estudo experimental, Aguiar *et al.* (2017) obtiveram resultados semelhantes aos obtidos no desenvolvimento deste trabalho. O efeito da dieta de cafeteria foi avaliado em cinco ratos *Wistar* machos por 17 semanas, sendo comparado ao grupo controle, contendo cinco ratos machos. O grupo experimental apresentou acúmulo de gordura nos hepatócitos e ductos biliares.

5 CONCLUSÃO

Por meio dos resultados obtidos, é possível afirmar que a dieta de cafeteria é um bom modelo para indução de hepatopatias, já que houve vacuolização citoplasmática.

A ingestão da dieta com kombucha e farinha de banana verde não foi eficaz na diminuição da vacuolização e não teve associação com a relação entre peso corporal e peso do fígado, diferindo de outros estudos.

Para a compreensão da maior incidência de enzimas hepáticas, são necessários mais estudos, para o entendimento dos mecanismos de ação do kombucha e farinha de banana verde no organismo.

4 AGRADECIMENTOS

Agradeço ao meu orientador, Dr. Sóstenez Alexandre Vessaro da Silva, e à minha coorientadora, Daniela Miotto Bernardi. O incentivo, conhecimento e tempo disponibilizado foram essenciais. Aos meus colegas, Amanda Gemelli Ramos, Marianela Urrutia e Rafaela Dewes, que tornaram a realização deste trabalho possível.

Agradeço, ainda, a Mateus Gemelli Ramos, pela realização de análises estatísticas e todo suporte e parceria oferecida pelo COOPEX, Hospital Veterinário FAG, Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina (EPAGRI), Universidade Tecnológica Federal do Paraná e Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

REFERÊNCIAS

- AGUIAR, A. J. F. C. **Efeito de uma dieta com alto teor de carboidratos no fígado de ratos wistar**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Nutrição) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, 2017.
- ALOULOU, A. *et al.* Hypoglycemic and antilipidemic properties of kombucha tea in alloxan-induced diabetic rats. **BMC Complementary Alternative Medicine**, v. 12, n. 63, 2012. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3403982/>. Acesso em: 7 jun. 2018.
- BEČAK, W.; PAULETE, J. **Técnicas de citologia e histologia**. Vol. I. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 1976.
- BELLASSOUED, K. *et al.* Protective effect of kombucha on rats fed a hypercholesterolemic diet is mediated by its antioxidant activity. **Pharmaceutical Biology**, v. 53, n. 11, p. 1699-1709, 2015.
- BERLANGA, A. *et al.* Molecular pathways in non-alcoholic fatty liver disease. **Clinical and Experimental Gastroenterology**, p. 221–239, 2014.
- 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, p. 288-293, 2012.
- COHEN, J. C.; HORTON, J. D.; HOBBS, H. H. Human fatty liver disease: old questions and new insights. **Science**, v. 332, n. 6037, p. 1519-23, jun. 2011. ISSN 1095- 9203. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21700865>. Acesso em: 3 jun. 2019.
- COSTA, N. M. B. *et al.* **Nutrição Experimental: teoria e prática**. Rio de Janeiro: Rubio, 2014.
- DE OLIVEIRA, N. D. *et al.* Benefícios da Inserção de Prebióticos na Alimentação de Crianças. **International Journal of Nutrology**, 2018.
- FU, C. *et al.* Antioxidant activities of kombucha prepared from three different substrates and changes in content of probiotics during storage. **Food Science Technology**. v. 34, n. 1, jan./mar. 2014.
- MAHAN, L. K.; ESCOTT-STUMP, S.; RAYMOND, J.L. **Krause Alimentos, Nutrição e Dietoterapia**. 13. ed. São Paulo: Elsevier, 2012.
- MOREIRA, R. A. M.; SANTOS, L.C.; LOPES, A. C. S. A qualidade da dieta de usuários de serviço de promoção da saúde difere segundo o comportamento alimentar obtido pelo modelo transteórico. **Revista de Nutrição**, v. 25, n. 6, p. 719-730, 2012.
- MOURA, R. L. M. *et al.* Redução da Incidência de Doenças Através do Consumo de Alimentos Funcionais. **International Journal of Nutrology**, 2018.

NETO, A. S. *et al.* Marcadores hepáticos, prevalência de alterações da síndrome metabólica e efeito do bypass gástrico com reconstrução em Y-de-Roux em pacientes obesos mórbidos. **Einstein**, v. 9, n. 4, p. 429-435, 2011.

RECH, C.; FREYGAN, J.; AZEVEDO, L. C. Efeito da farinha de banana verde sobre o perfil lipídico e glicídico de ratos Wistar. **Alimentos e Nutrição - Brazilian Journal of Food and Nutrition**, v. 25, n. 1, p. 7-11, 2014.

ROCHA, F. D. *et al.* Diabetes mellitus e estresse oxidativo: produtos naturais como alvo de novos modelos terapêuticos. **Revista Brasileira de Farmácia**. p. 49-54, 2006.

SCHEIDT, L. *et al.* Nutrição na doença hepática gordurosa não alcoólica e síndrome metabólica: uma revisão integrativa. **Arquivos de Ciência e Saúde**, v. 22, n. 2, p. 129-138, mai./ago. 2018.

SILVA, A. A. *et al.* Farinha de banana verde como ingrediente funcional em produtos alimentícios. **Ciência Rural**, v. 45, n. 12, p. 2252-2258, 2015.

TAGLIARI, E. *et al.* The impact of the use of symbiotics in the progression of nonalcoholic fatty liver disease in a rat model. **Arquivo Brasileiro de Cirurgia Digestiva (ABCD)**, v. 30, n. 3, p. 211-215, 2017.

TRIVIÑOS, A. N. S. **Introdução à pesquisa em ciências sociais**: a pesquisa qualitativa em educação. São Paulo: Atlas, 1987.

UMBRELLO, G.; ESPOSITO, S. Microbiota and neurologic diseases: potential effects of probiotic. **Journal of Translational Medicine**, v. 14, n. 298, p. 1-11, 2016.

VILLARREAL-SOTO, S. A. *et al.* Understanding kombucha Tea Fermentation: A Review. **Journal of Food Science**. p. 580-588, 2018.

WASZAK, M. N.; FERREIRA, C. C. D. Efeito hipoglicemiante das farinhas de banana verde e de maracujá no controle da glicemia em diabéticos. **Cadernos UniFOA**, v. 6, n. 1, 2011.

ANEXOS

ANEXO I – Parecer do Comitê de Ética ao Uso de Animais (CEUA)

CENTRO
UNIVERSITÁRIO

PARECER CEUA/FAG Nº 058 / 2018

Certificamos que o projeto intitulado “Avaliação dos efeitos da suplementação de farinha de banana verde e kombucha para ratos *Wistar* induzidos à diabetes pela dieta” protocolo nº 1858, sob a responsabilidade de Daniela Miotto Bernardi e Sostenez Alexandre Vessaro da Silva - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11. 794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADO COM RECOMENDAÇÃO** pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/FAG) do Centro Universitário Assis Gurgacz, em reunião de 01/11/2018.

Vigência do Projeto	01/12/2018 a 28/02/2019
Espécie/linhagem	Rato heterogênico <i>Wistar</i>
Nº de animais	35
Peso/Idade	45 - 55 g aproximadamente
Sexo	Machos
Origem	Biotério Centro Universitário Assis Gurgacz

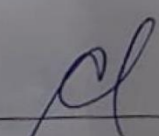
Ao final do projeto, quando aprovado, o pesquisador / professor deverá encaminhar à CEUA/FAG para acompanhamento da pesquisa o **relatório final** e a publicação de seus resultados, **até 60 dias** após o término do experimento bem como a comunicação de qualquer intercorrência, efeitos adversos ou fatos relevantes que alterem o curso normal do estudo.

É papel do pesquisador assegurar medidas imediatas adequadas frente a evento adverso grave ocorrido. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas à CEUA/FAG de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificada e suas justificativas.

O pesquisador / professor deve desenvolver a pesquisa conforme delineada no protocolo aprovado e descontinuar o estudo somente após análise das razões da descontinuidade pela CEUA/FAG que o aprovou, aguardando seu parecer, exceto quando perceber risco ou dano não previsto ao animal participante que requeiram ação imediata.

RECOMENDAÇÕES: recomenda-se rever o número de animais utilizados com a finalidade de reduzir a quantidade.

Cascavel, 01/11/2018


 Adriano Ramos Cardoso
 Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais
 Centro Universitário - FAG

Comissão de Ética no
 Uso de Animais - CEUA
 Centro Universitário Assis Gurgacz

ANEXO II – Formulário de acompanhamento de atividades dos acadêmicos

ANEXO III – Declaração de revisão ortográfica

ANEXO IV – Declaração de inexistência de plágio