



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ENGENHARIA DE ALIMENTOS

LEVI NASCIMENTO BELLINAZZI

**EFEITOS DO CONSUMO DE BACABA (*Oenocarpus bacaba* Mart.) SOBRE O
DESEMPENHO COGNITIVO E A RESISTÊNCIA À INSULINA DE
CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.**

**EFFECTS OF BACABA (*Oenocarpus bacaba* Mart.) CONSUMPTION ON
COGNITIVE PERFORMANCE AND INSULIN RESISTANCE IN
HIGH-FAT DIET-FED MICE**

CAMPINAS

2023

LEVI NASCIMENTO BELLINAZZI

**EFEITOS DO CONSUMO DE BACABA (*Oenocarpus bacaba* Mart.) SOBRE O
DESEMPENHO COGNITIVO E A RESISTÊNCIA À INSULINA DE
CAMUNDONGOS ALIMENTADOS COM DIETA HIPERLIPÍDICA.**

**EFFECTS OF BACABA (*Oenocarpus bacaba* Mart.) CONSUMPTION ON
COGNITIVE PERFORMANCE AND INSULIN RESISTANCE IN
HIGH-FAT DIET-FED MICE**

Dissertação apresentada à Faculdade de Engenharia de Alimentos da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos exigidos para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Nutrição.

Dissertation presented to the School of Food Engineering of the University of Campinas in partial fulfillment of the requirements for the degree of Master in Food and Nutrition.

Orientador: Prof. Dr. Mário Roberto Maróstica Junior
Co-orientadora: Profa. Dra. Ângela Giovana Batista

ESTE TRABALHO CORRESPONDE À
VERSÃO FINAL DA DISSERTAÇÃO
DEFENDIDA PELO ALUNO LEVI
NASCIMENTO BELLINAZZI, E
ORIENTADA PELO PROF. DR. MÁRIO
ROBERTO MARÓSTICA JUNIOR.

CAMPINAS

2023

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca da Faculdade de Engenharia de Alimentos
Claudia Aparecida Romano - CRB 8/5816

B417e Bellinazzi, Levi Nascimento, 1984-
Efeitos do consumo de bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) sobre o desempenho cognitivo e a resistência à insulina de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica / Levi Nascimento Bellinazzi. – Campinas, SP : [s.n.], 2023.

Orientador: Mário Roberto Maróstica Junior.
Coorientador: Ângela Giovana Batista.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia de Alimentos.

1. Bacaba. 2. Cognição. 3. Obesidade. 4. Compostos bioativos. I. Maróstica Junior, Mário Roberto. II. Batista, Ângela Giovana. III. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia de Alimentos. IV. Título.

Informações Complementares

Título em outro idioma: Effects of bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) consumption on cognitive performance and insulin resistance in high-fat diet-fed mice

Palavras-chave em inglês:

Bacaba

Cognition

Obesity

Bioactive compounds

Área de concentração: Nutrição Experimental e Aplicada à Tecnologia de Alimentos

Titulação: Mestre em Alimentos e Nutrição

Banca examinadora:

Mário Roberto Maróstica Junior [Orientador]

Iramaia Angelica Neri Numa

Renata Aparecida Soriano Sancho

Data de defesa: 29-05-2023

Programa de Pós-Graduação: Alimentos e Nutrição

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0002-7835-8892>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/0753602346701266>

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof. Dr. Mário Roberto Maróstica Junior
Faculdade de Engenharia de Alimentos - UNICAMP

Dra. Iramaia Angelica Neri Numa
Faculdade de Engenharia de Alimentos – UNICAMP

Dra. Renata Aparecida Soriano Sancho
Pontifícia Universidade Católica de Campinas – PUC-Campinas

A Ata de Defesa com as respectivas assinaturas dos membros encontra-se no SIGA/Sistema de Fluxo de Dissertações/Teses e na Secretaria do Programa de Pós-Graduação.

“Ora, Àquele que é poderoso para fazer tudo muito mais abundantemente além daquilo que pedimos ou pensamos, segundo o poder que em nós opera, A Esse glória na igreja, por Jesus Cristo, em todas as gerações, para todo o sempre. Amém.”

Efésios 3:20,21

DEDICATÓRIA

*À memória de meus pais,
para sempre em meu coração.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as coisas.

Aos meus pais Vladimir e Claudete, meus maiores exemplos de amor. Tudo o que fizeram por mim valeu a pena. Obrigado por terem me amado tão intensamente. Não houve um único dia sequer sem que vocês estivessem comigo. Até um dia!

À minha irmã Elisa e meu sobrinho Samuel. Perdoem-me pela ausência no momento mais delicado de suas vidas.

Ao Professor Dr. Mário R. Maróstica Junior, pelo aceite em ser meu orientador, pelas oportunidades, pelo voto de confiança e pela ajuda dispensada ao longo deste trabalho.

À Professora Dra. Ângela Giovana Batista, co-orientadora e minha maior inspiração para a realização desta pesquisa, por toda ajuda prestada, e por estar sempre disponível para me socorrer.

À colega de pesquisa e amiga Me. Luciana C. M. Gomes, pela parceria e amizade, e pela paciência em aturar meu sistematismo e detalhismo.

Às amigas improváveis Me. Maria Josiane Macedo e Iara L. Lemos, por tornarem o caminhar mais leve e divertido. Não sei o que teria sido de mim sem vocês!

Às técnicas Dra. Soely M. P. M. Reis e Maria Susana C. A. da Cunha, por todo apoio, ajuda, ensinamentos, paciência e momentos de descontração.

Aos colegas de grupo de pesquisa pelo apoio e pela ajuda, em especial ao Me. Gustavo H. T. A. Camillo, pela acolhida no momento de desespero; e à Dra. Amanda M. T. M. Moya, pela ajuda no experimento animal.

Aos membros da banca examinadora, pelo pronto aceite do convite, e pelas valiosas contribuições apontadas para aprimoramento deste trabalho.

À Universidade Estadual de Campinas, em especial à Faculdade de Engenharia de Alimentos, pela oportunidade de realização deste sonho.

Aos amigos que fiz ao longo desta jornada, e aos que torcem por mim, obrigado. O melhor ainda está por vir!

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001; e com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) – Brasil – Processos: 160935/2021-0; 403976/2021-9; 301496/2019-6.

RESUMO

A bacaba é uma fruta nativa da Amazônia brasileira pouco explorada, rica em compostos fenólicos e com alta capacidade antioxidante. Sua exploração representa uma alternativa promissora de alto valor nutricional para aplicações alimentícias e farmacêuticas. No entanto, estudos que avaliaram o potencial terapêutico da fruta ainda são escassos. Paralelamente, a obesidade representa um fator de risco para o desenvolvimento de diversas doenças, entre as quais estão os transtornos neurocognitivos: um conjunto de doenças neurodegenerativas que progridem com declínio cognitivo, comprometimento da memória e da aprendizagem. Um dos mecanismos desencadeados pela obesidade e que gera comprometimento cognitivo é a resistência à insulina. Considerando o perfil nutricional da bacaba, seus compostos bioativos e suas propriedades funcionais, este estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do consumo da bacaba sobre o desempenho cognitivo e a resistência à insulina de camundongos tratados com dieta hiperlipídica. Para tanto, foi determinada a composição centesimal da bacaba, seu teor de compostos fenólicos e de antocianinas totais; e foi investigado se a suplementação de uma dieta hiperlipídica com 5% de bacaba liofilizada seria capaz de promover melhor desempenho de camundongos submetidos a testes cognitivos. Sessenta camundongos Swiss machos foram distribuídos em quatro grupos experimentais, com 15 animais cada, que receberam: 1) dieta padrão normolipídica (grupo N); 2) dieta padrão normolipídica acrescida de 5% de bacaba (grupo NB); 3) dieta hiperlipídica (60% das calorias advindas dos lipídios) (grupo H); e 4) dieta hiperlipídica acrescida de 5% de bacaba (grupo HB), ao longo de 14 semanas. Para avaliar o desempenho cognitivo dos animais, os testes do labirinto em Y, de reconhecimento de novo objeto e de esquiva passiva foram aplicados. Teste de tolerância à glicose e à insulina foram realizados para verificar alterações no metabolismo da glicose. Como resultados, a bacaba apresentou teor de fenólicos totais de $2281,43 \pm 32,73$ mg AGE/100g, e de antocianinas totais de $54,41 \pm 3,13$ mg C3G/100g. A suplementação com bacaba não preveniu o ganho de peso dos animais que receberam dieta hiperlipídica, nem apresentou melhora no perfil glicêmico. Os animais que receberam a dieta hiperlipídica acrescida de bacaba tiveram melhor desempenho cognitivo nos testes de reconhecimento de novo objeto e da esquiva passiva, quando comparados com os animais alimentados com a dieta hiperlipídica sem bacaba. Estes resultados sugerem que o consumo da bacaba melhorou o desempenho cognitivo de animais alimentados com dieta hiperlipídica.

ABSTRACT

Bacaba is a poorly explored native fruit from the Brazilian Amazon, rich in phenolic compounds and showing high antioxidant capacity. Its exploration represents a promising alternative of high nutritional value for food and pharmaceutical applications. However, studies evaluating the therapeutic potential of this fruit are still lacking. In parallel, obesity represents a risk factor for the development of several diseases, among which are neurocognitive disorders: a set of neurodegenerative diseases that progress with cognitive decline, impaired memory and learning. One of the mechanisms triggered by obesity that generates cognitive impairment is insulin resistance. Considering the nutritional profile of bacaba, its bioactive compounds and functional properties, this study aimed to evaluate the effects of bacaba consumption on cognitive performance and insulin resistance in mice treated with a high-fat diet. To do so, the centesimal composition of bacaba, its content of phenolic compounds and total anthocyanins were determined, and it was investigated if the supplementation of a high-fat diet with 5% of freeze-dried bacaba could promote better performance of mice submitted to cognitive tests. Sixty male Swiss mice were distributed into four experimental groups, with 15 animals each, which received: 1) standard normolipid diet (group N); 2) standard normolipid diet plus 5% bacaba (group NB); 3) high-fat diet (60% of calories from lipids) (group H); and 4) high-fat diet plus 5% bacaba (group HB), during 14 weeks. To evaluate the cognitive performance of the animals, the Y maze, novel object recognition, and passive avoidance tests were applied. Glucose and insulin tolerance tests were performed to verify changes in glucose metabolism. The results showed that bacaba had total phenolic content of 2281.43 ± 32.73 mg GAE/100g, and total anthocyanins of 54.41 ± 3.13 mg C3G/100g. Bacaba supplementation did not prevent weight gain in the animals that received the hyperlipidic diet, nor did it improve the glycemic profile. The animals that received the hyperlipidic diet with bacaba had better cognitive performance in the tests of novel object recognition and passive avoidance, when compared with the animals fed the non-bacaba high-fat diet. These results suggest that bacaba consumption improved the cognitive performance of animals fed the high-fat diet.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO	11
II. OBJETIVOS	13
III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	14
3.1. A Bacaba	14
3.1.1. Composição centesimal da bacaba	15
3.1.2. Compostos fenólicos da bacaba	16
3.1.3. Capacidade antioxidante da bacaba	17
3.1.4. Efeitos da bacaba na saúde	19
3.2. Compostos bioativos na prevenção dos transtornos neurocognitivos	20
3.3. A obesidade como indutora de transtornos neurocognitivos	22
3.3.1. Processo inflamatório	23
3.3.2. Resistência insulínica no sistema nervoso central	24
3.3.3. Estresse oxidativo	25
3.4. Avaliação da função cognitiva em modelos animais	26
3.4.1. Teste do Labirinto em Y	28
3.4.2. Teste de reconhecimento de novo objeto	29
3.4.3. Teste de esquiva passiva	31
IV. MATERIAL E MÉTODOS	33
4.1. Preparo e caracterização química da fruta	33
4.1.1. Composição centesimal	33
4.1.2. Compostos bioativos e capacidade antioxidante	33
4.2. Ensaio animal e dietas	35
4.3. Testes de desempenho cognitivo	36
4.3.1. Teste do labirinto em Y	37
4.3.2. Teste de reconhecimento de novo objeto	37
4.3.3. Teste de esquiva passiva	38
4.4. Avaliação da tolerância à glicose e à insulina	39
4.5. Análise estatística	40
V. RESULTADOS	41
5.1. Caracterização química da bacaba	41
5.2. Peso corporal e ingestão alimentar	41
5.3. Tolerância à glicose e à insulina	43
5.4. Testes de desempenho cognitivo	44
5.4.1. Teste do labirinto em Y	44
5.4.2. Teste de reconhecimento de novo objeto	44
5.4.3. Teste de esquiva passiva	45
VI. DISCUSSÃO	46
VII. CONCLUSÃO	55
REFERÊNCIAS	56
ANEXOS	63

I. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença multifatorial cuja incidência tem aumentado de maneira alarmante nas últimas décadas. Estima-se que um terço da população mundial esteja acima do peso (CHOOI; DING; MAGKOS, 2019). No Brasil, a obesidade tem se tornado uma grande preocupação no campo da saúde pública. Dados da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) de 2019 realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) apontam que 60,3% da população adulta brasileira está com excesso de peso. Esta porcentagem representa cerca de 96 milhões de pessoas. A PNS 2019 revelou que a condição de sobrepeso e obesidade tem aumentado ao longo dos últimos anos, ao acompanhar os dados das Pesquisas de Orçamento Familiar (POF) realizadas em 2002-2003, 2008-2009 e PNS 2013 (BRASIL, 2020).

O crescimento da obesidade se torna uma preocupação devido às suas comorbidades e doenças associadas como hipertensão arterial, infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral, diabetes mellitus tipo 2, esteatose hepática, transtornos neurocognitivos e vários tipos de câncer (BLÜHER, 2019). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), a doença cardíaca isquêmica representa a principal causa de morte no Brasil, e se manteve nessa posição entre 2009 e 2019. Diabetes passou da sétima causa de morte em 2009 para a sexta causa em 2019; enquanto que a Doença de Alzheimer ocupava a nona posição em 2009 e passou a ocupar a sétima posição em 2019 (VOS *et al.*, 2020).

Diversos mecanismos já foram propostos relacionando a obesidade com os transtornos neurocognitivos decorrentes da neurodegeneração, tais como inflamação sistêmica, neuroinflamação, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, dislipidemia, hiperglicemia, resistência insulínica, entre outros (CALABRÒ *et al.*, 2021; MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019).

O termo “transtornos neurocognitivos” engloba diversas doenças neurodegenerativas que resultam em declínio cognitivo, redução de memória, linguagem e capacidade de resolução de problemas, sendo a Doença de Alzheimer (DA) o tipo mais comum representando de 60 a 80% dos casos de demência (“2023 Alzheimer’s disease facts and figures”, 2023). Em 2006, a prevalência da DA no mundo era de 26,6 milhões de pessoas. A previsão para 2050 é que este número chegue a 107 milhões, indicando que 1 a cada 85 pessoas viverão com a doença. Estima-se que, se intervenções forem capazes de atrasar o início e a progressão da DA em apenas um ano, haveria uma redução de 9,2 milhões de pessoas com a doença em 2050 (BROOKMEYER *et al.*, 2007).

A adoção de hábitos de vida saudáveis, como alimentação adequada, prática de atividade física e manejo do estresse, é essencial para a prevenção tanto da obesidade como das doenças neurodegenerativas. A inclusão de alimentos e produtos naturais fontes de compostos antioxidantes e fitoquímicos representa uma importante ferramenta para prevenção dos danos causados pela obesidade (REHMAN *et al.*, 2019).

A bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart., Arecaceae) é uma fruta oriunda de uma palmeira nativa da floresta amazônica, bastante consumida na região e a composição nutricional dos seus frutos apresenta elevados níveis de carboidratos, fibras e excelente fonte de ácidos graxos insaturados (ABADIO FINCO *et al.*, 2012; ESCRICHE *et al.*, 1999). Sua bioatividade está relacionada aos seus compostos fenólicos, ao teor de antocianinas e à sua alta capacidade antioxidante, sendo uma alternativa promissora de alto valor nutricional para aplicações alimentícias e farmacêuticas (MORAIS *et al.*, 2022; SILVA; SEVALHO; MIRANDA, 2021). No entanto, estudos sobre o potencial terapêutico da fruta ainda são escassos.

Neste trabalho, foram investigados os efeitos do consumo da bacaba sobre o desempenho cognitivo e a resistência à insulina de animais alimentados com dieta hiperlipídica.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos do consumo da bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) sobre o desempenho cognitivo e a resistência à insulina de animais tratados com dietas hiperlipídicas.

2.2. Objetivos específicos

1. Determinar a composição centesimal, o teor de compostos fenólicos e antocianinas, e a capacidade antioxidante da bacaba liofilizada.
2. Analisar os efeitos da suplementação com bacaba liofilizada no ganho de peso e no perfil glicêmico dos animais alimentados com dieta hiperlipídica.
3. Avaliar os efeitos da bacaba em parâmetros comportamentais de memória e aprendizagem em animais alimentados com dieta hiperlipídica.

III. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1. A Bacaba

O bioma da Amazônia brasileira é um dos mais ricos do mundo, com plantas ainda pouco exploradas. Seu solo e clima propiciam o desenvolvimento de palmeiras oleaginosas como tucumã (*Astrocaryum vulgare*), buriti (*Mauritia flexuosa*), palma (*Elaeis guineensis*, Jacq) e açaí (*Euterpe oleracea*), muitas delas cultivadas para fins comerciais (DA COSTA *et al.*, 2017).

A bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart., Arecaceae) é uma palmeira amazônica que produz frutos com casca roxa escura (**Figura 1**) e polpa marrom esbranquiçada, com pele indissociável da polpa (ABADIO FINCO *et al.*, 2012). Seu mesocarpo é consumido cozido ou na forma de bebida por comunidades indígenas locais, ou ainda na forma de geleia ou sorvete, e constitui uma fonte considerável de gorduras e carboidratos da dieta (ESCRICHE *et al.*, 1999). A polpa apresenta sabor agradável, e a fruta é colhida de janeiro a julho, normalmente na entressafra do açaí (NASCIMENTO *et al.*, 2019), e juntamente com ele é considerada uma nova “super fruta” (DA COSTA *et al.*, 2017; LEBA *et al.*, 2016).



Figura 1. Frutos maduros de bacabeira (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Imagem: o autor.

Apesar da carência de estudos e investigações sobre suas propriedades nutricionais e funcionais (ABADIO FINCO *et al.*, 2012), a exploração da bacaba pode trazer alto valor agroindustrial para a região, representar uma forma de preservar a flora nativa amazônica e de gerar renda para comunidades tradicionais (ESCRICHE *et al.*, 1999; NASCIMENTO *et al.*, 2019).

Até 2013, havia poucos estudos científicos publicados com a bacaba, assim como poucas patentes registradas (PEREIRA *et al.*, 2013). Após o levantamento bibliográfico para elaboração deste trabalho, verificou-se que ainda há poucas investigações utilizando o fruto atualmente.

3.1.1. Composição centesimal da bacaba

Escriche e colaboradores (1999) foram os primeiros pesquisadores a avaliar a composição nutricional da bacaba, utilizando frutos colhidos na Amazônia colombiana na divisa com o Brasil. Estudos posteriores avaliaram diferentes frações dos frutos de bacaba, oriunda de diferentes regiões do Norte do Brasil (DE CÓL *et al.*, 2021; MINELI *et al.*, 2021; SEIXAS *et al.*, 2016). Os resultados destes estudos estão resumidos na **Tabela 01**.

Tabela 01 - Composição nutricional da Bacaba.

Nutriente \ Fração	Mesocarpo (ESCRICHE <i>et al.</i> , 1999).	Amêndoa (ESCRICHE <i>et al.</i> , 1999).	Polpa (SEIXAS <i>et al.</i> , 2016).	Polpa (DE CÓL <i>et al.</i> , 2021).	Resíduo (MINELI <i>et al.</i> , 2021).
Proteínas	4.6 ± 0.2	4.7 ± 0.2	4,61 ± 0,43	8,08 ± 0,1	1,14 ± 0,13
Lipídios	30.2 ± 1.9	4.1 ± 0.3	21,02 ± 0,06	35,6 ± 0,2	12,70 ± 0,14
Carboidratos	39.3 ± 1.9	70.1 ± 1.3	-	4,87	23,6
Cinzas	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.1	1,53	1,91 ± 0,1	1,24 ± 0,096
Fibras dietéticas	18.9 ± 1.7	14.2 ± 1.3	-	49,6 ± 0,4	1,31 ± 0,29

Escriche e colaboradores (1999) avaliaram também a composição de ácidos graxos do óleo do mesocarpo da bacaba extraído no laboratório da Universidade del Valle (Cali, Colômbia) e do óleo extraído à mão de forma tradicional por uma indígena nativa da comunidade Peña Roja. Os dados obtidos são mostrados na **Tabela 02**.

Tabela 02 - Teor de ácidos graxos (mg/g) dos óleos obtidos de *Oenocarpus bacaba*.

Origem do óleo	Ácidos graxos insaturados	Palmitoleico 16:1	Oleico 18:1	Linoleico 18:2	Linolênico 18:3
Mesocarpo	82.3	0.3 ± 0.04	79.4 ± 2.5	2.2 ± 0.4	0.4 ± 0.1
Mesocarpo extraído à mão*	78.4	0.3 ± 0.02	76.1 ± 1.8	1.7 ± 0.2	0.3 ± 0.1
	Ácidos graxos saturados	Láurico 12:0	Mirístico 14:0	Palmítico 16:0	Estearico 18:0
Mesocarpo	18.5 ± 1.9	ND	ND	16.8 ± 1.1	1.7 ± 0.4
Mesocarpo extraído à mão*	16.9 ± 1.2	ND	ND	15.6 ± 0.8	1.3 ± 0.3

Escriche *et al.* (1999). / *Óleo extraído à mão por índios nativos da Amazônia.

Bacaba proveniente de Pimenta Bueno/RO apresentou composição centesimal semelhante àquela colhida na Colômbia. O ácido graxo mais abundante encontrado foi o ácido

oleico, seguido pelo palmítico e esteárico (SEIXAS *et al.*, 2016). A bacaba obtida no município de Abaetetuba/PA apresentou perfil lipídico semelhante, com predominância do ácido oleico entre os ácidos graxos insaturados, e do ácido palmítico entre os ácidos graxos saturados (PINTO *et al.*, 2018). Frutos da bacaba adquiridos em Palmas/TO apresentaram teores mais elevados de lipídios, proteínas e fibras do que os reportados anteriormente, conforme dados mostrados na **Tabela 01** (DE CÓL *et al.*, 2021).

O resíduo do beneficiamento da bacaba também teve sua composição nutricional avaliada, com objetivo de promover o aproveitamento integral do fruto na elaboração de geleia e novos produtos, além de gerar fonte de renda para as comunidades produtoras de bacaba. Após a extração do suco, o resíduo composto predominantemente por bagaço e casca foi caracterizado, cujos resultados constam na **Tabela 01** (MINELI *et al.*, 2021).

3.1.2. Compostos fenólicos da bacaba

A bacaba é uma fruta rica em compostos fenólicos. Análises para quantificação destes compostos revelaram um conteúdo de fenólicos totais de até 1759,27 mg de equivalente de ácido gálico, conteúdo de flavonoides de até 1134,32 mg de equivalente de catequina (ABADIO FINCO *et al.*, 2012), e de antocianinas de até 81 mg de cianidina-3-glicosídeo (DOS SANTOS *et al.*, 2015) por 100 g da fruta. A **Tabela 3** apresenta dados de estudos que analisaram os teores destes compostos na bacaba.

Tabela 03 - Teores de fenólicos, flavonoides e antocianinas na bacaba

Fenólicos totais (mg AGE/100g) ¹	Flavonoides (mg CTEq/100g) ²	Antocianinas (mg C3G/100g) ³	Referência
1759.27 ± 1.01	1134.32 ± 0.03	34.69 ± 0.00	ABADIO FINCO <i>et al.</i> (2012).
1795,48 ± 3,52	-	39,03 ± 0,52	SOUSA <i>et al.</i> (2016).
941 ± 23	36 ± 2	81 ± 1	DOS SANTOS <i>et al.</i> (2015).
953	-	-	DE CÓL <i>et al.</i> (2021).

¹Ácido gálico equivalente. ²Catequina equivalente. ³Cianidina-3-glicosídeo.

Abadio Finco *et al.* (2012) compararam a bacaba com outras frutas nativas brasileiras como bacuri, buriti e tucumã (ambas da família Arecaceae), e *berries* como mirtilo, framboesa e amora. A bacaba apresentou o maior teor de flavonoides entre as frutas analisadas. Os achados desse estudo constam na **Tabela 04**.

Tabela 04. Compostos fenólicos de frutas nativas brasileiras e algumas *berries*

Fruta	Fenólicos totais (mg AGE/100g) ¹	Flavonoides (mg CTE/100g) ²	Antocianinas (mg C3G/100g) ³
Bacaba (<i>Oenocarpus bacaba</i>)	1759,27 ± 1,01	1134,32 ± 0,03	34,69 ± 0,00
Bacuri (<i>Platonia insignis</i>)	266,80 ± 3,3	103,8 ± 0,3	-
Buriti (<i>Mauritia vinifera</i>)	108,1 ± 6,8	71,3 ± 3,6	-
Pequi (<i>Caryocar villosum</i>)	4623,4 ± 102,4	741,2 ± 36,6	-
Framboesa (<i>Rubus idaeus</i>)	2062,3 ± 4,1	41,1 ± 0,9	24,3 ± 0,3
Mirtilo (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	670,9	190,3	-
Amora (extrato aquoso) (<i>Rubus fruticosus</i>)	2445,9 ± 14,8	42,8 ± 0,3	87,1 ± 1,0
Tucumã (<i>Astrocaryum aculeatum</i>)	456,8 ± 5,2	433,2 ± 10,4	-

Abadio Finco *et al.* (2012) / ¹Ácido gálico equivalente. ²Catequina equivalente. ³Cianidina-3-glicosídeo.

Dos Santos e colaboradores (2015) também compararam a bacaba com outras frutas de palmeiras amazônicas (família Arecaceae) como buriti, inajá, pupunha e tucumã. A fruta apresentou os seguintes teores: 941 ± 23 mg AGE/100g de fenólicos totais; 81 ± 1 mg/100g de antocianinas; 36 ± 2 mg/100g de flavonoides amarelos; e 30 ± 2 mg/100g de vitamina C. Todos estes valores foram superiores aos das demais frutas analisadas, confirmando a bacaba como excelente fonte de polifenóis (DOS SANTOS *et al.*, 2015). Corroborando com esses achados, uma análise mais recente mensurou 953 mg AGE/100g de fenólicos totais na polpa da bacaba (DE CÓL *et al.*, 2021).

Dentre os compostos fenólicos da bacaba, foram identificados: vicenina-2, orientina ou isoorientina, apigenina-8-C-glucosídeo, isorhamnetina dihexosídeo ou rhamnetina dihexosídeo, quercetina-3-O-hexosídeo, rutina; e entre as antocianinas, cianidina 3-O-glucosídeo e cianidina-3-O-rutinósido foram majoritárias (ABADIO FINCO *et al.*, 2012).

3.1.3. Capacidade antioxidante da bacaba

A bacaba possui alta capacidade antioxidante, conforme mostrado na **Tabela 05** em comparação com outras *berries*, como mirtilo e *cranberry*.

Em ensaios de atividade antioxidante celular (CAA), a bacaba apresentou o maior valor de CAA (305,2 ± 90,8 mg / mL) quando comparada com amora preta (154 ± 6,8 mg / mL), mirtilo (74,1 ± 12,5 mg / mL), *cranberry* (33,6 ± 2,0 mg / mL) e morango (42,4 ± 3,3 mg / mL), possivelmente devido ao seu conteúdo de fenólicos totais, flavonoides e antocianinas (ABADIO FINCO *et al.*, 2012).

Tabela 05. Atividade antioxidante da bacaba e outras *berries*

Fruta	ORAC ¹ ($\mu\text{mol TE}/100\text{g}$)	TEAC ² ($\mu\text{mol TE}/100\text{g}$)	FRAP ³ ($\text{mmol TE}/100\text{g}$)
Bacaba (<i>Oenocarpus bacaba</i>)	10.750,71 \pm 1496,51	3.294,55 \pm 301,55	13,44 \pm 0,20
Açaí (<i>Euterpe oleracea</i>)	63.000	-	-
Mirtilo (<i>Vaccinium myrtillus</i>)	6.184 \pm 775	-	-
Amora (<i>Rubus fruticosus</i>)	-	-	17,7
Cranberry (<i>Vaccinium L.</i>)	9.256 \pm 138	-	-
Framboesa (<i>Rubus idaeus</i>)	4.765 \pm 718	-	12,7
Cereja azeda (<i>Prunus cerasus</i>)	1.145 – 1.916	2.000 – 2.600	-

Adaptado de ABADIO FINCO *et al.* (2012). / ¹Oxygen radical absorbance capacity: capacidade de absorção de radical de oxigênio. ²Trolox equivalent antioxidant capacity: capacidade antioxidante equivalente de Trolox.

³Ferric-reducing ability of plasma: capacidade redutora de ferro do plasma.

A capacidade antioxidante da bacaba também foi avaliada pelo método do β -caroteno / ácido linoleico, que analisa a capacidade da fruta em prevenir a oxidação do β -caroteno diante dos radicais livres gerados durante a peroxidação do ácido linoleico. A bacaba apresentou alta capacidade antioxidante, atingindo 92% no nível de inibição de oxidação (OI) em análises que compararam diferentes frutas de palmeiras nativas da Amazônia. Entre as frutas comparadas, tucumã e inajá também apresentaram alta capacidade antioxidante (92% e 80% OI, respectivamente), enquanto que buriti e pupunha apresentaram capacidade antioxidante em nível intermediário (65% e 62% OI, respectivamente) (DOS SANTOS *et al.*, 2015).

Tanto pelo método DPPH quanto pelo ORAC, a bacaba apresentou a maior capacidade antioxidante entre as mesmas frutas citadas anteriormente (DOS SANTOS *et al.*, 2015). Resultados semelhantes foram encontrados por Abadio Finco e colaboradores (2012) ao comparar a bacaba com outras *berries*. Pelo método ORAC, a bacaba exibiu capacidade antioxidante menor do que o açaí apenas. Ao comparar diferentes frutas, os autores relacionaram a alta capacidade antioxidante com os maiores teores de polifenóis (ABADIO FINCO *et al.*, 2012).

Um estudo avaliou pós de bacaba obtidos por dois diferentes métodos de secagem (convectivo e liofilização) para determinar o teor de compostos fenólicos e a capacidade antioxidante (SANTOS *et al.*, 2022). Os dados, mostrados na **Tabela 06**, sugerem que a secagem convectiva a 60° C afeta negativamente os compostos bioativos da bacaba, e que a liofilização seria o método mais indicado para mantê-los, apesar de os autores não discutirem sobre a diferença estatística considerável dos teores de polifenóis totais entre os dois métodos utilizados.

Tabela 06 - Compostos bioativos e atividade antioxidante de pó de bacaba obtido por dois métodos de secagem

Composto bioativo	Liofilização	Secagem convectiva
Polifenóis totais (mg AGE / 100g) ¹	290,93 ± 7,35	1118,11 ± 5,35
Flavonoides (mg / 100g)	54,25 ± 1,18	43,35 ± 3,47
Antocianinas (mg C3G / 100g) ²	21,32 ± 1,50	17,15 ± 4,23
Carotenoides (mg / 100g)	1068,30 ± 10,50	908,17 ± 5,75
ABTS (μmol Trolox / g)	75,50 ± 5,50	63,45 ± 4,35
DPPH (g/g)	1550,10 ± 15,50	1757,30 ± 10,35

Santos *et al.* (2022). / ¹Ácido gálico equivalente. ³Cianidina-3-glicosídeo.

De acordo com o mesmo estudo, a análise morfológica dos grânulos indicou que a bacaba liofilizada apresentou estruturas mais conservadas e íntegras. Os autores destacam que a manutenção da estrutura é de especial importância para utilização do pó em nível tecnológico no segmento de panificação e massas alimentícias, além de outros segmentos industriais que podem se beneficiar da ação nutricional e funcional da bacaba (SANTOS *et al.*, 2022).

3.1.4. Efeitos da bacaba na saúde

Análises da qualidade funcional do óleo da bacaba revelaram uma proporção de ácidos graxos poli-insaturados / saturados de 0,43. Segundo os autores, esta proporção expressa a funcionalidade e a potencialidade do óleo por estar relacionada ao desenvolvimento de células nervosas, neurônios e células da glia, com efeitos observados em diferentes processos fisiológicos, na prevenção e no tratamento de doenças. O óleo apresentou ainda um índice de aterogenicidade (IA) de 0,30; índice de trombogenicidade (TI) de 0,67; e relação hipocolesterolêmica / hipercolesterolêmica (H/H) de 3,32. Quanto menor o valor de IA e TI maior o potencial preventivo para doenças cardiovasculares; ao contrário, um alto valor da relação H/H indica um óleo mais adequado para consumo. Estes indicadores sugerem que o óleo de bacaba pode ter ação cardioprotetora, e poderia ser utilizado como óleo de mesa, em substituição ao azeite de oliva (PINTO *et al.*, 2018).

Um extrato de bacaba demonstrou maior atividade antiproliferativa quando comparado com o extrato de jenipapo (ABADIO FINCO; BÖSER; GRAEVE, 2013); e também inibiu a proliferação celular por indução da apoptose em linhagem celular de câncer de mama MCF-7, sugerindo possível papel na prevenção do câncer (ABADIO FINCO; KLOSS; GRAEVE, 2016). Em culturas de pré-adipócitos 3T3-L1, o extrato fenólico da bacaba em três diferentes concentrações (6, 12 e 24 μg AGE / ml) reduziu a adipogênese e a expressão de fatores de transcrição adipogênicos (PPARγ e C/EBPα), receptor de insulina IR-β e

adiponectina de maneira dose dependente, inibindo a diferenciação de pré-adipócitos e o acúmulo de lipídios (LAUVAI *et al.*, 2017).

Apesar das propriedades nutricionais e funcionais da bacaba, e seus promissores efeitos na saúde, poucos estudos tem avaliado o potencial do fruto no combate a doenças. Até o momento, parece não haver estudos utilizando a bacaba para avaliar seus efeitos na obesidade e comorbidades associadas, assim como na neurodegeneração consequente da resistência insulínica. Novos produtos naturais, que sejam fontes de compostos bioativos, podem representar uma opção de intervenção para prevenir ou retardar os danos causados pela obesidade. A exploração da bacaba para este objetivo poderá trazer benefícios à região de cultivo, como a preservação da flora e a geração de renda.

3.2. Compostos bioativos na prevenção dos transtornos neurocognitivos

As causas dos transtornos neurocognitivos são multifatoriais e envolvem diversos mecanismos distintos, que serão apresentados na próxima seção desta revisão. As formas de prevenção e tratamento desses transtornos devem ser amplas e levar em consideração a interação das diferentes vias envolvidas na fisiopatologia. Os tratamentos convencionais ainda são pouco eficazes para tratar ou prevenir as doenças, e não apresentam um efeito significativo (CALABRÒ *et al.*, 2021; ERATNE *et al.*, 2018).

Tendo em vista o crescimento na incidência da obesidade e do declínio cognitivo associado a ela, a busca por produtos naturais que possam prevenir déficits cognitivos e/ou restaurar a memória é de grande interesse. Os mecanismos de ação desses produtos se devem aos seus compostos bioativos, que modulam diferentes vias de sinalização, como aquelas relacionadas ao dobramento de proteínas, neuroinflamação, estresse oxidativo e degradação de amiloide β . Entre os compostos bioativos que possuem estes efeitos estão: flavonoides em geral, ácido gálico, ácido elágico, taninos, vitamina C, vitamina E, carotenoides, resveratrol, cinamaldeído, eugenol, bromelaína, ácido cafeoilquínico, entre outros (REHMAN *et al.*, 2019; SAIRAZI; SIRAJUDEEN, 2020; WILLIAMS; SPENCER, 2012).

Estudos semelhantes ao proposto neste trabalho mostraram que a suplementação com frutas ricas em fibras e compostos bioativos (sobretudo compostos fenólicos) preveniram danos cognitivos em camundongos suíços alimentados com dieta hiperlipídica (60% das calorias totais vindas de gordura) para indução de obesidade e resistência insulínica (BATISTA *et al.*, 2017, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2023).

A dieta suplementada com casca de jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) foi capaz de evitar o ganho de gordura, melhorar as defesas antioxidantes no cérebro, reduzir citocinas inflamatórias TNF- α e IFN- γ , reduzir a resistência insulínica e a fosforilação da proteína Tau, e os animais suplementados apresentaram melhores desempenhos no teste cognitivo do labirinto aquático de Morris. Os animais receberam a dieta hiperlipídica por 10 semanas, e foram comparados com o grupo controle sem a suplementação com casca de jaboticaba (BATISTA *et al.*, 2017).

Nas mesmas condições do estudo acima, a suplementação com jambo-vermelho (*Syzygium malaccense*) rico em antocianinas melhorou a sensibilidade periférica à insulina, a defesa antioxidante no cérebro, minimizou a fosforilação da proteína Tau no hipocampo, com consequente melhoria de desempenho no teste do labirinto aquático de Morris (BATISTA *et al.*, 2020).

A suplementação com polpa de açaí (*Euterpe oleracea*) em dieta hiperlipídica promoveu melhor sensibilidade à insulina, reduziu glicemia de jejum, e os animais suplementados apresentaram maior concentração da citocina anti-inflamatória adiponectina. Também houve melhora nas defesas antioxidantes no hipocampo, maior fosforilação e inativação da GSK3- β no grupo suplementado, assim como menor fosforilação da proteína Tau. A suplementação com açaí também melhorou o desempenho dos animais no teste cognitivo de reconhecimento de novo objeto, sugerindo melhoria na memória (DOS SANTOS *et al.*, 2023).

Estudos que suplementaram uma dieta hiperlipídica com naringina (WANG *et al.*, 2015), naringenina (ZHOU *et al.*, 2020), luteolina (LIU *et al.*, 2014) e pigmento extraído da batata doce roxa rico em antocianinas (LI; SHI; MI, 2018) também apresentaram desfechos positivos relacionados à preservação da memória dos animais submetidos aos testes cognitivos.

O mecanismo pelo qual os compostos fenólicos exercem papel neuroprotetivo incluem vias diretas e indiretas (ANDRADE *et al.*, 2016; WILLIAMS; SPENCER, 2012). As antocianinas, por exemplo, são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica e agir no córtex e no hipocampo. Uma recente revisão sobre o papel das antocianinas na neuroproteção e melhora cognitiva verificou que diversos estudos *in vitro* e *in vivo* tiveram como desfecho aumento das defesas antioxidantes, diminuição de espécies reativas de oxigênio, menor ativação da GSK3- β e fosforilação da proteína Tau, redução na formação de placas senis e emaranhados neurofibrilares, menores níveis de marcadores inflamatórios, regulação da plasticidade sináptica, depuração de proteínas tóxicas no cérebro, e melhor desempenho em testes de aprendizagem e memória (DOS SANTOS *et al.*, 2019). Portanto, há indicativos de

que os compostos fenólicos podem representar um produto natural para prevenir ou retardar os danos neurodegenerativos.

A flora brasileira possui riquíssima variedade de espécies de plantas e frutas ainda pouco exploradas, como a bacaba, e que podem representar uma importante fonte de produtos naturais e ingredientes para novos suplementos e alimentos funcionais. A exploração dessas frutas para fins terapêuticos é de interesse da indústria alimentícia e farmacêutica, assim como do consumidor que busca cada vez mais por produtos sustentáveis e que sejam eficazes devido aos seus compostos bioativos (DOS SANTOS *et al.*, 2015; MORAIS *et al.*, 2022; NERINUMA *et al.*, 2018).

3.3. A obesidade como indutora de transtornos neurocognitivos

A obesidade pode contribuir para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas como Doença de Parkinson (DP), Doença de Huntington (DH) e Doença de Alzheimer (DA). Tais doenças têm como características a perda da estrutura, da função, e consequente morte dos neurônios, levando aos transtornos neurocognitivos, até há pouco tempo chamados de demências (SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014).

O termo “proteíopatias” tem sido utilizado para designar as doenças neurodegenerativas associadas ao depósito e agregação de proteínas mal dobradas, como ocorre na Doença de Alzheimer (ALLEGRI, 2020). Em nível celular, a DA é caracterizada pelo acúmulo de placas de peptídeo beta amiloide ($A\beta$) no espaço extracelular, e por emaranhados neurofibrilares (NFT) no interior das células (SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014).

As placas de $A\beta$ são formadas a partir de uma produção excessiva de peptídeos beta amiloide não eliminados (SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014). Estes peptídeos derivam-se da proteína precursora de amiloide (APP). Fisiologicamente, a APP é clivada pela enzima α -secretase, e em seguida pela enzima γ -secretase. Essa sequência de clivagens impede a formação de $A\beta$. No entanto, na DA a APP é clivada inicialmente pela enzima β -secretase seguida pela γ -secretase, resultando na produção de β -amiloides, que se agregam em oligômeros neurotóxicos e formam as placas senis (CALABRÒ *et al.*, 2021; ERATNE *et al.*, 2018).

Os emaranhados neurofibrilares são formados por agregados de proteína Tau hiperfosforilada. A proteína Tau encontra-se ligada aos microtúbulos dos axônios, garantindo a estabilização destes, a integridade estrutural dos neurônios e a função sináptica. Quando hiperfosforilada, a proteína Tau se desprende dos microtúbulos e se agrega em filamentos

helicoidais, que então formam os emaranhados neurofibrilares; enquanto que os neurônios se contraem em massas celulares, e, portanto, perdem a capacidade de realizar sinapses. A principal enzima responsável pela fosforilação da proteína Tau é a glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK3 β). Nos estágios iniciais da DA, os NFT se formam no córtex transentorrinal e no hipocampo, estruturas responsáveis pela aprendizagem e memória (CALABRÒ *et al.*, 2021; SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014).

Diversos mecanismos já foram propostos relacionando a obesidade com a neurodegeneração, tais como inflamação sistêmica, neuroinflamação, disfunção mitocondrial, estresse oxidativo, dislipidemia, hiperglicemia, resistência insulínica, entre outros. Estes mecanismos agem de forma sinérgica, tanto na periferia como no SNC, potencializando o dano neuronal (CALABRÒ *et al.*, 2021; MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019; SILVA *et al.*, 2019).

A seguir, serão discutidos brevemente os mecanismos do processo inflamatório, da resistência insulínica e do estresse oxidativo, pelos quais a obesidade pode gerar os transtornos neurocognitivos.

3.3.1. Processo Inflamatório

A obesidade é considerada como um estado de inflamação subclínica. O tecido adiposo, além de armazenar energia, produz e secreta citocinas pró-inflamatórias, como interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral α (TNF- α) (BLÜHER, 2019; SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014). Os adipócitos também produzem a citocina anti-inflamatória adiponectina, de maneira inversamente proporcional à adiposidade. Dessa forma, na obesidade há maior produção das citocinas pró-inflamatórias juntamente com diminuição da citocina anti-inflamatória adiponectina, o que potencializa a inflamação, uma vez que a adiponectina inibiria a produção de TNF α e IL-6 (SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014).

As citocinas pró-inflamatórias agem tanto localmente como sistemicamente, criando um ambiente inflamatório crônico de baixo grau, como também são capazes de atravessar a barreira hematoencefálica (BHE) favorecendo a neuroinflamação (KINNEY *et al.*, 2018; SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014).

A neuroinflamação ocorre pela ativação das células da glia, um conjunto de células que oferecem suporte e proteção aos neurônios, atuando na regulação de diversos processos no cérebro, como manutenção da barreira hematoencefálica, modulação da neurotransmissão, homeostase e neuroinflamação (CALABRÒ *et al.*, 2021; SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS,

2014). Estas células, sobretudo a micróglia, também produzem citocinas pró-inflamatórias, e podem ser ativadas em resposta a diversas substâncias, como ceramidas e ácidos graxos livres advindos do tecido adiposo, peptídeos A β , emaranhados neurofibrilares de proteína Tau, e fragmentos celulares necróticos decorrentes da neurodegeneração (TRÄGER; TABRIZI, 2013).

As células da glia, em condições fisiológicas, fagocitam os peptídeos A β e evitam seu acúmulo. No entanto, na ocorrência de neuroinflamação, as citocinas pró-inflamatórias podem inibir esse processo (CALABRÒ *et al.*, 2021). As citocinas parecem ser capazes de alterar o complexo receptor de superfície celular responsável pela ligação e fagocitose dos peptídeos de A β pela micróglia, reduzindo a eficiência desta ligação. Elas também podem inibir a organização do citoesqueleto necessária para a fagocitose, alterar a morfologia celular da micróglia, e diminuir a atividade da enzima que degrada a A β (KINNEY *et al.*, 2018; KOENIGSKNECHT-TALBOO; LANDRETH, 2005).

3.3.2. Resistência insulínica no sistema nervoso central

A obesidade leva à resistência periférica e central à insulina. No sistema nervoso central, a insulina atua garantindo a sobrevivência neuronal, a plasticidade sináptica, e regulando vias relacionadas à memória, cognição, aprendizagem e atenção. Na resistência insulínica, há comprometimento da ligação da insulina ao seu receptor, assim como regulação negativa desse receptor e de seus substratos, com consequente diminuição ou ausência da resposta à insulina (MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019; SILVA *et al.*, 2019). A resistência insulínica pode causar neuroinflamação e neurodegeneração principalmente pelo aumento da concentração de A β e pela hiperfosforilação da proteína Tau (BIESSELS; DESPA, 2018; CALABRÒ *et al.*, 2021).

O principal mecanismo que une a resistência insulínica ao aumento de A β e hiperfosforilação da proteína Tau é a inativação da via PI3K / Akt / GSK3 β , que é essencial para garantir a sobrevivência neuronal (SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014). Em condições fisiológicas, a via de sinalização da insulina tem início com a fosforilação em tirosina do substrato 1 do receptor da insulina (IRS-1), e segue com a fosforilação de outras proteínas quinases. A via dependente do fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) e da proteína quinase B (Akt) tem especial importância no entendimento da neurodegeneração associada à resistência insulínica e à obesidade. O IRS-1 fosforilado em tirosina ativa a PI3K, que por sua vez ativa a Akt. Esta fosforila a glicogênio sintase quinase 3 beta (GSK3 β), inativando-a (KITAGISHI *et al.*, 2012; MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019).

Na condição de resistência à insulina, essa cascata de sinalização é prejudicada, impedindo a fosforilação e conseqüente inativação da GSK3 β . A GSK3 β ativa promove a fosforilação da proteína tau ligada aos microtúbulos dos neurônios, ocasionando na formação de placas A β e NTF (MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019; SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014). Dessa forma, a inibição da GSK-3 β é importante para garantir a sobrevivência neuronal (CALABRÒ *et al.*, 2021). Peptídeos A β também podem competir com a insulina pela ligação ao seu receptor e reduzir a afinidade de ligação entre eles (BIESSELS; DESPA, 2018).

O processo inflamatório decorrente da obesidade também pode potencializar a resistência à insulina. O aumento de citocinas pró-inflamatórias é capaz de inibir a atividade da tirosina quinase do receptor de insulina, prejudicando a sinalização da insulina e mecanismos decorrentes especificados (KINNEY *et al.*, 2018). As citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6 e TNF- α ativam serina quinases como a c-Jun N-terminal quinase (JNK), que fosforila os resíduos de serina do IRS-1, bloqueando a via PI3K / Akt / GSK3 β da sinalização da insulina (MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019; SRIPETCHWANDEE; CHATTIPAKORN; CHATTIPAKORN, 2018). Além disso, a resistência insulínica no cérebro também pode aumentar a expressão das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , IL-6, TNF α no hipotálamo, córtex cerebral, cerebelo, amígdala e hipocampo, potencializando a neuroinflamação (MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019).

Estudos com modelos animais que investigam os efeitos da resistência insulínica sobre a função cognitiva utilizam-se de testes metabólicos para avaliar o metabolismo da glicose (BOWE *et al.*, 2014; LIU *et al.*, 2014; WANG *et al.*, 2015). Os principais testes utilizados são o teste de tolerância à glicose (GTT, do inglês *glucose tolerance test*) que avalia a homeostase da glicose influenciada pela taxa de secreção de insulina pelas células beta pancreáticas após a administração de uma dose de glicose; e o teste de tolerância à insulina (ITT, do inglês *insulin tolerance test*), que avalia a sensibilidade dos tecidos-alvo à insulina após a administração de uma dose do hormônio (DRAGANO; MILBANK, 2022).

3.3.3. Estresse oxidativo

Além da resistência insulínica e inflamação crônica, outro mecanismo associado à neurodegeneração e ao declínio cognitivo é a disfunção mitocondrial e o estresse oxidativo (CHERBUIN *et al.*, 2019).

O cérebro é um órgão bastante sensível ao estresse oxidativo devido ao seu alto conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados nas membranas celulares e seu elevado consumo de

oxigênio, associados à baixa concentração de enzimas antioxidantes (JHA *et al.*, 2017; MACIEJCZYK; ŻEBROWSKA; CHABOWSKI, 2019).

O aumento de ácidos graxos livres liberados pelo tecido adiposo pode reduzir a atividade das enzimas antioxidantes glutatona peroxidase (GPX), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), diminuir a síntese de glutatona (GSH) e gerar estresse oxidativo (SRIPETCHWANDEE; CHATTIPAKORN; CHATTIPAKORN, 2018).

Também o acúmulo de peptídeos A β gera estresse oxidativo e espécies reativas de oxigênio e nitrogênio (ERO e ERN), que por sua vez promovem a fosforilação da proteína Tau, intensificando o dano neuronal (CALABRÒ *et al.*, 2021). O estresse oxidativo também pode alterar o metabolismo celular, a sinalização da insulina, e aumentar a produção de citocinas pró-inflamatórias, promovendo ainda mais a neurodegeneração. As células da glia ativadas durante a neuroinflamação também produzem ERO e ERN, contribuindo com o processo de estresse oxidativo (ANGELOVA, 2021).

Todos os mecanismos apresentados acima contribuem sinergicamente para a instalação e a progressão do declínio cognitivo associado à obesidade. Os estudos e as pesquisas focados em investigar as causas e as intervenções capazes de prevenir os transtornos neurocognitivos decorrentes da obesidade e da resistência à insulina utilizam-se de modelos animais e de testes comportamentais para avaliar o comprometimento da memória e da aprendizagem (HÖLTER *et al.*, 2015; WEBSTER *et al.*, 2014). A seguir, serão apresentados três dos testes comportamentais mais utilizados para avaliar a função cognitiva em animais.

3.4. Avaliação da função cognitiva em modelos animais

A função cognitiva pode ser definida como a capacidade de prestar atenção, se concentrar, aprender coisas novas, lembrar fatos e acontecimentos, e tomar decisões (HÖLTER *et al.*, 2015). O declínio da função cognitiva em camundongos apresenta progressão semelhante àquela observado em humanos, conforme ilustrado na **Figura 2**. Em animais, os primeiros comprometimentos envolvem a memória de trabalho espacial, que pode ser avaliada por meio de testes em labirinto aquático. Deficiências na aprendizagem associativa e na memória de referência podem ser observadas sem seguida, e são avaliadas por testes de alternância em labirinto em T ou Y, ou testes de condicionamento de medo, como o teste de esquiva passiva. Posteriormente, se manifestam os déficits na memória de reconhecimento, que podem ser avaliados pelo teste de reconhecimento de novo objeto (WEBSTER *et al.*, 2014).

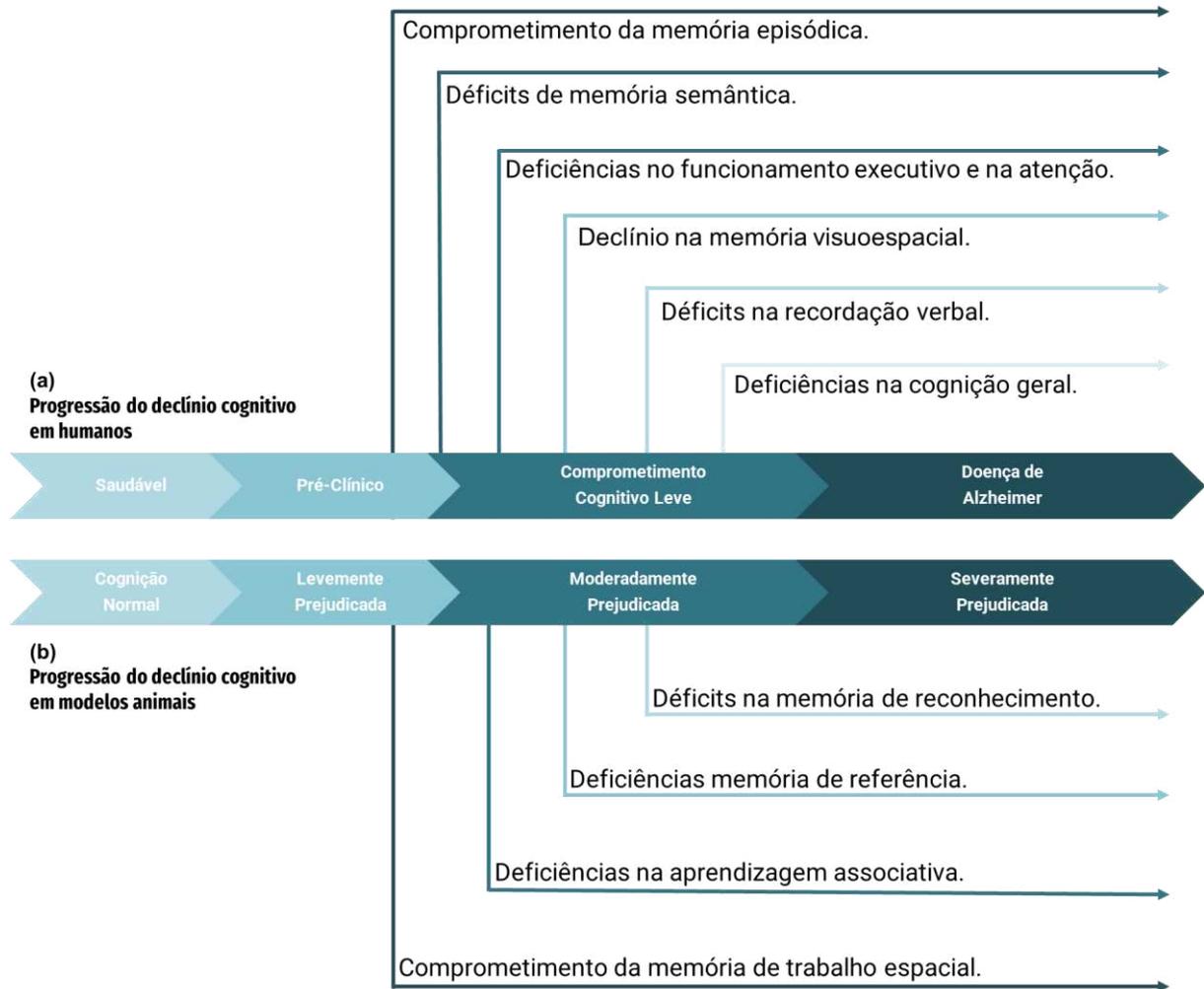


Figura 2. Progressão do declínio cognitivo em humanos e em modelos animais. **(a)** A progressão do declínio cognitivo em humanos, associado à Doença de Alzheimer, inicia-se com comprometimento da memória episódica ainda na fase pré-clínica da doença, progredindo para déficits de memória semântica, deficiências no funcionamento executivo, na atenção e na memória visuoespacial, no início do Comprometimento Cognitivo Leve (CCL). Com o avanço do CCL, são observados déficits na recordação verbal e, por fim deficiências na cognição geral, quando o paciente evolui para a DA com comprometimento de todos os domínios cognitivos. **(b)** Em modelos animais, as primeiras deficiências são observadas na memória de trabalho espacial, seguidas por deficiências na aprendizagem associativa e na memória de referência. Por fim, déficits na memória de reconhecimento se apresentam como comprometimento cognitivo. Imagem adaptada de Webster *et al.* (2014).

Diferentes testes comportamentais para avaliar a cognição em camundongos estão disponíveis e são utilizados em pesquisas científicas, cada qual capaz de avaliar diferentes aspectos da memória e da aprendizagem. A utilização de dois ou mais testes em conjunto permite uma avaliação mais abrangente das habilidades cognitivas, uma vez que os resultados obtidos se complementam, não sendo recomendável a utilização de um único teste para esse fim (HÖLTER *et al.*, 2015).

Neste estudo, foram empregados os testes: 1) teste do labirinto em Y, para avaliar a memória operacional espacial de curto prazo; 2) teste de reconhecimento de novo objeto, para avaliar a aquisição e a consolidação da aprendizagem e da memória; e 3) teste da esQUIVA passiva, utilizado para avaliar as memórias de curto e de longo prazo associadas a um estímulo aversivo.

3.4.1. Teste do Labirinto em Y

O teste do labirinto em Y é utilizado para avaliar a memória de trabalho e de referência, e tem sido utilizado em estudos que relacionam alterações comportamentais com o consumo de uma dieta hiperlipídica, e modelos de doenças neurodegenerativas (ALMEIDA-SUHETT *et al.*, 2017, 2019; WEBSTER *et al.*, 2014; YOSHIZAKI; ASAI; HARA, 2020). O teste pode ser empregado de duas maneiras distintas utilizando o mesmo aparato, e seus resultados refletem a função cognitiva da memória de curto prazo (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019). O aparato constitui-se de um labirinto em forma de Y, com três braços equidistantes em ângulos de 120 graus entre si, que pode ser utilizado para o teste de alternância espontânea ou para o teste de memória de referência espacial (**Figura 3**).

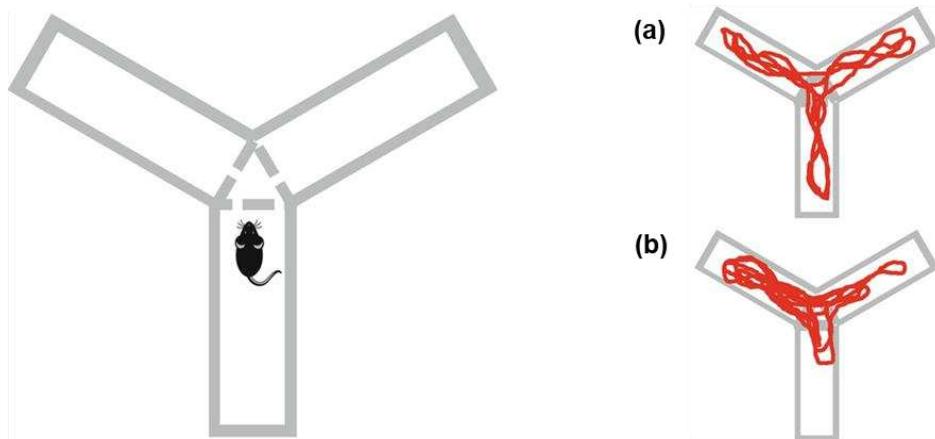


Figura 3. Teste de alternância espontânea no labirinto em Y. **(a)** Alta porcentagem de alternância entre os três braços do labirinto, indicando memória de trabalho preservada. **(b)** Baixa porcentagem de alternância entre os três braços, indicativa de memória de trabalho prejudicada. Imagem: Kraeuter *et al.* (2019).

De acordo com o protocolo proposto por Kraeuter *et al.* (2019), no teste de alternância espontânea é permitido ao animal explorar livremente o labirinto por um determinado período, ao término do qual o número de entradas em cada braço do labirinto é contabilizado, assim como o número de alternâncias completas ou perfeitas. A entrada completa em determinado braço é considerada quando as quatro patas do animal se encontram dentro do

braço. Uma alternância perfeita ocorre quando o animal entrou nos três braços distintos consecutivamente. O resultado final do teste é expresso em porcentagem de alternância, que é calculada pela fórmula: $\% \text{ alternâncias} = (\text{número de alternâncias} / \text{número total de entradas} - 2) \times 100$. Quanto mais alto o valor da porcentagem de alternância, melhor indicativo de preservação da memória de trabalho. O teste avalia o comportamento do animal motivado por sua curiosidade inata em explorar áreas desconhecidas; sendo que um animal com boa memória irá se lembrar de quais braços já visitou, e irá demonstrar uma tendência em explorar um braço menos visitado. Este comportamento depende da interação de diferentes regiões do cérebro, principalmente do córtex pré-frontal e do hipocampo (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019; WEBSTER *et al.*, 2014).

O aparato do labirinto em Y também permite a realização de teste para avaliar a memória de referência espacial. Diferentemente do teste anterior, o teste de memória de referência espacial requer um treinamento inicial onde o animal explora apenas dois braços do labirinto (o terceiro braço encontra-se bloqueado), e após um tempo determinado (4 horas para memória de curto prazo, ou 24 horas para memória de longo prazo, por exemplo) ele pode explorar o labirinto com os três braços desbloqueados. Espera-se que um animal com memória preservada irá despender mais tempo explorando o braço que anteriormente estava fechado. Caso o animal não demonstre preferência por nenhum dos braços, pode-se interpretar o resultado como prejuízo na função do hipocampo (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019).

Um aspecto que também pode ser levado em consideração ao avaliar o comportamento no teste do labirinto em Y diz respeito à ansiedade gerada no animal ao ser colocado no aparato. O tempo que o animal leva para sair do braço em que foi colocado no labirinto para explorar os outros braços pode indicar o estado de ansiedade gerada pela novidade, ou ainda sinalizar se há retardo no processo de tomada de decisão (HÖLTER *et al.*, 2015; LALONDE, 2002).

3.4.2. Teste de reconhecimento de novo objeto

O teste de reconhecimento de novo objeto (NOR da sigla em inglês *Novel Object Recognition*) tem como objetivo avaliar a aquisição e a consolidação da aprendizagem e a memória de reconhecimento. Ele baseia-se no instinto natural do animal de explorar novidades, e é comumente utilizado para investigar aspectos da memória e da aprendizagem em diferentes contextos (ENNACEUR, 2010; LUEPTOW, 2017), incluindo estudos que utilizam dietas hiperlipídica e seus efeitos na cognição (DOS SANTOS *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2015).

O aparato utilizado no teste NOR consiste de uma arena, idealmente uma caixa em formato quadrangular. A aplicação do teste, conforme protocolos propostos por Leger *et al.* (2013) e Lueptow (2017), compreende duas ou três sessões, sendo o ideal a realização em três sessões: 1) Sessão de habituação: o animal explora a arena vazia por um tempo determinado, a fim de se habituar com a caixa e reduzir possível estresse e ansiedade causados pela novidade, que podem influenciar as demais sessões. 2) Sessão de familiarização ou treinamento (T1): após a sessão de habituação, dois objetos idênticos são colocados na arena, em quadrantes opostos diagonalmente, e o animal pode explorá-los livremente por um determinado tempo. 3) Sessão de teste (T2): última sessão, realizada após a sessão anterior em um período determinado pelo experimentador. Nesta sessão, um dos dois objetos idênticos utilizados anteriormente é substituído por um objeto novo desconhecido, e o animal é deixado livre para explorá-los por igual período de tempo utilizado na sessão de treinamento (LEGER *et al.*, 2013; LUEPTOW, 2017). A **Figura 4** apresenta a configuração experimental para o teste NOR aplicado em três sessões.

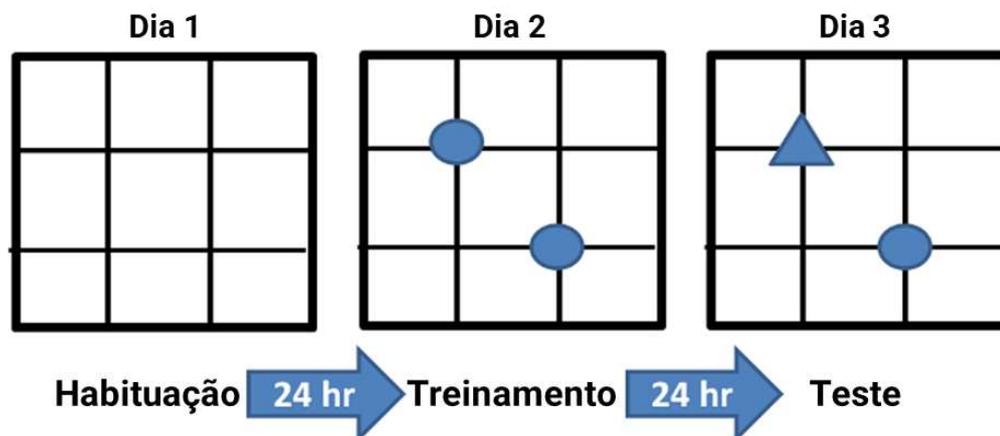


Figura 4. Teste de reconhecimento de novo objeto, realizado em três sessões. Na Sessão de Habituação (Dia 1), o animal explora a arena vazia. Na Sessão de Treinamento (Dia 2), o animal explora dois objetos idênticos dispostos diagonalmente. Na Sessão de Teste (Dia 3), um dos objetos é substituído por um novo objeto desconhecido, e avalia-se o tempo gasto explorando o novo objeto em relação ao tempo total explorando ambos os objetos. Um animal com memória de reconhecimento preservada mostrará preferência em explorar o novo objeto desconhecido. Imagem: Lueptow (2017).

Alguns cuidados devem ser tomados na realização do teste NOR para que os resultados sejam confiáveis: a escolha do objeto utilizado, seu tamanho, material utilizado, forma, textura, posição do objeto na arena, além de que o objeto não deve ter significado natural para o animal. Os objetos utilizados precisam ser de material não tóxico, inodoro, lavável, que não estimulem o comportamento de roer, devem possuir o mesmo padrão de cor e brilho. Além

destes cuidados, a posição do novo objeto na arena deve ser contrabalanceada entre os animais e os grupos experimentais, para eliminar qualquer efeito posicional que influencie na preferência do animal (HÖLTER *et al.*, 2015; LEGER *et al.*, 2013; LUEPTOW, 2017).

3.4.3. Teste de esquiva passiva

O teste de esquiva passiva, ou esquiva inibitória, avalia a memória a partir de um condicionamento aversivo/emocional em que o animal associou um determinado contexto à ocorrência de um evento aversivo inescapável. Por exemplo: a entrada num determinado compartimento causou-lhe dor (ÖGREN; STIEDL, 2010). Frequentemente, o estímulo aversivo utilizado é um choque elétrico de baixa intensidade aplicado nas patas. Este teste é bastante utilizado para avaliar mecanismos de aprendizagem e memória, sobretudo as memórias de curto e de longo prazo, assim como os efeitos de compostos ou drogas que atuem sobre a cognição (LI; SHI; MI, 2018; LIU *et al.*, 2014; MISANE; ÖGREN, 2000).

Dois variações do teste podem ser aplicadas: 1) o teste de esquiva passiva *step-through* (evasão inibitória) e 2) o teste de esquiva passiva regressiva. Para o teste de esquiva passiva inibitória (aplicado nesta pesquisa), utiliza-se uma caixa com dois compartimentos, sendo um claro e um escuro, ambos conectados por uma porta deslizante. O animal é colocado inicialmente no compartimento claro, onde é permitida a livre exploração por determinado tempo. Em seguida, a porta que separa os dois compartimentos é aberta, e espera-se que o animal entre no compartimento escuro naturalmente. Caso ele não entre após esgotado o tempo determinado pelo experimentador (normalmente 300 segundos), o animal poderá ser gentilmente guiado para o compartimento escuro. Uma vez no compartimento escuro, a porta deslizante é fechada e o animal recebe um estímulo aversivo (choque nas patas de intensidade entre 0,2 a 0,8 mA), que deverá gerar uma associação entre o compartimento escuro e o evento aversivo inescapável. Após esta sessão para treinamento, pode-se realizar uma ou mais sessões de teste de retenção para avaliar memória de curto, longo ou muito longo prazo. Para avaliar a memória de curto prazo, a sessão de teste pode ser realizada poucas horas após o treinamento; para a memória de longo prazo, a sessão de teste é realizada após vinte e quatro horas. Na sessão de teste, o animal é colocado no compartimento claro e poucos segundos depois a porta deslizante é aberta. O animal, então, terá a opção de entrar no compartimento escuro ou permanecer no compartimento claro. Nas sessões de teste, nenhum estímulo aversivo é empregado, e a após a abertura da porta, esta permanece aberta durante toda a duração do teste, permitindo o livre deslocamento do animal entre os compartimentos. O principal critério para avaliação do desempenho do animal é o período de latência antes da primeira entrada no

compartimento escuro, se ela ocorrer (ÖGREN; STIEDL, 2010). A **Figura 5** ilustra a realização do teste de esquiava passiva inibitória.

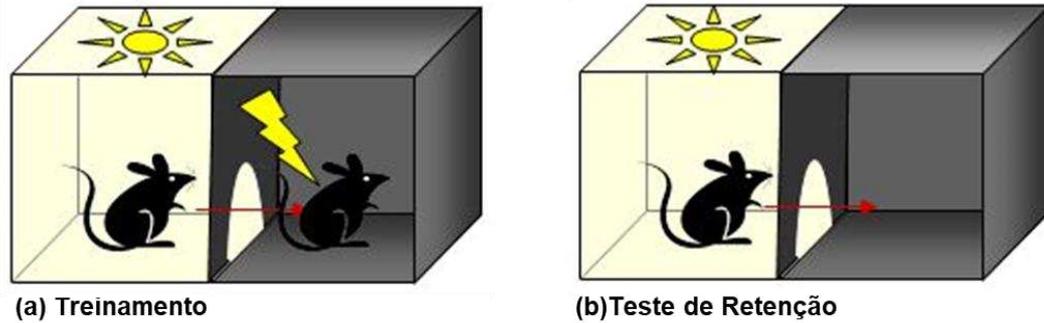


Figura 5. Teste de esquiava passiva inibitória. **(a)** Na Sessão de Treinamento, o animal é colocado no compartimento claro e, após o tempo determinado pelo experimentador, ele tem acesso ao compartimento escuro, onde recebe o estímulo aversivo inescapável. **(b)** Na Sessão de Teste de Retenção, o animal é novamente colocado no compartimento claro e, após alguns segundos, tem acesso ao compartimento escuro. O desempenho do animal é avaliado pelo período de latência em que ele permanece no compartimento claro. Imagem: Sweatt (2010).

O bom desempenho no teste de esquiava passiva depende da capacidade do animal de aprender a suprimir uma resposta motora instintiva (preferir o compartimento escuro frente ao compartimento claro e iluminado) para evitar a exposição ao evento aversivo, criando uma situação de conflito da qual dependerá a capacidade de tomar decisões. O hipocampo e a amígdala são as principais estruturas cerebrais envolvidas nesse processo (MISANE; ÖGREN, 2000; ÖGREN; STIEDL, 2010; WEBSTER *et al.*, 2014).

IV. MATERIAL E MÉTODOS

4.1. Preparo e caracterização química da fruta

O acesso ao Patrimônio Genético Brasileiro foi registrado no Ministério do Meio Ambiente via SISGEN, sob protocolo n. AB24DBF (Anexo I).

Frutos maduros de bacaba (*Oenocarpus bacaba*) foram adquiridos em mercado local no município de Belém/PA. Eles foram manualmente selecionados, lavados em água corrente e congelados. Os frutos, então, foram liofilizados (Liobras Liotop LP1010, São Carlos/SP) no Laboratório de Tecnologia Supercrítica (LABTECS) da Universidade Federal do Pará (UFPA), armazenados à -18° C em embalagem selada à vácuo e transportados até o município de Campinas/SP para as análises que se seguiram no Laboratório de Nutrição e Metabolismo (LANUM) da Faculdade de Engenharia de Alimentos (FEA) da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), onde foram moídos inteiros em micro moinho (Marconi MA345, Piracicaba/SP). O pó obtido foi armazenado a -18° C até sua utilização.

4.1.1. Composição centesimal

As análises para determinação da composição centesimal para proteínas, umidade e cinzas foram realizadas conforme metodologias oficiais da Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 2012). O teor de lipídios totais foi determinado conforme metodologia de Bligh & Dyer (BLIGH; DYER, 1959). O teor de fibra bruta foi determinado pelo método de Scharrer-Kurschner (ANGELUCCI, 1987). A quantidade de carboidratos foi calculada pela diferença entre os demais constituintes. As análises foram realizadas em triplicata, e os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão.

4.1.2. Compostos bioativos e capacidade antioxidante

Os frutos liofilizados e moídos foram utilizados para obtenção de um extrato hidroetanólico para as análises de compostos bioativos e capacidade antioxidante. O extrato foi obtido de forma exaustiva conforme metodologia utilizada por Souza *et al.* (2016; 2017), cujos trabalhos também utilizaram a bacaba. Resumidamente, 1g de bacaba liofilizada e moída foi homogeneizada em 10 mL de uma solução etanol/água (60:40 v/v) em agitador tipo vórtex durante 30 segundos. Em seguida, a solução foi mantida em banho de ultrassom (Unique USC-1800A, 40kHz, 132W, Indaiatuba/SP) a temperatura ambiente por 10 minutos, e então centrifugada (Fanem Excelsa II 206 MP, São Paulo/SP) por 10 minutos a 3000 rpm. Após a centrifugação, o sobrenadante foi filtrado e reservado em balão volumétrico de 50mL, e o

precipitado foi novamente submetido ao processo de extração por mais quatro vezes até o volume final de 50mL. O extrato foi obtido em triplicata, e armazenado em frasco âmbar a -18° C para utilização nas análises.

Para análises de compostos bioativos da bacaba, os extratos obtidos foram utilizados para determinação do teor de fenólicos totais pelo método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON; ROSSI, 1965) e de antocianinas monoméricas pelo método espectrofotométrico de pH diferencial (GIUSTI; WROLSTAD, 2001).

Para determinar a capacidade antioxidante da bacaba, os extratos obtidos foram utilizados nos ensaios antioxidantes ORAC (*oxygen radical absorbance capacity*) e FRAP (*ferric-reducing ability of plasma*). Para o ensaio ORAC (DÁVALOS; GÓMEZ-CORDOVÉS; BARTOLOMÉ, 2004), foram adicionados 25 µL do extrato etanólico diluído ou solução padrão de Trolox ((±)-6-hidroxi-2,5,7,8-tetrametilcromano-2-ácido carboxílico), 150 µL de fluoresceína diluída em tampão fosfato (pH 7,4) e 25 µL de AAPH (2,2-azobis (2-metilpropionamidina) dicloridrato) em microplacas pretas. A leitura foi realizada em leitor de microplacas (Biotek Synergy HT, Winooski, USA) com comprimento de onda de excitação e de onda de emissão de 485 nm e 520 nm, respectivamente; e a fluorescência foi lida a cada 1 minuto, durante 80 minutos. Os dados foram analisados pelo software Gen5™ e os valores foram expressos em µmol de Trolox equivalente (µmol TE) por grama de bacaba utilizando as curvas padrão de cada ensaio.

Para o ensaio FRAP (RUFINO *et al*, 2006), o reagente FRAP foi preparado utilizando tampão acetato 0,3 M (pH 3,6), TPTZ (2,4,6-Tris(2-piridil)-s-triazina) 10 mM em uma solução de HCl 40 mM, e cloreto férrico (FeCl⁺³) 20 mM, na proporção de 10:1:1 respectivamente. O extrato etanólico da bacaba diluído ou a solução padrão de Trolox foram adicionados, em microplacas, com água ultrapura (Milli-Q Millipore) e com o reagente FRAP, e incubados em estufa a 37° C por 30 minutos. A leitura foi realizada em comprimento de onda de 595 nm em leitor de microplacas (Biotek Synergy HT, Winooski, USA). Os dados foram analisados pelo software Gen5™ e os valores foram expressos em µmol de Trolox equivalente (µmol TE) por grama de bacaba utilizando as curvas padrão de cada ensaio.

Todas as análises foram realizadas em triplicata, e os resultados estão expressos em média ± desvio padrão.

4.2. Ensaio animal e dietas

Todos os experimentos *in vivo* foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP, sob protocolo n. 5975-1/2022 (Anexo II).

Sessenta camundongos Swiss (*Mus musculus*) machos com 4 semanas de idade foram adquiridos do Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB - UNICAMP). Os animais foram alocados individualmente em caixas de polipropileno com cama de maravalha e enriquecimento ambiental (cano de PVC em formato de T para utilização como abrigo). A alocação foi feita individualmente para controle da ingestão hídrica e alimentar. Os animais tiveram livre acesso à água e ração; a umidade relativa (55 a 65%) e a temperatura ($22^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$) foram controladas, e o ciclo claro/escuro 12/12h invertido (ciclo escuro das 7h às 19h).

Os animais receberam dieta de crescimento conforme recomendações do American Institute of Nutrition (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993) através da ração comercial Nuvilab® CR-1, até atingirem 10 semanas de idade. Após este período, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos experimentais (n = 15), com o cuidado para que todos os grupos contivessem animais com a mesma média de peso (aproximadamente 38g), evitando possível viés causado pela diferença de peso inicial. Após a distribuição nos grupos, os animais passaram a receber as seguintes dietas experimentais durante quatorze semanas:

- 1) Grupo dieta normolipídica (N): dieta de manutenção (AIN-93M);
- 2) Grupo dieta normolipídica + bacaba (NB): dieta de manutenção (AIN-93M) suplementada com 5% de bacaba;
- 3) Grupo dieta hiperlipídica (H): dieta hiperlipídica (AIN-93M com 35% de lipídeos);
- 4) Grupo dieta hiperlipídica + bacaba (HB): dieta hiperlipídica suplementada com 5% de bacaba.

A dieta do grupo N seguiu a formulação de dieta padrão para manutenção proposta pela AIN-93M (REEVES; NIELSEN; FAHEY, 1993). A dieta do grupo NB seguiu a mesma formulação, com as adaptações necessárias para acrescentar 50g de bacaba por quilograma de dieta. A dieta do grupo H seguiu a formulação proposta pela AIN-93M adaptada para o acréscimo de 310g de banha de porco por quilograma de dieta, com o objetivo de induzir a obesidade nos animais, conforme trabalhos semelhantes (BATISTA *et al.*, 2017, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2023). A dieta do grupo HB seguiu a mesma formulação da dieta do grupo H, com as adaptações necessárias para acrescentar 50g de bacaba por quilograma de dieta. Todas

as formulações das dietas dos quatro grupos experimentais constam na **Tabela 07**. A suplementação das dietas com 5% de bacaba levou em consideração a dose de fenólicos totais encontrados na fruta, conforme será apresentado na seção Resultados.

A ingestão alimentar dos animais foi monitorada a cada dois dias, no momento em que ocorria a substituição das rações. O ganho de peso dos animais foi registrado semanalmente.

Tabela 07 - Formulação das dietas experimentais

Ingrediente	Quantidade (g/kg dieta)			
	Normolipídica	Normolipídica + bacaba	Hiperlipídica	Hiperlipídica + bacaba
Amido de milho	465,692	447,853 ^a	265,353 ^a	247,514 ^a
Caseína (85,47%)	140,000	140,000	140,000	140,000
Maltodextrina	155,000	149,063 ^a	88,319 ^a	82,382 ^a
Sacarose	100,000	96,169 ^a	56,980 ^a	53,150 ^a
Óleo de soja	40,000	31,577 ^b	40,000	31,577 ^b
Banha de porco	-	-	310,000	310,000
Fibra	50,000	36,027 ^c	50,000	36,027 ^c
Mix mineral (AIN-93M-MX)	35,000	35,000	35,000	35,000
Mix vitamínico (AIN-93-VX)	10,000	10,000	10,000	10,000
L-Cistina	1,800	1,800	1,800	1,800
Bitartarato de colina	2,500	2,500	2,500	2,500
Tert-butil-hidroquinona	0,008	0,008	0,008	0,008
Bacaba	-	50,000	-	50,000
Calorias (kcal) ^d	3712,07	3704,99	5304,24	5443,58

^aA quantidade dos ingredientes fontes de carboidratos foi modificada conforme a adição da bacaba e/ou da banha de porco. ^bA quantidade de óleo de soja foi descontada considerando o teor de lipídios da bacaba adicionada às dietas. ^cA quantidade de celulose foi descontada considerando o teor de fibras da bacaba adicionada às dietas.

^dValor calórico calculado considerando o fator de conversão de Atwater.

4.3. Testes de desempenho cognitivo

Os testes de desempenho cognitivo foram realizados durante o ciclo escuro (7h às 19h), em sala com iluminação baixa e difusa em tom vermelho, e com temperatura e umidade semelhantes à sala de alojamento. Antes da realização de cada sessão de teste, os animais foram aclimatados na sala de teste por, no mínimo, uma hora. Antes do primeiro animal, entre um animal e o próximo, e após o último animal testado, as paredes e o chão dos aparatos utilizados, assim como os objetos no teste NOR, eram limpos com álcool 70% para remover odores e resíduos ou sujidades que poderiam causar possíveis vieses e influenciar o comportamento dos animais. Todas as sessões de teste foram gravadas por uma câmera posicionada acima da bancada onde estavam os aparatos utilizados, cuja imagem era projetada em um microcomputador localizado em sala adjacente. Posteriormente, as gravações foram avaliadas por dois observadores cegos em relação aos grupos de animais testados.

4.3.1. Teste do labirinto em Y

Na décima semana do experimento após a introdução das dietas experimentais, os animais (n = 11 por grupo) foram submetidos ao teste do labirinto em Y (*Y maze*) conforme protocolo proposto por Kraeuter *et al.* (2019). O teste do labirinto em Y teve como objetivo avaliar a memória de curto prazo e a memória operacional espacial, por meio da alternância espontânea baseada na curiosidade inata do animal em explorar áreas ainda não visitadas.

De forma resumida, o animal foi gentilmente introduzido em um labirinto de acrílico preto em forma de Y com três braços (nomeados A, B e C, respectivamente, e equidistantes em 120°) pela parte distal do braço A, com a face voltada para o centro do labirinto. O animal ficou livre para explorar livremente o labirinto durante oito minutos. Ao término do tempo estipulado, o animal foi retirado do labirinto e devolvido a sua gaiola.

Posteriormente, as gravações das sessões do teste foram analisadas, sendo contabilizado o número de entradas em cada braço e de alternâncias entre eles. Foi considerada entrada em cada braço do labirinto quando ambas as patas dianteiras e traseiras se encontravam dentro do braço a ser explorado. Para identificar uma alternância espontânea, foi utilizada a técnica de sobreposição, de maneira que um padrão A–C–B–C–A (por exemplo) consiste de duas alternâncias.

A porcentagem de alternância entre os braços foi calculada pela fórmula: % alternâncias = (número de alternâncias / número total de entradas - 2) x 100. Uma alta porcentagem de alternância pode ser interpretada como um indicativo de boa memória de trabalho, ao considerar que o camundongo se lembrou de quais braços já visitou.

4.3.2. Teste de reconhecimento de novo objeto

Na décima primeira semana, os animais (n = 7 por grupo) foram submetidos ao teste de reconhecimento de novo objeto (NOR da sigla em inglês *Novel Object Recognition*) conforme protocolo proposto por Leger *et al.* (2013) e Lueptow (2017). O teste teve como objetivo avaliar a aquisição e a consolidação da aprendizagem e da memória, e baseia-se no instinto natural do animal de explorar novidades.

Resumidamente, o teste foi executado em três etapas. 1) Sessão de habituação: o animal foi gentilmente alocado num campo aberto (caixa medindo 30cm x 30cm x 40cm) vazio, com a face virada para a parede mais próxima do experimentador, e ficou livre para explorar o ambiente por cinco minutos. Após esse tempo, o animal foi removido e transferido de volta à sua gaiola individual. 2) Sessão de familiarização ou treinamento (T1): vinte e quatro horas após a etapa anterior, dois objetos idênticos foram colocados no campo aberto a 5 cm das

paredes, em quadrantes opostos diagonalmente. O animal foi colocado no campo aberto com a face virada para a parede mais próxima do experimentador, e pode explorar livremente o campo e os objetos por um período de 5 minutos, ao término do qual o animal foi removido e transferido de volta à sua gaiola. 3) Sessão de teste (T2): vinte e quatro horas após a etapa anterior, um dos dois objetos idênticos utilizados anteriormente foi substituído por um objeto novo desconhecido. O animal foi colocado no campo aberto com a face virada para a parede mais próxima do experimentador, e pode explorar livremente o campo e os objetos por um período de 5 minutos, ao término do qual o animal foi removido e transferido de volta à sua gaiola.

Os objetos utilizados e seu posicionamento no campo aberto variaram intra e inter grupos, com o cuidado de na sessão de teste (T2) utilizar o mesmo objeto familiar e a mesma disposição diagonal que foi utilizada na sessão de familiarização (T1).

Posteriormente, as gravações das sessões de teste foram analisadas, sendo contabilizado o tempo de exploração de cada um dos objetos (familiar e novo) até um total de 20 segundos de exploração de ambos os objetos. O tempo de exploração foi considerado quando o focinho do animal e/ou as patas dianteiras eram direcionadas para o objeto, sendo excluído qualquer tempo em que o animal permaneceu sentado sobre o objeto sem indicação de exploração ativa.

O índice de discriminação dos novos objetos foi calculado pela fórmula: $\% ID = \text{tempo de exploração do novo objeto} / \text{tempo de exploração de ambos os objetos} \times 100$.

4.3.3. Teste de esQUIVA passiva

Na décima segunda semana, os animais (n = 11 por grupo) foram submetidos ao teste de esQUIVA passiva (ou esQUIVA inibitória) conforme protocolo proposto por Ögren & Stiedl (MISANE; ÖGREN, 2000; ÖGREN; STIEDL, 2010). O teste de esQUIVA passiva teve como objetivo avaliar as memórias de curto e de longo prazo, sendo um dos testes mais utilizados para avaliar mecanismos de aprendizagem e memória, assim como a eficácia de compostos que atuem nos processos cognitivos (ÖGREN; STIEDL, 2010).

Resumidamente, o teste foi realizado utilizando um aparato composto por uma caixa com dois compartimentos, sendo um claro e um escuro, separados por uma porta deslizante e consistiu de três sessões: 1) Treinamento; 2) Teste de retenção após 1h; e 3) Teste de retenção após 24h.

Na sessão de treinamento, o animal foi colocado no compartimento claro para livre exploração durante 120 segundos. Após este tempo, foi liberado o acesso ao compartimento escuro pela abertura da porta deslizante. Ao entrar no compartimento escuro, a porta foi fechada

e o animal recebeu um estímulo aversivo através de choque nas patas com intensidade de 0,6 mA. O choque teve duração de 5 segundos, e foi repetido por duas vezes com intervalo de 10 segundos entre eles. Após o terceiro choque, o animal foi deixado no compartimento escuro por mais 50 segundos, com o objetivo de promover a associação do estímulo aversivo com o compartimento. O animal foi então retirado do compartimento escuro e transferido de volta para sua gaiola.

Após este treinamento inicial, foram realizados dois testes de retenção para avaliar as memórias de curto e de longo prazo. O primeiro teste de retenção foi realizado após 1 hora do treinamento, e teve como objetivo avaliar a memória de curto prazo e a inibição aprendida. O animal foi gentilmente colocado no compartimento claro, e após 15 segundos a porta deslizante que permite acesso ao compartimento escuro foi aberta. O animal teve a opção de evitar ou entrar no compartimento escuro, durante um período de 285 segundos. O período de latência do animal no compartimento claro foi utilizado para avaliar a memória de curto prazo e a inibição aprendida.

O segundo teste de retenção foi realizado após 24 horas do treinamento, nos mesmos moldes do teste após 1 hora. O período de latência no compartimento claro foi utilizado para avaliar a memória de longo prazo.

4.4. Avaliação da tolerância à glicose e à insulina

Na décima terceira semana, os animais (n = 7 por grupo) foram submetidos ao teste de tolerância à glicose (GTT da sigla *glucose tolerance test*) (DRAGANO; MILBANK, 2022). Após um período de jejum de 6 horas, uma solução de d-glicose (2g / kg) foi injetada via intraperitoneal nos animais. A glicemia foi mensurada em jejum (antes da injeção de glicose) e 30, 60, 90 e 120 minutos após a injeção, utilizando glicosímetro e tiras para teste (G-Tech Free Lite). O sangue foi coletado pela veia da cauda.

Na décima quarta semana, os animais (n = 7 por grupo) foram submetidos ao teste de tolerância à insulina (ITT da sigla *insulin tolerance test*) (DRAGANO; MILBANK, 2022). Após jejum de 4 horas, uma solução salina a 0,9% contendo 0,75 unidades / kg de insulina (Novolin R – Novo Nordisk®) foi injetada via intraperitoneal nos animais. A glicemia foi mensurada em jejum (antes da injeção de insulina) e 5, 10, 15, 20, 25, 30 e 45 minutos após a injeção, utilizando glicosímetro e tiras para teste. O sangue foi coletado pela veia da cauda.

Na décima quinta semana, os animais foram anestesiados com aplicação intraperitoneal de cloridrato de cetamina (300 mg/kg) e cloridrato de xilazina (30 mg/kg). Após inconsciência do animal, a eutanásia foi realizada por exsanguinação via punção cardíaca.

4.5. Análise estatística

O ganho de peso semanal, a alternância no teste do labirinto em Y, o índice de discriminação do novo objeto no teste NOR, o período de latência no compartimento claro no teste de esquiva passiva, e os dados do GTT e do ITT foram analisados usando two-way ANOVA, seguida pelo teste de Bonferroni ($p < 0,05$), utilizando o software GraphPad Prism 7.00 (GraphPad Software, Inc.). Os resultados estão expressos em média \pm desvio padrão.

V. RESULTADOS

5.1. Caracterização química da bacaba

Os resultados da composição centesimal, fenólicos totais, antocianinas totais e capacidade antioxidante da bacaba liofilizada são apresentados na **Tabela 08**.

Tabela 08 - Composição centesimal, compostos bioativos e capacidade antioxidante da bacaba liofilizada

Compostos	Valores
Umidade (g/100g)	7,47 ± 0,23
Cinzas (g/100g)	0,94 ± 0,07
Proteínas (g/100g)	5,92 ± 0,03
Lipídios (g/100g)	16,85 ± 0,21
Fibra bruta (g/100g)	27,95 ± 2,86
Carboidratos por diferença (g/100g)	40,86 ± 2,62
Fenólicos totais (mg AGE/100g) ¹	2281,43 ± 32,73
Antocianinas totais (mg C3G/100g) ²	54,41 ± 3,13
ORAC (μmol TE/g) ³	334,72 ± 29,73
FRAP (μmol TE/g) ³	175,83 ± 0,90

Valores expressos como média ± DP. ¹AGE: ácido gálico equivalente; ²C3G: cianidina-3-glicosídeo; ³TE: Trolox equivalente.

5.2. Peso corporal e ingestão alimentar

O peso inicial e final dos animais, assim como o ganho de peso ao longo do experimento, são apresentados na **Tabela 09**, juntamente com o consumo alimentar (em gramas) e energético (em quilocalorias).

Tabela 09 – Ganho de peso corporal e consumo alimentar dos animais durante as 14 semanas do experimento (n = 13)

	N	NB	H	HB
Peso inicial (g)	38,59 ± 5,17	38,07 ± 3,58	38,25 ± 3,84	38,41 ± 3,35
Peso final (g)	46,80 ± 6,44 ^b	45,66 ± 4,87 ^b	55,24 ± 4,19 ^a	55,16 ± 4,24 ^a
Ganho de peso (g)	8,08 ± 2,21 ^b	7,77 ± 3,70 ^b	17,32 ± 3,73 ^a	16,46 ± 4,29 ^a
Ingestão alimentar (g)	556,10 ± 57,56 ^a	543,25 ± 26,86 ^a	418,92 ± 33,03 ^b	401,21 ± 41,81 ^b
Ingestão calórica (kcal)	2064,28±213,65 ^b	2012,75±99,52 ^b	2222,07±175,18 ^a	2184,00±227,60 ^a

Valores expressos como média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística (p<0,001).

O gráfico apresentado na **Figura 6** mostra a evolução de peso dos animais ao longo das quatorze semanas de experimento.

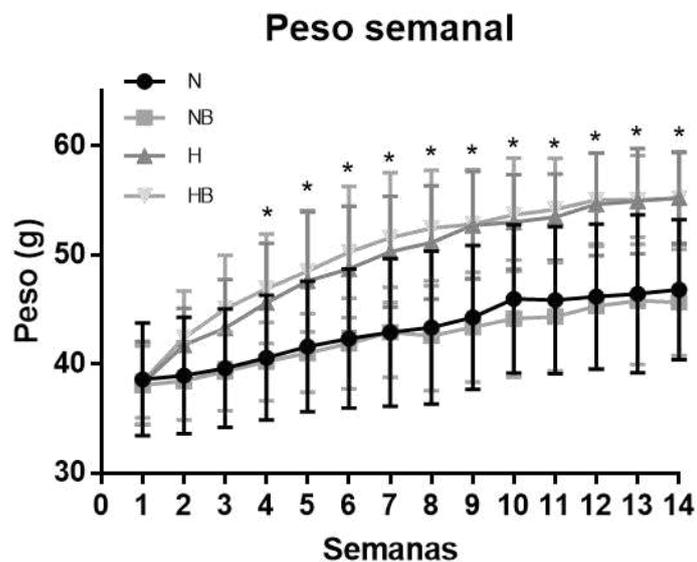


Figura 6. Acompanhamento do peso corporal dos animais conforme grupo/tratamento (n = 13) ao longo das quatorze semanas de experimento. Valores expressos em média \pm desvio padrão. Asterisco (*) indica diferença estatística dos grupos normolipídicos (N e NB) vs os grupos hiperlipídicos (H e HB) com $p < 0,01$.

5.3. Tolerância à glicose e à insulina

Para avaliar a tolerância à glicose e a resistência insulínica dos animais, foram realizados os testes GTT e ITT, cujos resultados são apresentados na **Figura 7**.

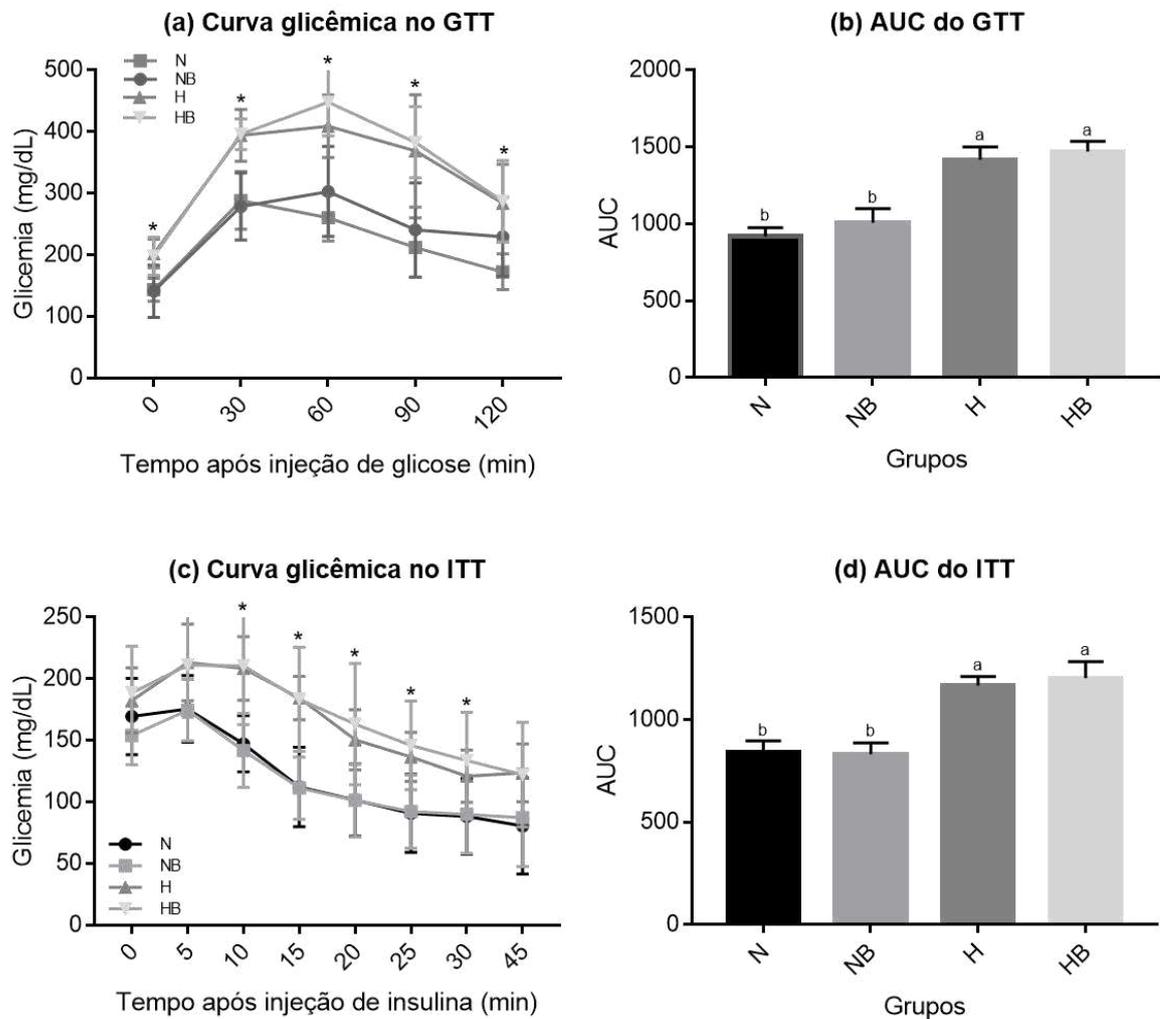


Figura 7. (a) Curva glicêmica no GTT; asterisco (*) indica diferença estatística entre os grupos normolipídicos e hiperlipídicos ($p < 0,0001$); (b) Área sob a curva (AUC) do GTT; letras diferentes indicam diferença estatística ($< 0,0001$); (c) Curva glicêmica no ITT; asterisco (*) indica diferença estatística entre os grupos normolipídicos e hiperlipídicos ($p < 0,05$); (d) Área sob a curva (AUC) do ITT; letras diferentes indicam diferença estatística ($< 0,0001$); $n = 7$.

5.4. Testes de desempenho cognitivo

5.4.1. Teste do labirinto em Y

O teste do labirinto em Y foi aplicado com o objetivo de avaliar a memória operacional espacial. Os resultados do teste são mostrados na **Figura 8**.

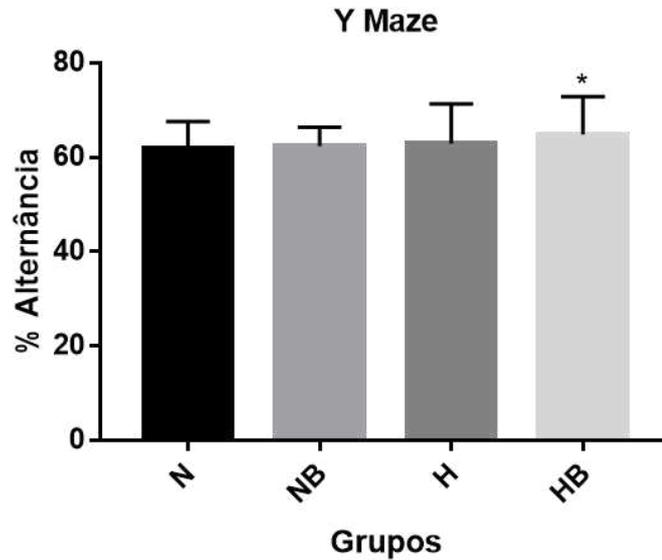


Figura 8. Alternância entre os três braços no teste do labirinto em Y ($n = 11$). Asterisco (*) indica diferença estatística entre os grupos N vs HB ($p < 0,05$).

5.4.2. Teste de reconhecimento de novo objeto

O teste de reconhecimento de novo objeto (NOR) teve como objetivo avaliar a aquisição e a consolidação da aprendizagem e da memória. A **Figura 9** apresenta os resultados dos animais neste teste.

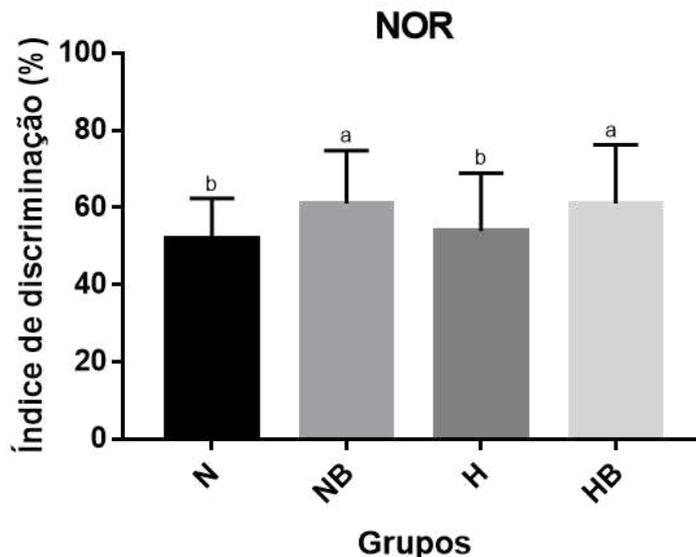


Figura 9. Índice de discriminação do novo objeto no teste NOR ($n = 7$). Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre os grupos experimentais ($p < 0,05$).

5.4.3. Teste de esquiva passiva

O teste da esquiva passiva teve como objetivo avaliar as memórias de curto e de longo prazos, baseado no período de latência no compartimento claro após a sessão inicial de treinamento. Os resultados de ambos os testes de retenção (após 1h e após 24h do treinamento) são apresentados na **Figura 10**.

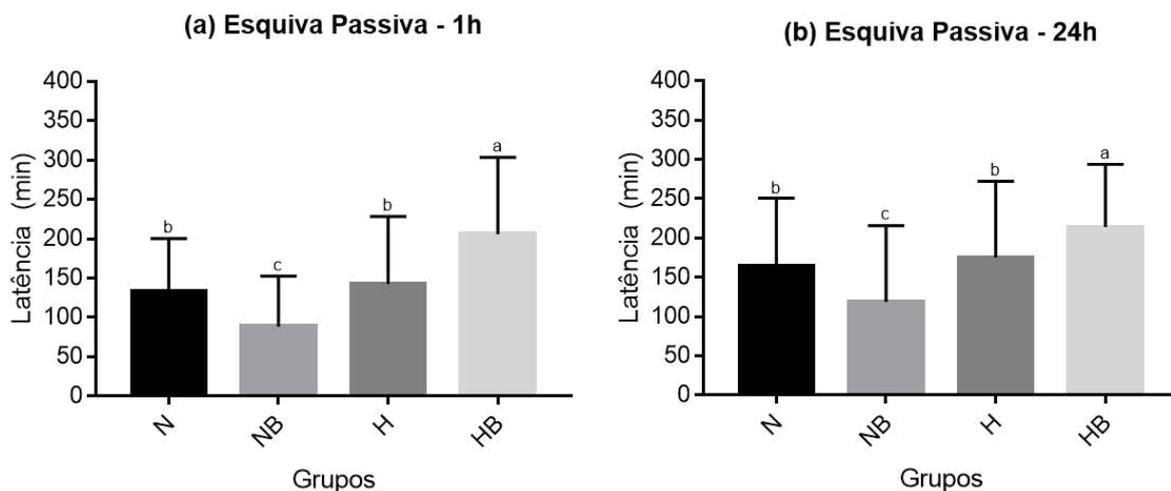


Figura 10. Período de latência no compartimento claro no teste da esquiva passiva: **(a)** após 1h do treinamento; **(b)** após 24h do treinamento (n = 11). Letras diferentes nas colunas indicam diferença estatística entre os grupos experimentais ($p < 0,01$).

VI. DISCUSSÃO

As análises para determinação da composição centesimal da bacaba revelaram que o teor proteico da bacaba liofilizada se apresentou ligeiramente superior em relação aos valores encontrados por Escriche *et al.* (1999) e Seixas *et al.* (2016). Ambos os estudos reportaram 4,6 g de proteína em suas análises; e 30,2 g e 21,02 g de lipídios em 100 g da polpa, respectivamente. De Cól *et al.* (2021) reportaram 8,08 g de proteína e 35,6 g de lipídios em 100 g da polpa da bacaba. Nossas análises resultaram em 16,85 g de lipídios em 100 g de bacaba liofilizada. A quantidade menor de lipídios encontrada em nossa fruta possivelmente se deu por termos utilizado a fruta inteira (casca, mesocarpo e caroço) nas análises. No interior do caroço da bacaba encontra-se uma pequena amêndoa de coloração branca que representa o maior peso da fruta, e cujo teor de lipídios é de somente 4,1g/100g conforme trabalho de Escriche *et al.* (1999). A quantidade de fibra bruta encontrada em nossa fruta também diferiu dos valores apresentados por Escriche *et al.* (1999), que foi de 18,9g/100g de mesocarpo. A quantidade de carboidratos na fruta inteira, calculada por diferença entre os demais constituintes, foi semelhante aos valores encontrados no mesocarpo (ESCRICHE *et al.*, 1999). Além das diferenças entre utilizar frutos inteiros ou somente frações (mesocarpo ou polpa) nas análises de composição centesimal, fatores como região de cultivo, período de colheita e grau de maturação podem ter influenciado os resultados.

A quantidade de fenólicos totais, expressa em equivalente de ácido gálico, encontrada em nossos frutos foi superior aos teores relatados na literatura, cujos valores variam de 941mg AGE/100g (DOS SANTOS *et al.*, 2015) a 1795,48 mg AGE/100g (SOUSA *et al.*, 2016). O teor de antocianinas também foi ligeiramente superior aos valores reportados por Abadio Finco *et al.* (2012) e Sousa *et al.* (2016), que foram de 34,69 e 39,03 mg C3G/100g, respectivamente.

Em relação à capacidade antioxidante pelo ensaio ORAC, nossos resultados apresentaram maiores valores do que aqueles reportados por Abadio Finco *et al.* (2012) e Dos Santos *et al.* (2015): 107,51 e 195 $\mu\text{mol TE/g}$, respectivamente.

Apesar de nossas análises revelarem teor de compostos fenólicos, de antocianinas, e capacidade antioxidante superior àqueles reportados na literatura para a bacaba (ABADIO FINCO *et al.*, 2012; DOS SANTOS *et al.*, 2015; SOUSA *et al.*, 2016; DE CÓL *et al.*, 2021), quando comparada com outras frutas utilizadas por nosso grupo de pesquisa em estudos com metodologia e objetivos semelhantes aos deste trabalho, a bacaba apresentou valores inferiores. A polpa de açaí apresentou teor de compostos fenólicos totais e de antocianinas de $3906,87 \pm$

180,16 mg AGE/100g e $1573,45 \pm 28,29$ mg C3G/100g, respectivamente (DOS SANTOS *et al.*, 2023); e a casca da jabuticaba teve valores de $3216,92 \pm 124,24$ mg AGE/100g e $541,49 \pm 7,42$ mg C3G/100g, para fenólicos e antocianinas, respectivamente (BATISTA *et al.*, 2017). Os resultados do ensaio antioxidante ORAC destas duas frutas também indicam maior capacidade antioxidante delas em relação à bacaba, o que é condizente com os teores de compostos fenólicos.

O modelo experimental de declínio cognitivo induzido pela obesidade adotado neste estudo tem sido utilizado e foi validado por nosso grupo de pesquisa em trabalhos anteriores (BATISTA *et al.*, 2017, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2023). Neste modelo, a obesidade é induzida por meio de uma dieta hiperlipídica em que 60% do valor calórico total advém de lipídios. A fruta ou composto utilizado é adicionado à dieta em dose predeterminada que forneça uma quantidade desejável de compostos bioativos. Batista *et al.* (2017) propuseram avaliar o efeito da casca de jabuticaba na prevenção do declínio cognitivo induzido pela obesidade em camundongos, suplementando as dietas experimentais com 4% da casca da fruta. Nesta dose, as dietas suplementadas forneciam 1.286,77 mg de compostos fenólicos totais e 216,60 mg de antocianinas por quilograma de dieta. A dose de 5% de bacaba foi estipulada para fornecer 1140,72 mg de compostos fenólicos, valor semelhante ao utilizado no estudo com a casca da jabuticaba. Apesar da quantidade de antocianinas na bacaba estar abaixo daquela utilizada por Batista *et al.* (2017), suplementar as dietas com uma quantidade maior de bacaba poderia causar efeitos não desejáveis relacionados a possíveis fatores antinutricionais presentes na bacaba e à palatabilidade das dietas.

Em relação ao consumo alimentar dos animais, aqueles tratados com as dietas hiperlipídicas apresentaram ingestão energética (kcal) total significativamente maior quando comparados com os animais alimentados com as dietas normolipídicas ($p < 0,001$), conforme dados apresentados na **Tabela 09**. Entretanto, a quantidade de dieta consumida (em gramas) ao longo do experimento foi menor nos grupos de dieta hiperlipídica, com diferença estatística significativa quando comparados com os animais N e NB ($p < 0,0001$). Este dado possivelmente está atrelado à diferença entre a densidade energética das dietas normolipídicas N e NB (3712,07 e 3704,99 kcal/kg de dieta, respectivamente) com as dietas hiperlipídicas H e HB (5304,24 e 5443,58 kcal/kg de dieta, respectivamente), e o efeito sacietógeno promovido pela quantidade de lipídios. Apesar de a bacaba possuir um alto conteúdo de lipídios e fibras, que poderiam influenciar no consumo e no ganho de peso dos animais, estes nutrientes foram corrigidos na formulação das dietas NB e HB com base na AIN-93M, para que se investigasse

os efeitos dos fenólicos da bacaba na saúde. Dessa forma, todas as dietas mantiveram teores de lipídios e fibras equivalentes entre si.

Condizente com a ingestão energética, as dietas hiperlipídicas promoveram um maior ganho de peso nos animais, quando comparadas com as dietas normolipídicas. Ao término das quatorze semanas de experimento, o ganho de peso observado nos animais dos grupos H e HB foi mais que o dobro daquele observado nos animais dos grupos N e NB ($p < 0,0001$). A presença da bacaba nas dietas NB e HB não preveniu o ganho de peso, nem reduziu a ingestão alimentar dos animais. A partir da quarta semana recebendo as dietas experimentais, os animais dos grupos H e HB apresentaram diferença estatística significativa no peso corporal ($p < 0,01$) em comparação com os grupos N e NB, que se manteve até o final do experimento. Independentemente do grupo, todos os animais continuaram ganhando peso ao longo do experimento, com discreta tendência a manter o peso nas duas últimas semanas (dados não mostrados), supostamente decorrente do possível estresse causado pelos testes cognitivos e pelos testes de tolerância à glicose e à insulina.

Em relação à tolerância à glicose e à resistência insulínica, a presença da bacaba nas dietas hiperlipídicas não mostrou efeito positivo, conforme verificado na curva glicêmica e na área sob a curva dos testes de GTT e ITT.

A curva glicêmica obtida no teste de tolerância à glicose (**Figura 7a**) mostrou diferença estatística significativa quando os grupos de dieta normolipídica (N e NB) foram comparados com os grupos que receberam dieta hiperlipídica (H e HB) ($p < 0,0001$). Este resultado sugere que a dieta hiperlipídica consumida pelos animais ao longo de quatorze semanas foi capaz de prejudicar a resposta insulínica frente à injeção de d-glicose. No entanto, a suplementação da dieta hiperlipídica com bacaba não demonstrou efeito para o controle da glicemia dos animais pertencentes ao grupo HB, uma vez que a resposta glicêmica foi semelhante entre os grupos H e HB, sem diferença estatística entre eles. O gráfico da área sob a curva glicêmica confirma este resultado (**Figura 7b**).

De maneira semelhante, no teste de tolerância à insulina, a curva glicêmica mostrou diferença estatística significativa quando os grupos N e NB foram comparados com os grupos H e HB ($p < 0,05$), confirmando que as dietas hiperlipídicas foram capazes de causar resistência insulínica nos animais. A suplementação da dieta hiperlipídica com bacaba também não mostrou efeito sobre a glicemia no ITT, conforme os gráficos apresentados na **Figura 7c** e **7d**.

O consumo da casca de jaboticaba e do jambo vermelho, ambos por 10 semanas, preveniu a resistência insulínica dos animais alimentados com dieta hiperlipídica nos estudos de Batista *et al.* (2017, 2020), tanto no teste de GTT quanto no ITT. Por outro lado, a polpa do

açaí consumida por igual período teve efeito positivo somente no controle glicêmico durante o teste do ITT (DOS SANTOS *et al.*, 2023).

Estudos realizados por períodos mais prolongados apresentaram resultados diferentes dos nossos. A suplementação com naringina por 20 semanas preveniu a intolerância à glicose, avaliada pelo GTT, em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (WANG *et al.*, 2015); e a suplementação com luteolina também por 20 semanas preveniu a intolerância à glicose e a resistência insulínica nos testes de GTT e ITT de camundongos alimentados com dieta hiperlipídica (LIU *et al.*, 2014), embora esses desfechos possam ser atribuídos aos compostos bioativos que foram utilizados (naringina e luteolina), e não somente ao período de duração da intervenção.

Conforme os resultados desta pesquisa, verificou-se que as dietas hiperlipídicas, independentemente da suplementação ou não com bacaba, promoveram o ganho de peso e a resistência insulínica nos animais, fatores chave para o desenvolvimento do declínio cognitivo.

No teste cognitivo do labirinto em Y, conforme o gráfico apresentado na **Figura 8**, não houve diferença de desempenho entre os animais dos quatro grupos, exceto quando o grupo N foi comparado com o grupo HB ($p < 0,05$). Estes dados sugerem que, independentemente da presença ou não da bacaba, a dieta hiperlipídica não foi capaz de gerar o prejuízo cognitivo avaliado neste teste, uma vez que não houve diferença entre os grupos normolipídicos e hiperlipídicos. Alguns fatores podem influenciar o comportamento dos animais no teste do labirinto em Y, tais como ansiedade, medo, estresse e/ou agitação do animal (HÖLTER *et al.*, 2015; KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019). Em nosso planejamento experimental, o teste do labirinto em Y foi o primeiro teste a ser realizado com os animais. Apesar de todos os cuidados tomados para minimizar possíveis interferências, como descritos anteriormente na seção Material e Métodos, fatores como a transferência dos animais até a sala de teste, a novidade em relação ao ambiente (sala diferente), à iluminação e ao aparato utilizado podem ter influenciado os resultados. Este teste também foi o único em que não ocorreu uma sessão de familiarização/habituação ao aparato. O protocolo seguido (KRAEUTER; GUEST; SARNYAI, 2019) apresenta duas opções de teste: 1) alternância espontânea, utilizado neste estudo, e 2) memória de referência espacial, em que há uma sessão de treinamento prévio à sessão de teste. No entanto, esta variação do teste demanda mais tempo para ser executado, tanto referente à duração das sessões, como no intervalo entre elas.

Um estudo conduzido com camundongos C57BL/6J machos que receberam dieta hiperlipídica (60% gordura) por 7 semanas utilizou o teste do labirinto em Y para avaliar a memória de trabalho e a atividade exploratória dos animais (YOSHIZAKI; ASAI; HARA,

2020). A dieta hiperlipídica promoveu maior ganho de peso nos animais. Porém, semelhantemente aos nossos resultados, os autores verificaram que não houve diferença significativa entre os animais tratados com dieta normolipídica daqueles que receberam a dieta hiperlipídica, em relação à alternância espontânea no teste do labirinto em Y. Os autores não associaram o ganho de peso com alterações comportamentais dos animais, e concluíram que a obesidade induzida por dieta hiperlipídica não gerou danos cognitivos no modelo animal estudado.

No entanto, estudos que utilizaram um tempo de intervenção mais prolongado apresentaram resultados diferentes. Almeida-Suhett *et al.* (2017, 2019) utilizaram camundongos C57BL/6J machos em seus trabalhos, em que os animais receberam dieta padrão ou hiperlipídica (60% de lipídios) por 18 semanas, sem nenhuma outra intervenção ou composto a ser estudado, apenas o efeito da dieta hiperlipídica. Na décima sexta semana, o teste do labirinto em Y foi empregado para avaliar a memória de trabalho dependente do hipocampo. Em ambos os trabalhos, os autores verificaram que os animais alimentados com dieta hiperlipídica apresentaram menor porcentagem de alternância espontânea em comparação com os animais que receberam a dieta normolipídica (ALMEIDA-SUHETT *et al.*, 2017, 2019).

A diferença estatística observada quando o grupo HB foi comparado com o grupo N ($p < 0,05$) possivelmente indica o papel da bacaba em melhorar o desempenho cognitivo, apesar de ainda não haver diferença entre os grupos H e HB na décima semana de tratamento. Um período de intervenção maior antes da realização do teste talvez pudesse ter resultado em desfechos diferentes dos encontrados.

Por outro lado, a suplementação com bacaba promoveu melhor desempenho cognitivos dos animais submetidos aos testes de reconhecimento de novo objeto e da esquiwa passiva, sugerindo que houve preservação das memórias de curto e de longo prazo, e da aprendizagem.

Os resultados do teste NOR, apresentados na **Figura 9** como índice de discriminação do novo objeto, revelaram que houve diferença estatística quando o grupo H foi comparado com o grupo HB ($p < 0,05$), sugerindo possível papel benéfico do consumo da bacaba frente à dieta hiperlipídica. Também houve diferença significativa quando os grupos NB e H ($p < 0,05$) e N e HB ($p < 0,005$) foram comparados. Estes dados indicam que os animais que receberam a suplementação com bacaba por 11 semanas (momento de realização do teste NOR) demonstraram maior preferência pelo novo objeto, em detrimento ao objeto familiar, vinte e quatro horas após a sessão de treinamento ($p < 0,05$). O teste NOR se baseia na preferência inata do animal em explorar novidades, e um maior tempo gasto explorando o objeto desconhecido

indica preservação da memória (LUEPTOW, 2017). Estes achados vão de encontro aos reportados por Santos *et al.* (2023), que suplementaram a dieta hiperlipídica (60% de lipídios) com 2% de polpa de açaí e submeteram camundongos Swiss machos ao teste de reconhecimento de novo objeto após 8 semanas do início dos tratamentos. Os animais que receberam a dieta hiperlipídica com polpa de açaí apresentaram maior índice de reconhecimento do novo objeto quando comparados com os animais não suplementados.

O teste de reconhecimento de novo objeto parece ser sensível para avaliar a aprendizagem e a memória de curto prazo, tanto quando aplicado em períodos curtos de intervenção quanto em períodos mais longos. Wang *et al.* (2015) aplicaram o NOR para avaliar a preservação da memória de camundongos C57BL/6 machos que receberam dieta hiperlipídica durante 20 semanas. As dietas foram suplementadas ou não com naringina, flavonoide presente principalmente nas frutas cítricas, na dose de 100 mg/kg/dia. Os pesquisadores verificaram que a suplementação com naringina preservou a memória dos animais, que apresentaram índice de reconhecimento do novo objeto superior aos animais que receberam somente dieta hiperlipídica.

A suplementação com bacaba, independentemente da presença ou não da gordura adicionada à dieta, pareceu promover um melhor desempenho dos animais na identificação do novo objeto após 24h da sessão de treinamento. No entanto, assim como observado no teste do labirinto em Y, não houve diferença no desempenho cognitivo quando os animais dos grupos N e H foram comparados entre si.

De maneira semelhante aos resultados encontrados no teste NOR, o teste da esQUIVA passiva também indicou o efeito protetor do consumo da bacaba no desempenho cognitivo dos animais. Os resultados apresentados na **Figura 10** revelam que em ambos os testes de retenção (após 1h e após 24h do treinamento), o grupo HB apresentou melhor desempenho cognitivo quando comparado com os demais grupos. Este achado sugere o efeito positivo da suplementação com bacaba na preservação das memórias de curto e longo prazos. Tal efeito parece ter sido mais evidente na memória de curto prazo ($p < 0,0005$) do que na memória de longo prazo ($p < 0,05$) quando os animais dos grupos H e HB foram comparados entre si. Assim como nos testes anteriores, não houve diferença estatística entre os grupos N e H.

De acordo com o protocolo utilizado (MISANE; ÖGREN, 2000; ÖGREN; STIEDL, 2010), o teste de esQUIVA passiva poderia ainda ser repetido em um novo teste de retenção após quatro ou sete dias do treinamento inicial para avaliar a manutenção da memória a mais longo prazo.

O teste da esQUIVA passiva é amplamente utilizado em estudos para avaliar o comprometimento da memória e aprendizagem, e a eficácia de compostos nos processos cognitivos (ÖGREN; STIEDL, 2010). Um estudo utilizou esse teste para avaliar se a suplementação com luteolina, um flavonoide encontrado em vegetais como aipo e cenoura, seria capaz de prevenir o déficit cognitivo induzido por dieta hiperlipídica. Camundongos C57BL/6J machos receberam dieta padrão ou hiperlipídica (42% de lipídios), suplementadas ou não com luteolina na dose de 10 mg/kg. Após 19 semanas recebendo esses tratamentos, os animais foram submetidos ao teste da esQUIVA passiva, e os autores verificaram que a suplementação com luteolina promoveu maior período de latência no compartimento claro, 24 horas após o treinamento, para os animais que receberam a dieta hiperlipídica, em comparação com aqueles que não foram suplementados (LIU *et al.*, 2014). O teste também foi utilizado em um estudo que avaliou o papel de um pigmento rico em antocianinas extraído da batata doce roxa na prevenção do declínio cognitivo associado à obesidade. Camundongos C57BL/6 machos receberam dieta padrão ou hiperlipídica (60% de lipídios) suplementadas ou não com o pigmento, por 20 semanas. Os animais suplementados apresentaram maior período de latência no compartimento claro quando comparados com os animais que não receberam o pigmento rico em antocianinas (LI; SHI; MI, 2018).

De forma geral, os resultados obtidos sugerem que a dieta hiperlipídica consumida por quatorze semanas foi capaz de comprometer a resposta à glicose e a sensibilidade à insulina, conforme dados obtidos nos testes GTT e ITT. Apesar de, por meio dos testes cognitivos, não ter sido possível observar diferença de desempenho entre os animais dos grupos N e H, a suplementação com bacaba melhorou o desempenho cognitivo dos animais que consumiram a dieta hiperlipídica, conforme observado nos resultados obtidos pelos animais do grupo HB nos testes de reconhecimento de novo objeto e de esQUIVA passiva.

Os transtornos neurocognitivos se caracterizam pelo acúmulo indevido de proteínas em regiões específicas do cérebro como o córtex pré-frontal e o hipocampo, ambos responsáveis pela memória, aprendizado e tomada de decisões (SPIELMAN; LITTLE; KLEGERIS, 2014). As proteinopatias em humanos possuem progressão lenta, que se iniciam com o acúmulo dessas proteínas sem qualquer manifestação clínica. Os primeiros sintomas de prejuízo cognitivo leve podem levar anos para aparecerem, até evoluírem para os transtornos neurocognitivos já instalados, como a Doença de Alzheimer (ALLEGRI, 2020; ERATNE *et al.*, 2018).

Análises mais refinadas que explorem marcadores biológicos relacionados à função cognitiva (como o fator neurotrófico derivado do cérebro [BDNF], que atua na neurogênese), e à resistência à insulina no cérebro (como a fosforilação da proteína tau e das enzimas envolvidas

na via de sinalização da insulina no hipocampo, como fosfatidilinositol-3-quinase [PI3K], proteína quinase B [Akt] e glicogênio sintase quinase 3 beta [GSK3 β]), podem ser úteis para verificar possíveis danos a nível celular induzidos pela dieta hiperlipídica, se o consumo da bacaba foi capaz de preveni-los, e para elucidar a melhora do desempenho cognitivo observada nesta pesquisa (ALLEGRI, 2020).

Além disso, análises para verificar se houve dano decorrente de estresse oxidativo no córtex pré-frontal e no hipocampo, utilizando indicadores como substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), glutathiona reduzida (GSH), glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase (GRd), superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), seriam úteis para avaliar se o consumo da bacaba resultou em efeito positivo na defesa antioxidante cerebral.

Pesquisas futuras poderiam utilizar diferentes frações da fruta como o mesocarpo ou a polpa da bacaba, ao invés da fruta inteira, para comprovar seus efeitos. O consumo habitual da bacaba na forma de suco utiliza somente a polpa da fruta. Os estudos existentes que avaliaram sua atividade biológica também utilizaram somente a parte comestível do fruto (casca, mesocarpo e polpa). Além disso, análises para determinação de compostos bioativos em frações isoladas da fruta (somente no caroço ou na amêndoa, por exemplo) poderão fornecer informações úteis que esclareçam o papel da bacaba na melhora do desempenho cognitivo após o seu consumo, e guiar decisões em pesquisas futuras com a fruta.

Dentre os motivos que justificam nossa escolha em utilizar a bacaba inteira nesta pesquisa, destacamos que, primeiramente, inexistem estudos que a utilizaram dessa forma, portanto nossos resultados poderiam encorajar ou não a exploração do fruto inteiro. Outro fator decisivo considerou que o processamento da bacaba gera grande volume de resíduo (caroço e bagaço), e seu aproveitamento integral poderia gerar desenvolvimento econômico e industrial para as regiões de cultivo. Por último, esta pesquisa integrou um projeto maior de estudos sobre a potencial aplicação da bacaba e seus derivados na prevenção dos efeitos deletérios da obesidade e da síndrome metabólica, de forma que os resultados iniciais deste trabalho podem guiar as tomadas de decisões futuras.

Por fim, os resultados deste estudo indicam que a suplementação com bacaba promoveu um melhor desempenho cognitivo em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica, conforme observado nos testes de reconhecimento de novo objeto e da esQUIVA passiva. A capacidade de aquisição da aprendizagem e sua consolidação, assim como a memória de reconhecimento, foram potencializadas nos animais que receberam a suplementação, conforme revelaram os resultados do teste de reconhecimento de novo objeto. Este efeito promotor esteve presente independentemente da presença ou não da dieta

hiperlipídica, e reflete na preservação da memória de longo prazo, uma vez que a sessão de teste ocorreu 24 horas após a sessão de treinamento. Semelhantemente, a capacidade de tomar decisão frente a uma situação de conflito foi potencializada com a suplementação de bacaba, conforme revelaram os resultados do teste de esquiva passiva. Em ambas as sessões do teste de retenção (1 e 24 horas após o treinamento), os animais que receberam a dieta hiperlipídica suplementada com bacaba demonstraram melhor resposta frente ao estímulo aversivo. Dessa forma, o consumo da bacaba protegeu, ou ainda promoveu, a função cognitiva dependente de estruturas cerebrais como o hipocampo, o córtex pré-frontal e a amígdala, frente à dieta hiperlipídica e à resistência insulínica.

VI. CONCLUSÃO

A bacaba inteira liofilizada apresentou elevado teor de carboidratos, lipídios, fibras e compostos fenólicos. Estes últimos refletiram na sua capacidade antioxidante, conforme as análises realizadas neste estudo. O consumo da fruta não impediu o ganho de peso nem preveniu a resistência à insulina em camundongos que receberam uma dieta hiperlipídica por catorze semanas, de acordo com os dados obtidos nos testes de tolerância à glicose e à insulina.

No entanto, a suplementação de uma dieta hiperlipídica com 5% de bacaba inteira liofilizada melhorou o desempenho de animais submetidos aos testes cognitivos de reconhecimento de novo objeto e de esQUIVA passiva. Os resultados obtidos indicam que a memória de reconhecimento, a aquisição e a consolidação da aprendizagem, tanto no curto quanto no longo prazo, foram potencializadas com o consumo da fruta.

A partir destes dados, a bacaba pode representar uma alternativa em potencial para utilização como estratégia de prevenção de diferentes condições clínicas e promoção de saúde, incluindo a função cognitiva, e para o desenvolvimento de novos alimentos ou suplementos pelas indústrias alimentícia e farmacêutica.

O emprego de uma fruta nativa brasileira como estratégia de manutenção ou promoção da saúde mental e cognitiva, como nossos resultados sugerem, encorajam investimentos em pesquisas que valorizem a biodiversidade brasileira.

REFERÊNCIAS

2023 Alzheimer's disease facts and figures. **Alzheimer's & Dementia**, v. 19, n. 4, p. 1598–1695, 14 abr. 2023.

ABADIO FINCO, F. D. B. *et al.* Antioxidant Activity and Characterization of Phenolic Compounds from Bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.) Fruit by HPLC-DAD-MS n. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 31, p. 7665–7673, 8 ago. 2012.

ABADIO FINCO, F. D. B.; BÖSER, S.; GRAEVE, L. Antiproliferative activity of Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) and Jenipapo (*Genipa americana* L.) phenolic extracts. **Nutrition & Food Science**, v. 43, n. 2, p. 98–106, 22 mar. 2013.

ABADIO FINCO, F. D. B.; KLOSS, L.; GRAEVE, L. Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) phenolic extract induces apoptosis in the MCF-7 breast cancer cell line via the mitochondria-dependent pathway. **NFS Journal**, v. 5, p. 5–15, dez. 2016.

ALLEGRI, R. F. Moving from neurodegenerative dementias, to cognitive proteinopathies, replacing “where” by “what”.... **Dementia & Neuropsychologia**, v. 14, n. 3, p. 237–242, set. 2020.

ALMEIDA-SUHETT, C. P. *et al.* Behavioral changes in male mice fed a high-fat diet are associated with IL-1 β expression in specific brain regions. **Physiology & Behavior**, v. 169, p. 130–140, fev. 2017.

ALMEIDA-SUHETT, C. P. *et al.* Control diet in a high-fat diet study in mice: Regular chow and purified low-fat diet have similar effects on phenotypic, metabolic, and behavioral outcomes. **Nutritional Neuroscience**, v. 22, n. 1, p. 19–28, 2 jan. 2019.

ANDRADE, P. B. *et al.* Flavonoids in Neurodegeneration: Limitations and Strategies to Cross CNS Barriers. **Current Medicinal Chemistry**, v. 23, n. 36, p. 4151–4174, 30 nov. 2016.

ANGELOVA, P. R. Sources and triggers of oxidative damage in neurodegeneration. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 173, p. 52–63, set. 2021.

ANGELUCCI, E. Análises químicas de alimentos: manual técnico. Campinas: **ITAL**, 1987. p. 52-53.

AOAC. (2012). Official Methods of Analysis of AOAC International. **Association of Official**

Analysis Chemists International.

BATISTA, Â. G. *et al.* Jaboticaba berry peel intake prevents insulin-resistance-induced tau phosphorylation in mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 61, n. 10, p. 1600952, out. 2017.

BATISTA, Â. G. *et al.* *Syzygium malaccense* fruit supplementation protects mice brain against high-fat diet impairment and improves cognitive functions. **Journal of Functional Foods**, v. 65, p. 103745, fev. 2020.

BIESSELS, G. J.; DESPA, F. Cognitive decline and dementia in diabetes mellitus: mechanisms and clinical implications. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 14, n. 10, p. 591–604, 18 out. 2018.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911–917, 1 ago. 1959.

BLÜHER, M. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 15, n. 5, p. 288–298, 27 maio 2019.

BOWE, J. E. *et al.* Metabolic phenotyping guidelines: Assessing glucose homeostasis in rodent models. **Journal of Endocrinology**, v. 222, n. 3, p. G13–G25, set. 2014.

BROOKMEYER, R. *et al.* Forecasting the global burden of Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia**, v. 3, n. 3, p. 186–191, jul. 2007.

CALABRÒ, M. *et al.* The biological pathways of Alzheimer disease: a review. **AIMS Neuroscience**, v. 8, n. 1, p. 86–132, 2021.

CHERBUIN, N. *et al.* Oxidative stress, inflammation and risk of neurodegeneration in a population sample. **European Journal of Neurology**, v. 26, n. 11, p. 1347–1354, 17 nov. 2019.

CHOOI, Y. C.; DING, C.; MAGKOS, F. The epidemiology of obesity. **Metabolism**, v. 92, p. 6–10, mar. 2019.

DA COSTA, W. A. *et al.* Açai (*Euterpe oleracea*) and Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) as Functional Food. In: **Superfood and Functional Food - An Overview of Their Processing and Utilization**. [s.l.] InTech, 2017.

DÁVALOS, A.; GÓMEZ-CORDOVÉS, C.; BARTOLOMÉ, B. Extending Applicability of the Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC–Fluorescein) Assay. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 52, n. 1, p. 48–54, 14 jan. 2004.

DE CÓL, C. D. *et al.* Foam-mat drying of bacaba (*Oenocarpus bacaba*): Process characterization, physicochemical properties, and antioxidant activity. **Food and Bioproducts Processing**, v. 126, p. 23–31, mar. 2021.

DOS SANTOS, M. *et al.* Amazonian Native Palm Fruits as Sources of Antioxidant Bioactive Compounds. **Antioxidants**, v. 4, n. 3, p. 591–602, 7 set. 2015.

DOS SANTOS, N. M. *et al.* Current evidence on cognitive improvement and neuroprotection promoted by anthocyanins. **Current Opinion in Food Science**, v. 26, p. 71–78, abr. 2019.

DOS SANTOS, N. M. *et al.* Açai pulp improves cognition and insulin sensitivity in obese mice. **Nutritional Neuroscience**, p. 1–11, 10 jan. 2023.

DRAGANO, N. R. V.; MILBANK, E. The Assessment of Glucose Homeostasis in Rodents: Glucose, Insulin and Pyruvate Tolerance Tests. In: CAZARIN, C. B. B. (Ed.). **Basic Protocols in Foods and Nutrition**. [s.l.] Humana Press, 2022. p. 33–52.

ENNACEUR, A. One-trial object recognition in rats and mice: Methodological and theoretical issues. **Behavioural Brain Research**, v. 215, n. 2, p. 244–254, dez. 2010.

ERATNE, D. *et al.* Alzheimer's disease: clinical update on epidemiology, pathophysiology and diagnosis. **Australasian Psychiatry**, v. 26, n. 4, p. 347–357, 3 ago. 2018.

ESCRICHE, I. *et al.* Composition and Nutritive Value of Amazonian Palm Fruits. **Food and Nutrition Bulletin**, v. 20, n. 3, p. 361–365, 28 jan. 1999.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Characterization and Measurement of Anthocyanins by UV-Visible Spectroscopy. **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, v. 00, n. 1, abr. 2001.

HÖLTER, S. M. *et al.* Assessing Cognition in Mice. **Current Protocols in Mouse Biology**, v. 5, n. 4, p. 331–358, dez. 2015.

JHA, S. K. *et al.* Linking mitochondrial dysfunction, metabolic syndrome and stress signaling in

Neurodegeneration. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, v. 1863, n. 5, p. 1132–1146, maio 2017.

KINNEY, J. W. *et al.* Inflammation as a central mechanism in Alzheimer's disease. **Alzheimer's & Dementia: Translational Research & Clinical Interventions**, v. 4, n. 1, p. 575–590, 5 jan. 2018.

KITAGISHI, Y. *et al.* Roles of PI3K/AKT/GSK3/mTOR Pathway in Cell Signaling of Mental Illnesses. **Depression Research and Treatment**, v. 2012, p. 1–8, 2012.

KOENIGSKNECHT-TALBOO, J.; LANDRETH, G. E. Microglial Phagocytosis Induced by Fibrillar β -Amyloid and IgGs Are Differentially Regulated by Proinflammatory Cytokines. **The Journal of Neuroscience**, v. 25, n. 36, p. 8240–8249, 7 set. 2005.

KRAEUTER, A.-K.; GUEST, P. C.; SARNYAI, Z. The Y-Maze for Assessment of Spatial Working and Reference Memory in Mice. In: GUEST, P. C. (Ed.). . **Pre-Clinical Models. Methods in Molecular Biology**. [s.l.] Humana Press, 2019. p. 105–111.

LALONDE, R. The neurobiological basis of spontaneous alternation. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 26, n. 1, p. 91–104, jan. 2002.

LAUVAI, J. *et al.* Bacaba phenolic extract attenuates adipogenesis by down-regulating PPAR γ and C/EBP α in 3T3-L1 cells. **NFS Journal**, v. 9, p. 8–14, nov. 2017.

LEBA, L.-J. *et al.* *Oenocarpus bacaba* and *Oenocarpus bataua* Leaflets and Roots: A New Source of Antioxidant Compounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 17, n. 7, p. 1014, 27 jun. 2016.

LEGER, M. *et al.* Object recognition test in mice. **Nature Protocols**, v. 8, n. 12, p. 2531–2537, 21 dez. 2013.

LI, J.; SHI, Z.; MI, Y. Purple sweet potato color attenuates high fat-induced neuroinflammation in mouse brain by inhibiting MAPK and NF- κ B activation. **Molecular Medicine Reports**, 17 jan. 2018.

LIU, Y. *et al.* Luteolin protects against high fat diet-induced cognitive deficits in obesity mice. **Behavioural Brain Research**, v. 267, p. 178–188, jul. 2014.

LUEPTOW, L. M. Novel Object Recognition Test for the Investigation of Learning and Memory in

Mice. **Journal of Visualized Experiments**, n. 126, 30 ago. 2017.

MACIEJCZYK, M.; ŻEBROWSKA, E.; CHABOWSKI, A. Insulin Resistance and Oxidative Stress in the Brain: What's New? **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, n. 4, p. 874, 18 fev. 2019.

MINELI, M. M. DOS S. *et al.* Development of sub-product from the waste from bacaba processing (*Oenocarpus bacaba* Mart) as a source of value aggregation and income generation. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 3, p. e15810313078, 10 mar. 2021.

MISANE, I.; ÖGREN, S. O. Multiple 5-HT Receptors in Passive Avoidance Comparative Studies of p-Chloroamphetamine and 8-OH-DPAT. **Neuropsychopharmacology**, v. 22, n. 2, p. 168–190, fev. 2000.

MORAIS, R. A. *et al.* Nutritional Composition and Bioactive Compounds of Native Brazilian Fruits of the Arecaceae Family and Its Potential Applications for Health Promotion. **Nutrients**, v. 14, n. 19, p. 4009, 27 set. 2022.

NASCIMENTO, R. A. DO *et al.* Bacaba powder produced in spouted bed: an alternative source of bioactive compounds and energy food product. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 22, 2019.

NERI-NUMA, I. A. *et al.* Small Brazilian wild fruits: Nutrients, bioactive compounds, health-promotion properties and commercial interest. **Food Research International**, v. 103, p. 345–360, jan. 2018.

ÖGREN, S. O.; STIEDL, O. Passive Avoidance. In: **Encyclopedia of Psychopharmacology**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2010. p. 960–967.

PEREIRA, S. A. *et al.* Prospecção sobre o conhecimento de espécies amazônicas - inajá (*Maximiliana maripa* Aublt.) e bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.). **Revista Gestão, Inovação e Tecnologias**, v. 3, n. 2, p. 110–122, 15 jun. 2013.

PINTO, R. H. H. *et al.* Extraction of bacaba (*Oenocarpus bacaba*) oil with supercritical CO₂: Global yield isotherms, fatty acid composition, functional quality, oxidative stability, spectroscopic profile and antioxidant activity. **Grasas y Aceites**, v. 69, n. 2, p. 246, 4 jun. 2018.

REEVES, P. G.; NIELSEN, F. H.; FAHEY, G. C. AIN-93 Purified Diets for Laboratory Rodents:

Final Report of the American Institute of Nutrition Ad Hoc Writing Committee on the Reformulation of the AIN-76A Rodent Diet. **The Journal of Nutrition**, v. 123, n. 11, p. 1939–1951, nov. 1993.

REHMAN, M. U. *et al.* Neuroprotective Strategies for Neurological Disorders by Natural Products: An update. **Current Neuropharmacology**, v. 17, n. 3, p. 247–267, 14 fev. 2019.

SAIRAZI, N. S. M.; SIRAJUDEEN, K. N. S. Natural Products and Their Bioactive Compounds: Neuroprotective Potentials against Neurodegenerative Diseases. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2020, p. 1–30, 14 fev. 2020.

SANTOS, O. V. DOS *et al.* Industrial potential of Bacaba (*Oenocarpus bacaba*) in powder: antioxidant activity, spectroscopic and morphological behavior. **Food Science and Technology**, v. 42, 2022.

SEIXAS, F. R. F. *et al.* Physicochemical characteristics and lipid profile of the bacaba occurring in the western Amazon. **Brazilian Journal of Food Research**, v. 7, n. 3, p. 105, 19 set. 2016b.

SILVA, A. J. B. DA; SEVALHO, E. DE S.; MIRANDA, I. P. DE A. Potencial das palmeiras nativas da Amazônia Brasileira para a bioeconomia: análise em rede da produção científica e tecnológica. **Ciência Florestal**, v. 31, n. 2, p. 1020–1046, 1 jun. 2021.

SILVA, N. DE M. L. E *et al.* Understanding the link between insulin resistance and Alzheimer's disease: Insights from animal models. **Experimental Neurology**, v. 316, p. 1–11, jun. 2019.

SINGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdic-Phosphotungstic Acid Reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144–158, 1965.

SOUSA, S.B. *et al.* Compostos fenólicos e atividade antioxidante de frutos de bacaba (*Oenocarpus spp.*). In: **CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**, 25., 2016, Gramado. Anais eletrônicos. Gramado: SBCTA Regional, 2016. Disponível em: <http://www.ufrgs.br/sbctars-eventos/xxvcbcta/anais/files/607.pdf>. Acesso em 11 out. 2021.

SOUSA, S. H. B. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de frutos de acessos de bacaba-de-leque. Orientadora: Ana Vânia Carvalho. 2017. 68 p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Instituto de Tecnologia, Universidade Federal do Pará, Belém, 2017.

SPIELMAN, L. J.; LITTLE, J. P.; KLEGERIS, A. Inflammation and insulin/IGF-1 resistance as the possible link between obesity and neurodegeneration. **Journal of Neuroimmunology**, v. 273, n. 1–2, p. 8–21, ago. 2014.

SRIPETCHWANDEE, J.; CHATTIPAKORN, N.; CHATTIPAKORN, S. C. Links Between Obesity-Induced Brain Insulin Resistance, Brain Mitochondrial Dysfunction, and Dementia. **Frontiers in Endocrinology**, v. 9, 31 ago. 2018.

SWEATT, J. D. Rodent Behavioral Learning and Memory Models. In: SWEATT, J. D. (Ed.). . **Mechanisms of Memory**. [s.l.] Elsevier, 2010. p. 77–103.

TRÄGER, U.; TABRIZI, S. J. Peripheral inflammation in neurodegeneration. **Journal of Molecular Medicine**, v. 91, n. 6, p. 673–681, 2 jun. 2013.

VOS, T. *et al.* Global burden of 369 diseases and injuries in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. **The Lancet**, v. 396, n. 10258, p. 1204–1222, out. 2020.

WANG, D. *et al.* Naringin Improves Neuronal Insulin Signaling, Brain Mitochondrial Function, and Cognitive Function in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. **Cellular and Molecular Neurobiology**, v. 35, n. 7, p. 1061–1071, 5 out. 2015.

WEBSTER, S. J. *et al.* Using mice to model Alzheimer’s dementia: an overview of the clinical disease and the preclinical behavioral changes in 10 mouse models. **Frontiers in Genetics**, v. 5, 23 abr. 2014.

WILLIAMS, R. J.; SPENCER, J. P. E. Flavonoids, cognition, and dementia: Actions, mechanisms, and potential therapeutic utility for Alzheimer disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 52, n. 1, p. 35–45, jan. 2012.

YOSHIZAKI, K.; ASAI, M.; HARA, T. High-Fat Diet Enhances Working Memory in the Y-Maze Test in Male C57BL/6J Mice with Less Anxiety in the Elevated Plus Maze Test. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 2036, 9 jul. 2020.

ZHOU, T. *et al.* Naringenin alleviates cognition deficits in high-fat diet-fed SAMP8 mice. **Journal of Food Biochemistry**, v. 44, n. 9, 17 set. 2020.

ANEXO I



Ministério do Meio Ambiente
CONSELHO DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO

SISTEMA NACIONAL DE GESTÃO DO PATRIMÔNIO GENÉTICO E DO CONHECIMENTO TRADICIONAL ASSOCIADO

Cadastro de Acesso Nº AB24DBF

Tipo de Usuário:	UNICAMP
Responsável pelo cadastro:	22427432873 32304572855
Objeto do Acesso:	Patrimônio Genético
O acesso foi realizado antes de 17/11/2015 ou obteve autorização de acesso antes de 17/11/2015?	Não, sem solicitação de autorização em tramitação
Finalidade do Acesso:	Pesquisa
Estas atividades são baseadas em acesso realizado anteriormente?:	Não
Este cadastro está vinculado a cadastro anterior de remessa?	Não

Patrimônio Genético

Título da Atividade:	Efeitos do consumo de bacaba (<i>Oenocarpus bacaba</i>) na prevenção do declínio cognitivo associado à obesidade e à resistência insulínica induzidas por dieta hiperlipídica
----------------------	--

Título da Atividade em inglês:

Resumo da atividade (incluindo objetivos e resultados esperados ou obtidos, conforme o caso)

Nas últimas décadas, a incidência de obesidade tem aumentado em todo o mundo, juntamente com as doenças e comorbidades associadas, como doenças cardiovasculares, hipertensão arterial, diabetes mellitus, diversos tipos de câncer e demências. As demências são um conjunto de doenças neurodegenerativas que progridem com declínio cognitivo cada vez mais acentuado, comprometimento da memória e aprendizagem. De todas as demências, a Doença de Alzheimer é a mais comum, cujas características principais a nível celular são a presença de placas beta amiloide e emaranhados neurofibrilares. A obesidade contribui para a formação destas placas por diversos mecanismos, entre os quais a inflamação crônica de baixo grau, a neuroinflamação, a resistência à insulina e o estresse oxidativo. Diversas frutas e seus compostos bioativos têm se mostrado eficazes em prevenir o declínio cognitivo associado à obesidade, sobretudo compostos fenólicos e antocianinas, atuando sobre mecanismos relacionados à inflamação sistêmica, à neuroinflamação, à resistência insulínica e ao estresse oxidativo. A bacaba (*Oenocarpus bacaba*) é uma fruta nativa da Amazônia brasileira ainda pouco explorada, porém com grande potencial para ser utilizada na prevenção dos efeitos deletérios do consumo de uma dieta rica em gordura. Sua composição apresenta ácidos graxos poliinsaturados, fibras, compostos fenólicos como flavonóides e antocianinas, e tem demonstrado potente efeito antioxidante. Este projeto de pesquisa tem como

objetivo avaliar os efeitos do consumo da bacaba na prevenção de declínio cognitivo relacionado à resistência insulínica e à obesidade induzidas por dieta hiperlipídica em modelo animal. Espera-se que a fruta seja capaz de prevenir ou atenuar os danos causados pela dieta rica em gordura em indicadores inflamatórios, na resistência insulínica, na defesa antioxidante e no desempenho dos animais em testes de cognição.

Resumo não sigiloso da Atividade em Inglês

Palavra(s)-chave: **Bacaba obesidade cognição neurodegeneração**

Palavra(s)-chave em inglês:

Período das Atividades: **01/03/2022** **Ainda não iniciado ou em execução**

Equipe

Nome Completo	Documento	Instituição	Nacionalidade
Levi Nascimento Bellinazzi	***.045.728-**	UNICAMP	Brasil

Sobre o Componente do Patrimônio Genético Acessado

O acesso ao patrimônio genético será realizado em área indispensável à segurança nacional ou águas jurisdicionais brasileiras, plataforma continental e zona econômica exclusiva:

Não

Tipo de Componente: **Flora (exceto algas)**

Nome Científico: **Oenocarpus bacaba**

Reino: **Plantae**

Filo/Divisão: **MAGNOLIOPHYTA**

Classe: **LILIOPSIDA**

Ordem: **ARECALES**

Família: **ARECACEAE**

Nome(s) popular(es): **Bacaba**

Trata-se de variedade tradicional local ou crioula ou raça localmente adaptada ou crioula? **Não**

Sobre a Procedência Do Patrimônio Genético

Procedência da amostra: **In situ**

UF: **PA**

Município: **Belém**

Latitude: **1° 27" 0.21' S**

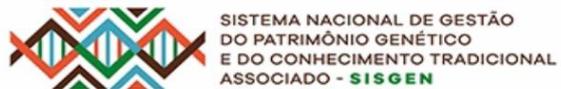
Longitude: **48° 30" 0.16' W**

Bioma: **Amazônia**

Data do Cadastro: 19/05/2022 21:29:22

Situação do Cadastro: Concluído

Conselho de Gestão do Patrimônio Genético
Situação cadastral conforme consulta ao SisGen em 13:31 de 24/05/2022.



ANEXO II

CERTIFICADO CEUA nº 92/2022



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada **Efeitos da bacaba (*Oenocarpus bacaba*) sobre parâmetros metabólicos e na prevenção do declínio cognitivo em camundongos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica.**, registrada com o nº **5975-1/2022**, sob a responsabilidade de **Prof. Dr. Mario Roberto Marostica Junior e Luciana Mancio Gomes, Levi Nascimento Bellinazzi**, que envolve a produção, manutenção 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**, que estabelece procedimentos para o uso científico de animais, 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)**, tendo sido aprovada pela **Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Campinas - CEUA/UNICAMP**, em reunião de **21/03/2022**.

Finalidade:	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica
Vigência do projeto:	03/05/2022 a 31/10/2022
Vigência da autorização para manipulação animal:	21/03/2022 a 31/10/2022
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo heterogênico / Unib:SW (Swiss)
No. de animais:	15
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 30.00 Gramas
Sexo:	15 Machos
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo heterogênico / Unib:SW (Swiss)
No. de animais:	15
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 30.00 Gramas
Sexo:	15 Machos
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo heterogênico / Unib:SW (Swiss)
No. de animais:	15
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 30.00 Gramas
Sexo:	15 Machos
Espécie / linhagem/ raça:	Camundongo heterogênico / Unib:SW (Swiss)
No. de animais:	15
Idade/Peso:	8.00 Semanas / 30.00 Gramas
Sexo:	15 Machos
Origem:	Biotério - Centro Multidisciplinar para Investigação Biológica na Área da Ciência em Animais de Laboratório (CEMIB - UNICAMP)
Biotério onde serão mantidos os animais:	Biotério do Laboratório de Ensaio Biológicos, FEA/UNICAMP

A aprovação pela CEUA/UNICAMP não dispensa autorização a junto ao **IBAMA, SISBIO** ou **CIBio** e é **restrita** a protocolos desenvolvidos em biotérios e laboratórios da Universidade Estadual de Campinas.

Campinas, **28 de abril de 2022**.

Prof. Dr. Wagner José Fávoro
Presidente

Rosângela dos Santos
Secretária Executiva

IMPORTANTE: Pedimos atenção ao prazo para envio do relatório final de atividades referente a este protocolo: até 30 dias após o encerramento de sua vigência. O formulário encontra-se disponível na página da CEUA/UNICAMP, área do pesquisador responsável. A não apresentação de relatório no prazo estabelecido impedirá que novos protocolos sejam submetidos.

Documento assinado eletronicamente por **WAGNER JOSE FAVARO, PRESIDENTE DA CEUA/UNICAMP**, em 29/04/2022, às 11:39 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.

Documento assinado eletronicamente por **ROSANGELA DOS SANTOS, SECRETÁRIA EXECUTIVA CEUA/UNICAMP**, em 28/04/2022, às 16:36 horas, conforme Art. 10 § 2º da MP 2.200/2001 e Art. 1º da Resolução GR 54/2017.



A autenticidade do documento pode ser conferida no site:
sigad.unicamp.br/verifica, informando o código verificador:
2C3D331B 3D1A4C30 8F1ABCD7 3C6C14FE

