



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS E ENGENHARIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE
ALIMENTOS

MANUELLA DOMICIANO DO NASCIMENTO

**EFEITO DO EXTRATO DE CAFÉ VERDE (*Coffea canephora*) NOS
BIOMARCADORES METABÓLICOS E NA MORFOLOGIA DOS TECIDOS
HEPÁTICO E ADIPOSEO, EM RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA PELA DIETA
RICA EM GORDURA.**

ALEGRE – ES
SETEMBRO - 2024

MANUELLA DOMICIANO DO NASCIMENTO

**EFEITO DO EXTRATO DE CAFÉ VERDE (*Coffea canephora*) NOS
BIOMARCADORES METABÓLICOS E NA MORFOLOGIA DOS TECIDOS
HEPÁTICO E ADIPOSEO, EM RATOS COM OBESIDADE INDUZIDA PELA DIETA
RICA EM GORDURA.**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias e Engenharias da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

Orientador: Prof. André Gustavo Vasconcelos Costa
Co-orientadora: Prof^a. Neuza Maria Brunoro Costa
Co-orientadora: Prof^a. Mirelle Lomar Viana

ALEGRE – ES
SETEMBRO – 2024

Ficha catalográfica disponibilizada pelo Sistema Integrado de
Bibliotecas - SIBI/UFES e elaborada pelo autor

N244e Nascimento, Manuella Domiciano do, 2024-
Efeito do extrato de café verde (*Coffea Canephora*) nos
biomarcadores metabólicos e na morfologia dos tecidos hepático
e adiposo, em ratos com obesidade induzida pela dieta rica em
gordura. / Manuella Domiciano do Nascimento. - 2024.
76 p. : il.

Orientador: André Gustavo Vasconcelos Costa.

Coorientadores: Neuza Maria Brunoro Costa, Mirelle Lomar
Viana.

Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de
Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Centro de
Ciências Agrárias e Engenharias.

1. Conilon. 2. Composto Bioativos. 3. Tecido Adiposo. 4.
Esteatose Hepática. 5. Inflamação. 6. Estresse oxidativo. I.
Costa, André Gustavo Vasconcelos. II. Costa, Neuza Maria
Brunoro. III. Viana, Mirelle Lomar. IV. Universidade Federal do
Espírito Santo. Centro de Ciências Agrárias e Engenharias. V.
Título.


CDU: 664

MANUELLA DOMICIANO DO NASCIMENTO


**“EFEITO DO EXTRATO DE CAFÉ VERDE (*Coffea canephora*)
NOS BIOMARCADORES METABÓLICOS E NA MORFOLOGIA DOS
TECIDOS HEPÁTICO E ADIPOSE, EM RATOS COM OBESIDADE
INDUZIDA POR DIETA RICA EM GORDURA”**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal do Espírito Santo, como parte das exigências para obtenção do Título de Mestre em Ciência e Tecnologia de Alimentos.

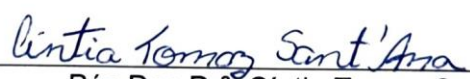
Aprovada em 26 de setembro de 2024.



Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES
Orientador



Prof.ª Dr.ª Neuza Maria Brunoro Costa
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES
Coorientadora



Pós Doc Dr.ª Cíntia Tomaz Sant'Ana
Universidade Federal do Espírito Santo - UFES
Membra Interna

Dennys Esper Cintra

Digitally signed by Dennys Esper Cintra
Date: 2024.09.30 11:26:06 -03'00'

Prof. Dr. Dennys Correa Cintra
Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP
Membro Externo

AGRADECIMENTOS

A Deus, em primeiro lugar, por me guiar e fortalecer em todos os momentos dessa jornada. Sua presença constante me deu forças nos momentos mais desafiadores e me trouxe serenidade nas decisões importantes. Sou grata por cada conquista e pelo aprendizado que veio junto com os desafios.

Agradeço com todo o meu coração à minha família, que sempre esteve ao meu lado em todos os momentos. Em especial, à minha mãe Marluce e ao meu pai/tio Jurandir, por não medirem esforços para que eu pudesse realizar todos os meus sonhos e concluir este mestrado.

Ao meu esposo Tiago, sua paciência, compreensão e apoio constante foram fundamentais ao longo dessa jornada. Desde a inscrição até a conclusão deste mestrado, você esteve presente em todos os momentos, compartilhando cada desafio e celebrando cada conquista. Nos momentos de dificuldades, você esteve ao meu lado, me incentivando a continuar e acreditando em mim, mesmo quando eu duvidava. Sou grata por cada palavra de incentivo e cada gesto de carinho.

Às minhas princesinhas, Sophia e Mariana, vocês foram minha fonte de alegria e inspiração diária. Mesmo com a correria, vocês sempre conseguiram iluminar meus dias e me lembrar do que realmente importa. Sou imensamente grata pela paciência e pela compreensão que vocês demonstraram durante todo esse tempo. Cada sorriso e cada momento juntas tornaram essa conquista ainda mais especial. Foi tudo por vocês.

Ao meu orientador, Prof. André, pelo apoio, orientação e dedicação que foram essenciais para o desenvolvimento deste trabalho. Sua empatia, compreensão e humanidade fizeram toda a diferença durante essa jornada. Agradeço por compartilhar seu conhecimento e por suas orientações valiosas, não somente na área acadêmica, mas de vida.

Às professoras Neuza e Mirelle, pelo apoio, conselhos e orientação. Sua dedicação e conhecimento foram fundamentais para o sucesso deste trabalho.

À Cintia e à Mariana, que sempre estiveram dispostas a ajudar. Cintia, sou extremamente grata por toda sua ajuda, por esclarecer minhas dúvidas com paciência

e dedicação, ensinando-me muito e sendo essencial nas análises. Mariana, agradeço por suas valiosas sugestões, que me fizeram refletir e ampliar meus conhecimentos.

Ao professor Dennys Cintra, pelo auxílio por meio de suas sugestões e por aceitar integrar a banca examinadora.

À Natália, minha amiga e companheira de jornada. Desde o primeiro dia de faculdade e ao longo pelo mestrado, até nossa convivência diária como colegas de casa, você foi uma fonte constante de apoio e amizade. Sua parceria e compreensão foram essenciais em cada etapa.

Agradeço a Thainara, André e Pedro, pelos esforços e contribuições durante a pesquisa.

Agradeço a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica. Em especial, gostaria de destacar a Prof^a. Pollyanna e Prof. Leonardo que foram fundamentais ao oferecerem conhecimento e apoio em várias etapas da pesquisa.

Aos professores Prof. Eduardo, Prof. Dirlei, Prof^a. Jankerle e Prof^a. Graziela, pela disponibilidade e pelo apoio em etapas importantes da pesquisa.

Aos técnicos Mayara, Maurício, Ronaldo, Kelly e Letícia, por suas contribuições no desenvolvimento da pesquisa. Em especial, ao Eduardo pela disponibilidade e auxílio no laboratório.

Aos meus amigos de faculdade e agora também de mestrado, Ana Clara, Dara, Layla e Renato. As trocas de experiências, as conversas e o apoio mútuo foram essenciais para superar os desafios e celebrar as conquistas.

À Universidade Federal do Espírito Santo (UFES) e ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos (PCTA), pela oportunidade de desenvolver esta pesquisa e receber um ensino gratuito e de excelência.

A Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES) pelo financiamento do estudo (Edital FAPES Universal, nº 28/2022 – TO 838/2023).

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES), o presente trabalho foi realizado com apoio desta - Código de Financiamento 001.

LISTA DE SIGLAS

% - Porcentagem
® - Marca Registrada
µl - Microlitro
µm - Micrômetro
µM- Micromolar
5-CQA - Ácido 5-cafeoilquínico
ACG - Ácido Clorogênico
AGL - Ácidos Graxos Livre
ALT - Alanina Aminotransferase
AMPK - Proteína Quinase Ativada por AMP
AST - Aspartato Aminotransferase
AUC- Área sob a Curva
C/EBPα - Proteína de ligação ao CCAAT/enhancer α
CAT - Catalase
CC - Circunferência da Cintura
CCAE - Centro de Ciências Agrárias e Engenharias
CEA - Coeficiente de Eficiência Alimentar
CEC - Coeficiente de Eficiência Calórica
CETP - Proteína de Transferência de Ésteres de Colesterol
cm - Centímetro
CNA - Comprimento Nasoanal
COX-2 - Ciclooxigenase-2
DAD - Detector de Arranjo de Diodos
DHGNA - Doença Hepática Gordurosa Não Alcoólica
dL - Decilitro
DM2 - Diabetes Mellitus tipo 2
EDTA - Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
ERK - Cinase Regulada por Sinal Extracelular
ERO - Espécies Reativas de Oxigênio

ES - Espírito Santo
EUA - Estados Unidos da América
FAS - Ácido Graxo Sintase
FIAF - Fator Adiposo Induzido pelo Jejum
g - Grama
GLP-1 - Peptídeo 1 semelhante ao glucagon
HCl - Ácido Clorídrico
HDL-c - Lipoproteína de Alta Densidade
HMG-CoA - 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA
IHS - Índice Hepatosomático
IL- Interleucina
IMC - Índice de Massa Corporal
IRS - Substrato do Receptor de Insulina
JNK - Quinase c-Jun n-terminal
Kcal - Quilocaloria
Kg - Kilograma
LDL-c - Lipoproteína de Baixa Densidade
LDL-ox- Lipoproteína de Baixa Densidade Oxidada
LPL - Lipoproteína Lipase
LPS - Lipopolissacarídeo
mg - Miligrama
min - Minutos
mL- Mililitros
mm - Milímetro
mM - Milimolar
MTT - 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio brometo
NASH - Esteato-hepatite não alcoólica
NF-κB - Fator Nuclear Kappa B
nm - Nanômetro
°C - Graus Celsius
OMS - Organização Mundial da Saúde

ON - Óxido nítrico
ox-LDL - Lipoproteína de Baixa densidade oxidada
p 38 MAPK - Proteína quinase ativada por mitógeno p38
PGE2 - Prostaglandina E2
pH - Potencial Hidrogeniônico
PI3K - Fosfatidilinositol-3-quinase
PKB ou AKT - Proteína quinase B
PPAR- Receptor Ativado por Proliferador de Peroxissomo
PTP1B - Proteína tirosina fosfatase 1B
SM - Síndrome Metabólica
SOD - Superóxido Dismutase
STZ – Estreptozotocina
TAE - Tecido Adiposo Epididimal
TG - Triglicerídeos
TNF - Fator de Necrose Tumoral
Tris - Tris(hidroximetil)aminometano
TTGip - Teste de Tolerância à Glicose Intraperitoneal
UFES - Universidade Federal do Espírito Santo
UPLC - Cromatografia Líquida de Ultra Frequência
v – Volume
VLDL - Lipoproteínas de densidade muito baixa
 α – Alfa
 β – Beta
 γ – Gamma

LISTA DE TABELA

Tabela 1 - Composição de ácido clorogênico, cafeína e trigonelina no café verde e torrado nas espécies <i>C. canephora</i> e <i>C. arábica</i>	13
Tabela 2 - Efeito do café verde e dos compostos majoritários sobre a saúde.....	16
Tabela 3 - Composição da dieta experimental.....	28
Tabela 4 - Quantificação de compostos bioativos do extrato de café verde.....	32
Tabela 5 - Análise dos parâmetros murinométricos dos animais experimentais.....	35
Tabela 6 - Resultados bioquímicos sanguíneos dos animais experimentais.....	37
Tabela 7 - Análise morfológica do tecido hepático e do tecido adiposo epididimal.....	40

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Potenciais mecanismos celulares de resistência à insulina induzida pela obesidade.....	10
Figura 2 - Esquema do desenho experimental.....	27
Figura 3 - Gráficos de peso e consumo.....	34
Figura 4 - Perfil Glicêmico.....	35
Figura 5 - Concentração de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), óxido nítrico (ON), IL-10, IL-1 β , TNF- α e PPAR- γ no tecido hepático dos animais experimentais.....	38
Figura 6 - Concentração de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), óxido nítrico (ON) e IL-1 β no tecido adiposo dos animais experimentais.....	39
Figura 7 - Concentração de PPAR- γ e IL-10 sanguíneo dos animais experimentais.....	39
Figura 8 - Fotomicrografias representativas dos tecidos hepático e adiposo epididimal dos animais experimentais.....	41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	1
2. HIPÓTESE	4
3. OBJETIVOS	5
3.1 Geral.....	5
3.2 Específicos	5
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	6
4.1 Obesidade e comorbidades associadas	6
4.2 Café verde e seus compostos.....	12
4.3 Café verde e efeitos na saúde.....	15
5. MATERIAIS E MÉTODOS.....	24
5.1. Extrato aquoso de café verde.....	24
5.2 Determinação dos teores de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina	24
5.3 Estudo em modelo animal	25
5.4 Delineamento experimental	25
5.5 Dietas experimentais.....	27
5.6 Avaliação da tolerância à glicose.....	28
5.7 Marcadores bioquímicos	29
5.8 Biomarcadores de estresse oxidativos	29
5.10 Análises histomorfológicas	30
6. RESULTADOS.....	32
6.1. Composição do extrato de café verde	32
6.2 Peso, consumo alimentar e parâmetros murinométricos dos animais	32
6.3 Perfil glicêmico e marcadores bioquímico dos animais.....	35
6.4 Quantificação de biomarcadores oxidativos e inflamatórios no soro, tecido adiposo e hepático.....	38
6.5 Análise morfológica dos tecidos hepático e do tecido adiposo epididimal	40
7. DISCUSSÃO	41
8. CONCLUSÃO.....	47
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48
10. APÊNDICE	60
11. ANEXO.....	61

RESUMO

NASCIMENTO, Manuella Domiciano do. **Efeito do extrato de café verde (*Coffea canephora*) nos biomarcadores metabólicos e na morfologia dos tecidos hepáticos e adiposo, em ratos com obesidade induzida por dieta rica em gordura.** 2024. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) - Universidade Federal do Espírito Santo, Alegre – ES. Orientador: Prof. Dr. André Gustavo Vasconcelos Costa. Coorientadoras: Prof^ª. Dr^ª. Neuza Maria Brunoro Costa e Prof^ª. Dr^ª. Mirelle Lomar Viana.

A obesidade é uma condição crônica global que resulta em excesso de gordura corporal, aumentando o risco de doenças como diabetes tipo 2 e problemas cardiovasculares. Está associada à resistência à insulina, dislipidemia, inflamação crônica e estresse oxidativo. Alimentos contendo compostos bioativos têm mostrado potencial para auxiliar na modulação da obesidade. O café verde (*Coffea canephora*) ou cru, é rico em compostos bioativos como ácido clorogênico, cafeína e trigonelina, que apresentam menor perda quando não passados pela torra. Estudos indicam que o café verde pode oferecer benefícios para reduzir o estresse oxidativo e o peso corporal. Assim, objetivou-se avaliar o efeito do extrato de café verde sobre alterações metabólicas e morfologia dos tecidos hepáticos e adiposo, em ratos submetidos a obesidade. A amostra de café verde foi obtida de produtores do Caparaó Capixaba. Inicialmente quantificou-se os compostos majoritários do café verde. Após 48 ratos Wistar adultos foram divididos em quatro grupos (n=12): grupo CT (dieta controle comercial, sem suplementação de extrato de café verde), HF (dieta hipercalórica rica em gordura, sem suplementação de café verde), HFP (dieta hipercalórica rica em gordura, suplementada com extrato de café verde desde a primeira semana de experimento) e HFT (dieta hipercalórica rica em gordura, suplementada com extrato de café verde a partir da oitava semana de experimento). A dieta para indução da obesidade foi hipercalórica e hiperlipídica (5,35kcal/g), composta por 31,2 % de banha de porco. A suplementação com extrato de café verde foi realizada diariamente, com a preparação de 2 mL de extrato por animal, que foi incorporado à dieta dos animais. Os animais foram monitorados diariamente quanto à ingestão alimentar e semanalmente quanto ao peso corporal. Na 15^a semana, foi realizado o teste de tolerância à glicose intraperitoneal. Na 16^a semana os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e eutanasiados por punção cardíaca. O sangue foi coletado e centrifugado para análises dos marcadores metabólicos. O tecido adiposo epididimal e o fígado foram removidos, pesados e preparados para análises inflamatórias, oxidativas e histológicas. Foi aplicado o teste t para comparação dos resultados dos grupos controle e ANOVA, complementada com teste de Tukey ($p > 0,05$) para comparação dos grupos testes com o controle positivo. O modelo de obesidade proposto foi efetivo, como demonstrado pelo ganho de peso, coeficiente de consumo alimentar e calórico e parâmetros murinométricos. Por outro lado, o extrato de café verde não apresentou efeitos significativos sobre o consumo alimentar, ganho de peso, intolerância à glicose, perfil oxidativo, inflamatório ou morfologia do tecido adiposo. O grupo HFT apresentou menores concentrações de aspartato aminotransferase e aumento dos níveis de HDL-c, além de redução na gravidade da

esteatose hepática, passando de grave para moderada. O extrato de café verde pode beneficiar a saúde hepática em condições de obesidade, promovendo na modulação de marcadores hepáticos, além de atenuar a gravidade da esteatose no fígado, indicando seu potencial coadjuvante no tratamento das alterações metabólicas decorrentes do consumo excessivo de calorias e de gordura.

Palavra-chave: Conilon, Composto Bioativos, Tecido Adiposo, Esteatose Hepática, Inflamação, Estresse oxidativo.

ABSTRACT

NASCIMENTO, Manuella Domiciano do. **Effect of Green Coffee Extract (*Coffea canephora*) on Metabolic Biomarkers and the Morphology of Hepatic and Adipose Tissues in Diet-Induced Obese Rats.** 2024. Dissertation (Master's degree in Food Science and Technology) - Federal University of Espírito Santo, Alegre – ES. Advisor: Prof. Dsc. André Gustavo Vasconcelos Costa. Co-advisor: Prof. Drs. Neuza Maria Brunoro Costa and Prof. Drs. Mirelle Lomar Viana.

Obesity is a global chronic condition characterized by excessive body fat, increasing the risk of diseases such as type 2 diabetes and cardiovascular problems. It is associated with insulin resistance, dyslipidemia, chronic inflammation, and oxidative stress. Foods containing bioactive compounds have shown potential to assist in modulating obesity. Green coffee (*Coffea canephora*), or unroasted coffee, is rich in bioactive compounds such as chlorogenic acid, caffeine, and trigonelline, which undergo less degradation compared to roasted coffee. Studies indicate that green coffee may offer benefits in reducing oxidative stress and body weight. Thus, this study aimed to evaluate the effect of green coffee extract on metabolic alterations and the morphology of liver and adipose tissues in rats subjected to obesity. The green coffee sample was obtained from producers in the Caparaó Capixaba region. Initially, the major compounds in green coffee were quantified. Forty-eight adult Wistar rats were divided into four groups (n=12): CT group (control commercial diet, no supplementation with green coffee extract), HF group (high-fat, high-calorie diet without green coffee supplementation), HFP group (high-fat, high-calorie diet supplemented with green coffee extract from the first week of the experiment), and HFT group (high-fat, high-calorie diet supplemented with green coffee extract starting in the eighth week of the experiment). The obesity-inducing diet was high-calorie and high-fat (5.35kcal/g), consisting of 31.2% pork lard. Green coffee extract supplementation was administered daily, with 2 mL of extract per animal, incorporated into their diet. The animals were monitored daily for food intake and weekly for body weight. In the 15th week, an intraperitoneal glucose tolerance test was performed. In the 16th week, the animals were subjected to 12 hours of fasting and euthanized via cardiac puncture. Blood was collected and centrifuged for metabolic marker analyses. Epididymal adipose tissue and the liver were removed, weighed, and prepared for inflammatory, oxidative, and histological analyses. A t-test was applied to compare control results, and ANOVA followed by Tukey's test ($p > 0.05$) was used for test group comparisons against the positive control. The proposed obesity model was effective, as demonstrated by weight gain, food and caloric intake coefficients, and murinometric parameters. On the other hand, green coffee extract showed no significant effects on food intake, weight gain, glucose intolerance, or oxidative, inflammatory, or adipose tissue morphology parameters. However, the HFT group exhibited lower aspartate aminotransferase concentrations, increased HDL-c levels, and a reduction in hepatic steatosis severity, shifting from severe to moderate. Green coffee extract may benefit liver health in obesity conditions, modulating hepatic markers and attenuating the severity of liver steatosis, indicating its potential as an adjuvant in treating metabolic alterations resulting from excessive calorie and fat intake.

Keywords: Conilon, Bioactive Compounds, Adipose Tissue, Hepatic Steatosis, Inflammation, Oxidative Stress.

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica, progressiva e multifatorial, caracterizada pelo acúmulo excessivo de tecido adiposo, com impacto significativo na saúde metabólica e nas dimensões sociais e psicológicas dos indivíduos, afetando negativamente pessoas de todas as idades e grupos socioeconômicos globalmente (CHANDRASEKARAN E WEISKIRCHEN, 2024; WHO, 2024). Estima-se que em 2025, 2,3 bilhões de adultos no mundo estejam acima do peso, com 700 milhões de indivíduos vivendo com obesidade (ABESO, 2024).

Essa condição tem se tornado uma das maiores preocupações de saúde pública global, uma vez que está fortemente associada a uma série de complicações metabólicas, incluindo diabetes tipo 2, hipertensão, dislipidemia e doenças cardiovasculares (BRAY et al., 2017; WHO, 2024), sendo a resistência à insulina um fator central no desenvolvimento desses distúrbios (BRAY et al., 2017; WHO, 2024).

Vários mecanismos estão associados ao desenvolvimento da obesidade, sendo eles relacionados a fatores genéticos, epigenéticos e ambientais (LIN E LI, 2021). Dentre os quais destaca-se o desequilíbrio entre a energia armazenada em excesso e a energia utilizada pelo corpo, resultando em um gasto energético insuficiente e acúmulo de gordura (CHANDRASEKARAN E WEISKIRCHEN, 2024).

O consumo de dietas hiperlipídicas está associado ao desenvolvimento da obesidade, promovendo a hipertrofia dos adipócitos e gerando diversos problemas de saúde (KADOWAKI et al., 2002). A ingestão elevada de gordura contribui para a ativação de vias metabólicas que favorecem o armazenamento de lipídios no tecido adiposo. Por exemplo, a baixa expressão da adenosina monofosfato quinase reduz a oxidação de ácidos graxos, enquanto a ativação da lipoproteína lipase (LPL), induzida pelo fator adiposo induzido pelo jejum (FIAF), favorece o acúmulo de triglicerídeos (SEID e ROSENBAUM, 2019). Além disso, a diminuição dos níveis do peptídeo 1 semelhante ao glucagon (GLP-1) está associada ao aumento da resistência à insulina e à redução da secreção de ácidos biliares pelo fígado. A diminuição do peptídeo YY contribui para a redução da saciedade, favorecendo o ganho de peso, a lipogênese é também intensificada pela regulação positiva das enzimas acetil-CoA carboxilase e ácidos graxos sintase (FAS) (SEID e ROSENBAUM, 2019).

O excesso de tecido adiposo, presente na obesidade, está associado a uma inflamação crônica de baixo grau, com aumento de citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α e a IL-1 β , e ao estresse oxidativo, caracterizado pelo aumento na produção de espécies reativas de oxigênio (ERO) (AL-DOMI et al., 2017; PETELIN et al., 2017). A redução da inflamação e do estresse oxidativo na obesidade tem sido investigada como um potencial abordagem para terapêutica em quadros de complicações metabólicas (KAWAI, AUTIERI e SCALIA, 2021). Nesse sentido, alimentos funcionais, ricos em compostos bioativos, têm sido propostos como auxiliares na redução da obesidade e no manejo das comorbidades relacionadas (GREEN, ARORA e PRAKASH, 2020; DREHER e FORD, 2020). Entre essas fontes alimentares, o café se destaca pela presença de compostos bioativos com efeitos benéficos (SIROTKIN E KOLESÁROVÁ, 2021).

O café verde, ou café cru, refere-se ao grão obtido após o beneficiamento, incluindo etapas como colheita, limpeza e secagem, antes da torrefação (ŞEMEN et al., 2017). Esse grão é rico em compostos bioativos, como ácido clorogênico, cafeína e trigonelina, cujas concentrações podem variar conforme a variedade do café, o estágio de maturação, as condições climáticas e a composição do solo (SANLIER et al., 2019; ŞEMEN et al., 2017). O café verde, devido às suas propriedades antioxidantes (JESZKA-SKOWRON et al., 2016) e anti-inflamatórias (BHANDARKAR et al., 2019a), oferece benefícios à saúde, favorecendo o metabolismo de glicose e lipídios (MENG et al., 2013) e proporcionando proteção hepática (HOSSEINABADI et al., 2020).

O café verde, ao contrário do café torrado, preserva melhor seus compostos bioativos, como o ácido clorogênico, que são parcialmente perdidos pelo calor durante o processo de torrefação (BOSSO et al., 2023). Em razão dessa preservação, o café verde oferece vantagens em comparação ao café torrado, justificando seu uso (BHANDARKAR et al., 2019; MUÑOZ et al., 2020).

Pesquisas sugerem múltiplos benefícios do uso café verde e seus compostos para a saúde (VERMA et al., 2024). Em estudos em modelo animal, a suplementação com extrato de café verde reduziu o peso corporal, melhorou os níveis de colesterol e a resistência à insulina, principalmente devido ao ácido clorogênico, que modula o metabolismo da glicose e reduz a inflamação e o estresse oxidativo (SELIEM et al., 2022). Em humanos, ensaios clínicos randomizados mostraram que o café verde pode reduzir o peso corporal, o índice de massa corporal e a glicemia de jejum, além de conferir benefícios

ao perfil lipídico, sugerindo ainda benefícios metabólicos e anti-inflamatórios (KHALILI-MOGHADAM et al., 2023).

Além disso, o café verde demonstrou um possível efeito hepatoprotetor em humanos, com redução nos níveis de aspartato aminotransferase em pacientes com doença hepática gordurosa não alcoólica e melhoria nos parâmetros do perfil lipídico (SHAHMOHAMMADI et al., 2017). No entanto, as evidências são inconsistentes, com alguns estudos não observando mudanças significativas, o que sugere a necessidade de mais pesquisas para esclarecer esses efeitos (DING AND ZHANG, 2021).

Nesse contexto, a intervenção dietética com extrato de café verde, é pautada na sua capacidade antioxidante proveniente de compostos bioativos como uma proposta para minimizar os efeitos metabólicos associados à obesidade, com o objetivo de fornecer novas perspectivas e estratégias de manejo da obesidade e redução do risco das doenças relacionadas.

2. HIPÓTESE

A suplementação com extrato aquoso de café verde (*Coffea canephora*) em modelo animal com obesidade induzida pela dieta, irá promover melhoria nos marcadores metabólicos e a saúde hepática. A administração do extrato de café verde de forma precoce irá prevenir o desenvolvimento da obesidade e a administração de forma tardia, ou seja, após a doença instalada, reduzirá os danos gerados pela obesidade.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o efeito do extrato de café verde sobre alterações metabólicas e morfologia dos tecidos hepáticos e adiposo, em ratos induzidos a obesidade.

3.2 Específicos

- Analisar o teor de cafeína, ácido clorogênico, trigonelina no extrato de café verde;
- Induzir a obesidade nos animais experimentais;
- Investigar o efeito do extrato de café verde sobre o consumo alimentar e medidas murinométricas dos animais experimentais;
- Analisar o efeito do extrato de café verde na tolerância á glicose, perfil lipídico, marcadores hepáticos, perfil oxidativo e inflamatório dos animais;
- Verificar a ação do extrato de café verde sobre a infiltração lipídica do tecido hepático em ratos;
- Avaliar o efeito do extrato de café verde sobre a morfologia do tecido adiposo, dos ratos.

4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

4.1 Obesidade e comorbidades associadas

Considerada um problema de saúde pública global, a obesidade tem acometido milhões de pessoas em todo o mundo ao longo dos anos (APRELINI et al. 2021). Dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) mostram que, em 2022, uma em cada oito pessoas no mundo viviam com obesidade, evidenciando um aumento preocupante da doença ao longo dos anos em todo o mundo, independentemente da faixa etária, com alta prevalência entre crianças, adolescentes e adultos (WHO, 2024).

Essa prevalência fica ainda mais alarmante com as projeções futuras da doença, que indicam que com a continuidade de crescimento de maneira exponencialmente bilhões de pessoas em todo o mundo estarão vivendo com obesidade até 2030 (WORLD OBESITY FEDERATION, 2024). Esses dados evidenciam a urgência de intervenções eficazes para combater a obesidade e as comorbidades associadas, uma vez que o aumento da prevalência de obesidade representa um desafio para a saúde pública e a economia global (LEMAMSHA et al., 2019; WORLD OBESITY FEDERATION, 2024).

Além de seu impacto sobre a saúde, associado ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas, a obesidade gera implicações socioeconômicas significativas. Os custos com tratamentos médicos e o aumento das despesas de saúde impõem desafios crescentes aos sistemas de saúde, que enfrentam uma elevada demanda de recursos para atender pacientes com comorbidades relacionadas à obesidade (NILSON et al., 2020; RIMES-DIAS et al., 2022).

A obesidade é definida pela OMS como uma doença multifatorial complexa, caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura corporal que representa um risco à saúde (WHO, 2024). Seu aparecimento é fortemente associado ao desequilíbrio energético, ou seja, aumento do consumo de alimentos altamente calóricos, particularmente advindos de alimentos ricos em açúcares e gordura, juntamente com um estilo de vida sedentário. Além disso, a obesidade pode ser influenciada por uma combinação de fatores genéticos, ambientais, comportamentais e socioeconômicos, que ampliam a dificuldade de controle da doença (BUSEBEE et al. 2023; JAISON et al. 2024; KIM et al. 2024).

A regulação energética é um processo dinâmico e complexo que envolve não apenas mecanismos sensoriais e motores entéricos, mas também complexas vias

hormonais e neurológicas, que interagem de forma interdependente, sendo essenciais para a manutenção da homeostase energética (BUSEBEE et al., 2023). A integração de sinais entre estruturas centrais, como o núcleo arqueado do hipotálamo, e órgãos periféricos é essencial para o controle do ciclo fome-saciedade, um componente chave na regulação da homeostase energética (BACARRI et al., 2024). Os neurônios envolvidos nesse processo são regulados por receptores que promovem efeitos orexígenos ou anorexígenos, resultando na produção de peptídeos considerados biomarcadores de distúrbios metabólicos frequentemente associados à obesidade (BACARRI et al., 2024).

O acúmulo de gordura, sintoma característico da obesidade, está vinculada a diversas alterações metabólicas, imunológicas e inflamatórias que promovem danos teciduais e comorbidades associadas à condição (BUSEBEE et al., 2023; WEIJIE, 2024). O tecido adiposo é formado por diversos tipos de células, incluindo adipócitos, células endoteliais e células imunológicas, as quais produzem citocinas pró- inflamatórias, como fator de necrose tumoral (TNF) e interleucinas (IL), que são essenciais para a manutenção e função do tecido (MAN et al., 2022).

Os adipócitos, principais células do tecido adiposo, desempenham funções essenciais na regulação da homeostase energética, armazenamento de lipídios e na comunicação intercelular por meio da secreção de adipocinas, que atuam não apenas no próprio tecido adiposo, mas também em outros órgãos, como o fígado, os músculos e o cérebro (SONG E KUNG, 2019). O tecido adiposo também desempenha papel fundamental na regulação energética por meio da secreção de hormônios como a leptina e a adiponectina (BUSEBEE et al., 2023).

A obesidade é uma doença que tem impacto em todos os sistemas orgânicos do indivíduo, sendo um fator de risco para aumento da mortalidade e desenvolvimento de diversas doenças como diabetes mellitus tipo 2 (DM2), hipertensão, dislipidemias, doenças cardiovasculares e alguns tipos de câncer (BUSEBEE et al., 2023). Essa condição impacta diretamente a saúde mental, qualidade e expectativa de vida (JAISON et al., 2024).

Estudos mostram que a obesidade, ao modificar o tecido adiposo, induz uma ativação pró-inflamatória das células imunes residentes nesse tecido (REYES-FARIAS et al., 2021; UNAMUNO et al., 2018). Esse processo resulta em um estado de inflamação crônica de baixo grau, caracterizado pela liberação de moléculas pró-inflamatórias, como TNF- α e IL-6, pelo tecido adiposo (UNAMUNO et al., 2018). Essas moléculas disseminam-se sistemicamente, atingindo em outros tecidos, onde comprometem o metabolismo e

favorecem o desenvolvimento de condições como resistência à insulina e dislipidemias (KANE E LYNCH, 2019; LE LAY et al., 2021, UNAMUNO et al., 2018).

As dislipidemias, que representam um grupo de alterações metabólicas caracterizados por modificação nos níveis de lipídios no sangue, incluindo colesterol total e suas frações, bem como os triglicerídeos. Essas condições exercem uma contribuição significativa no desenvolvimento e progresso de doenças cardíacas, sendo consideradas um dos principais fatores de risco para a aterosclerose, infarto e acidente vascular cerebral (BERBERICH E HEGELE, 2022).

A disfunção do tecido adiposo, bem como a resistência à insulina são os principais mecanismos que promovem a dislipidemia. A insulina atua suprimindo a lipólise no tecido adiposo ao inibir a atividade da lipase sensível a hormônios, o que limita a liberação de ácidos graxos livres na circulação (VEKIC et al., 2019). Além disso, a insulina promove a degradação da apolipoproteína B-100 (apoB-100) e reduz a secreção de lipoproteínas de densidade muito baixa (VLDL) pelo fígado (HAAS et al., 2013, SU et al., 2021).

Na circulação, a insulina estimula tanto a hidrólise de triglicerídeos das partículas de VLDL, mediada pela LPL, quanto a atividade da lipase hepática, promovendo, de forma geral, a degradação de lipoproteínas ricas em TG. No fígado, a insulina favorece a desfosforilação da 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA) redutase, ativando a enzima e aumentando a taxa de síntese de colesterol (SU et al., 2021, VEKIC et al., 2019). Na resistência à insulina, a depuração plasmática de lipoproteínas ricas em triglicerídeos (TG) é prejudicada, levando à hipertrigliceridemia. Nessa condição, a atividade da proteína de transferência de ésteres de colesterol (CETP) facilita a troca de TG por ésteres de colesterol entre as partículas lipoproteicas, resultando em partículas de LDL-c e HDL-c enriquecidas com TG, que se tornam menores e mais densas após a hidrólise por lipases plasmáticas (SU et al., 2021).

Conseqüentemente, compreender as causas, sintomas clínicos e métodos de tratamento das dislipidemias é crucial para prevenir e tratar de maneira eficaz essas condições, visando diminuir o impacto na gravidade e letalidade das doenças cardiovasculares (KAMSTRUP, 2021). As dislipidemias estão ligadas a fatores de risco que podem ser modificados, como dieta inadequada, falta de atividade física, excesso de peso, tabagismo e diabetes mellitus (BERBERICH E HEGELE, 2022; KAMSTRUP, 2021).

A resistência à insulina, assim como as dislipidemias, é um distúrbio metabólico intimamente ligado a fatores de risco modificáveis, como alimentação inadequada,

sedentarismo e sobrepeso. A resistência à insulina é um quadro fisiopatológico complexo, caracterizado pela disfunção na regulação de glicose, com diminuição da resposta dos tecidos-alvo, como músculo, fígado e tecido adiposo, à ação da insulina (SZUKIEWICZ, 2023; ZHAO et al., 2023). Entre os principais mecanismos que contribuem para essa condição estão a inflamação crônica de baixo grau, frequentemente associada à obesidade, onde o aumento significativo no acúmulo de lipídios induzido pela dieta leva à intensificação da secreção de citocinas pró-inflamatórias, tanto por adipócitos quanto por macrófagos, resultando na liberação de fatores de resposta pró-inflamatória como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucinas 1 β e 6 (AHMED et al., 2021; ZHAO et al., 2023).

Essas citocinas interferem na via de sinalização da insulina ao alterar o padrão de fosforilação do substrato do receptor de insulina (IRS). Normalmente, a fosforilação do IRS ocorre em resíduos de tirosina, o que é essencial para a ativação da fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) e, subsequentemente, da proteína quinase B (PKB ou AKT). Essa ativação permite a translocação do transportador de glicose GLUT4 para a membrana celular, promovendo a captação de glicose (AHMED et al., 2021, SZUKIEWICZ, 2023; ZHAO et al., 2023).

Entretanto, na obesidade, citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α e a IL-1 β promovem a fosforilação do IRS em resíduos de serina, um processo mediado por proteínas como p38 MAPK e JNK. Essa fosforilação em serina inibe a fosforilação em tirosina, prejudicando a sinalização da insulina (AHMED et al., 2021). Além disso, o TNF- α estimula a expressão da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1B), que desfosforila resíduos de tirosina no receptor de insulina e no IRS, e a IL-6 induz a expressão de proteínas supressoras da sinalização de citocinas, que bloqueiam fisicamente a interação do receptor de insulina com o IRS (AHMED et al., 2021, BLACK, 2022; PEI et al., 2022) (Figura 1).

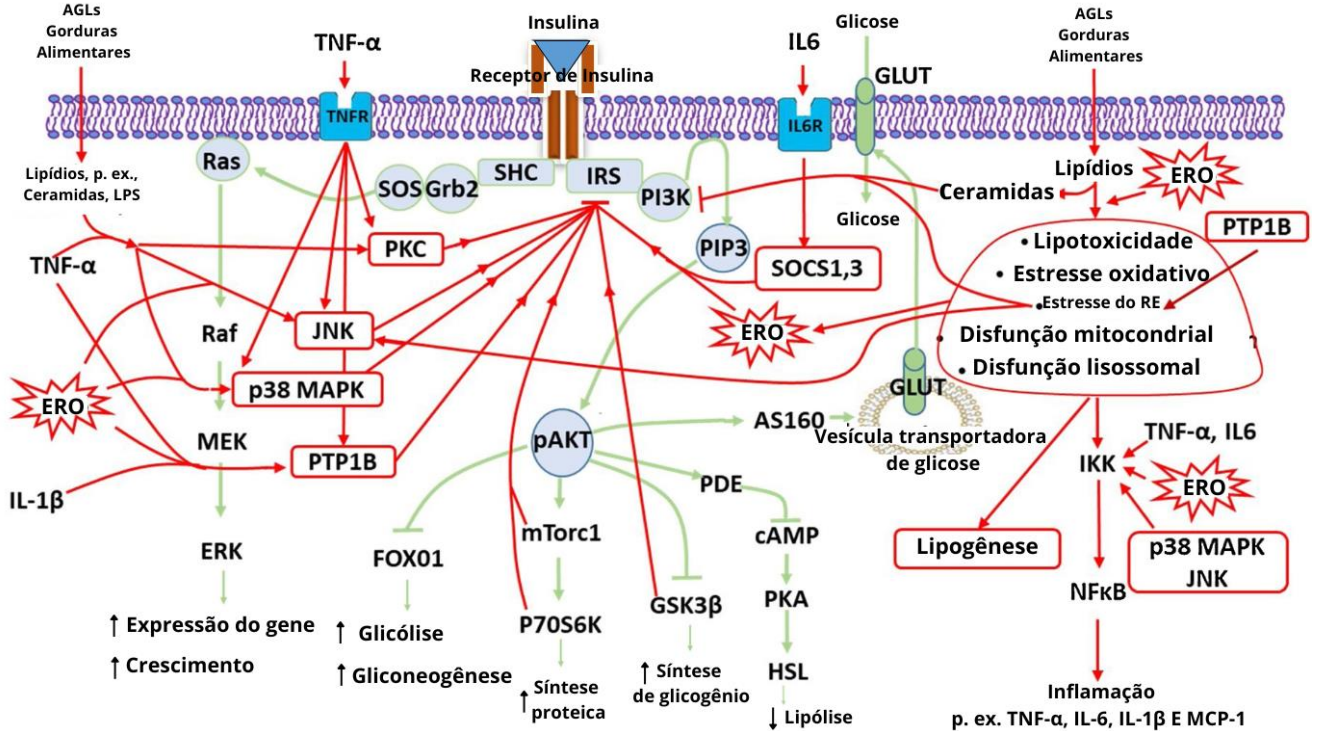


Figura 1 - Potenciais mecanismos celulares de resistência à insulina induzida pela obesidade. Adaptado de: AHMED et al., 2021. A cor vermelha indica o mecanismo molecular da resistência à insulina associada à obesidade. A cor verde claro indica a via de sinalização da insulina modificada.

Essas alterações cumulativas comprometem a sensibilidade à insulina em tecidos como fígado, músculo e tecido adiposo, contribuindo para a resistência à insulina (SONG E KUNG, 2019). A hiperinsulinemia compensatória que ocorre em resposta à resistência à insulina contribui ainda mais para a disfunção metabólica, auxiliando em um ciclo vicioso que pode levar ao desenvolvimento de diabetes tipo 2 e outras complicações metabólicas (SZUKIEWICZ, 2023).

Diabetes mellitus é uma doença crônica não transmissível caracterizada pela incapacidade do corpo de produzir ou utilizar adequadamente a insulina, um hormônio essencial para controlar os níveis de glicose no sangue (GU et al., 2024). Sendo uma condição global que afeta milhões de pessoas, com um crescimento alarmante nos últimos anos, conforme destacado pela OMS (WHO,2023).

Existem dois tipos principais de diabetes: o tipo 1, onde o sistema imunológico do próprio organismo ataca e destrói parcialmente ou totalmente as células beta pancreáticas, que são responsáveis por produzirem insulina (BRAVERMAN e THOMPSON, 2020; RAHMATI et al., 2022; SAEEDI et al., 2019). Nesse processo autoimune o corpo se torna incapaz de produzir insulina suficiente para as necessidades corporais e como resultado o

indivíduo passa a ser insulínodépendente, dependendo de uma fonte exógena diária para regular seus níveis de glicose no sangue e prevenir complicações a longo prazo (BRAWERMAN E THOMPSON, 2020; RAHMATI et al., 2022).

Contudo, a diabetes do tipo 2, o tipo mais comum da doença, geralmente se desenvolve ao longo dos anos de vida do indivíduo, o corpo se torna resistente à insulina ou produz insulina em quantidades insuficientes para atender o organismo, sendo essa fortemente associada ao estilo de vida do indivíduo (LAAKSO, 2019; SAEEDI et al., 2019).

Em ambos os tipos a doença pode desencadear a complicações graves se não forem tratados adequadamente, como doenças cardiovasculares, doença hepática, problemas renais e problemas de visuais (TOMIC et al., 2022). O tratamento varia conforme o tipo, gravidade, idade do indivíduo, complicações relacionadas, mas similarmente as outras comorbidade relacionadas à obesidade inclui: mudanças no estilo de vida com perda de peso, hábitos mais saudáveis de alimentação e atividade física, além de monitoramento regular dos níveis de glicose sanguínea e, em muitos casos, medicamentos para controlar a glicemia (KANALEY et al., 2022; SANZ-CÁNOVAS et al., 2022).

A diabetes mellitus tipo 2 e obesidade, podem contribuir ainda para o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), especialmente quando associada à resistência à insulina. Pois a resistência à insulina contribui para o acúmulo de gordura no fígado, uma vez que altera o metabolismo de ácidos graxos livres, promovendo a lipotoxicidade, glicotoxicidade, inflamação e até mesmo fibrose (MARUŠIĆ et al., 2021; TANASE et al., 2020).

A doença hepática não alcoólica, pode se apresentar de duas formas. A menos severa, conhecida como esteatose hepática ou DHGNA, ocorre quando há um acúmulo anormal de gordura nos hepatócitos, as células do fígado, na ausência de consumo excessivo de álcool (DUSEJA et al., 2023; MARUŠIĆ et al., 2021). Esta condição pode ser causada por fatores como dieta inadequada, obesidade, resistência à insulina, dislipidemias, diabetes tipo 2 e condições genéticas (TANASE et al., 2020). A esteato-hepatite não alcoólica (NASH) representa a forma mais grave da DHGNA, caracterizando-se pela presença de esteatose associada à inflamação e à fibrose hepática. Essa condição apresenta um risco aumentado de progressão para complicações mais severas, como cirrose ou carcinoma hepatocelular (DUSEJA et al., 2023; LUO E LIN, 2021).

A abordagem principal no tratamento da esteatose hepática concentra-se em mudanças no estilo de vida. Isso inclui uma dieta balanceada, com restrição de calorias e

saudável, limitando o consumo de gordura saturada e redução no consumo de açúcares. Além disso, a redução do peso corporal combinado com exercícios físicos, é fundamental. A atividade física não só ajuda na perda de peso, mas também melhora a sensibilidade à insulina, o que pode reduzir o acúmulo de gordura no fígado. Além das mudanças no estilo de vida, em casos específicos, podem ser considerados medicamentos para tratar a esteatose hepática, embora ainda seja limitada a variedade de fármacos com consenso de recomendação (DUSEJA et al., 2023; HOSSEINABADI et al., 2020).

O uso de alimentos com componentes bioativos, principalmente fitoquímicos, também têm sido estudados como alternativa no tratamento para pacientes com obesidade e comorbidades associadas, incluindo a DHGNA, tal fato se dá pelas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antilipidêmicas e antiadipogênicas destes alimentos (HOSSEINABADI et al., 2020).

4.2 Café verde e seus compostos

O café é uma das bebidas mais consumidas em todo o mundo, sendo apreciada pelo seu sabor e pelos efeitos que proporciona ao organismo, tanto em termos de estímulo quanto pelos benefícios à saúde, especialmente na redução de risco de doenças crônicas não transmissíveis (GÖKCEN E ŞANLIER, 2019, KOSITAMONGKOL et al., 2021). Tais efeitos são atribuídos principalmente aos compostos bioativos presentes em sua composição, que atuam como agente antiobesidade (CARO-GÓMEZ et al., 2019; SELIEM et al., 2022), antidiabético (CARO-GÓMEZ et al., 2019; GÖKCEN AND ŞANLIER, 2019), hepatoprotetor (DING AND ZHANG, 2021; YU et al., 2024), antioxidante e anti-inflamatório (GÖKCEN AND ŞANLIER, 2019, RAMOS et al., 2021).

O café verde, por sua vez, refere-se aos grãos de café em sua forma crua, ou seja, beneficiados antes do processo de torrefação. Nessa condição, os grãos preservam maior quantidade de compostos bioativos, que são amplamente valorizados pelos seus potenciais benefícios à saúde (SANLIER et al., 2019; ŞEMEN et al., 2017).

Durante o processo de torra, uma parte significativa dos compostos presentes no grão verde, como os ácidos clorogênicos, é degradada devido às altas temperaturas. Isso resulta em menores concentrações desses compostos no café torrado, que, embora seja a forma mais consumida, apresenta quantidade fenólica e capacidade antioxidante relativamente reduzidas (ŞEMEN et al., 2017).

A composição química do café verde pode variar significativamente dependendo de fatores genéticos, como a espécie de *Coffea* utilizada. Por exemplo, a *Coffea canephora*, tende a ter níveis mais altos de ácido clorogênico em comparação com a *Coffea arabica* (TABELA 1). Fatores ambientais, como altitude, clima e práticas agrícolas, também influenciam a concentração dos compostos bioativos presentes nos grãos de café verde (HALL et al., 2022).

Tabela 1 - Composição de ácido clorogênico, cafeína e trigonelina no café verde e torrado nas espécies *C. canephora* e *C. arabica* .

Variedade	Ácido clorogênico (g/100g)	Cafeína (g/100g)	Trigonelina (g/100g)	Autor
Café Verde				
<i>C. canephora</i>	7,09	-	-	(GUTIÉRREZ ORTIZ et al., 2019)
	7,16	1,43	4,13	(LEMOS et al., 2020)
	1,55	1,76	-	(WONGSA et al., 2019)
<i>C. arabica</i>	3,13	0,97	0,65	(ACIDRI et al., 2020)
	4,22	1,19	0,91	(SUALEH; TOLESSA; MOHAMMED, 2020)
Café torrado				
<i>C. canephora</i>	0,56 a 1,04	3,80 a 3,98	-	(CORSO; VIGNOLI; BENASSI, 2016)
	1,55	1,76	-	(WONGSA et al., 2019)
<i>C. arabica</i>	1,00	1,30	0,85	(ACIDRI et al., 2020)
	1,94	1,16	0,84	(SUALEH; TOLESSA; MOHAMMED, 2020)

Dentre os principais componentes presentes no café verde, os mais destacados e estudados são o ácido clorogênico e a cafeína, porém outros compostos como trigonelina, ácido cafeico e diterpenos como kahweol e cafestol também desempenham funções na qualidade e características químicas do café (HALL et al., 2022).

O café é rico em polifenóis, com destaque para os ácidos clorogênicos, conhecidos por suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (NGUYEN et al., 2024). O ácido

cafeoilquínico, principal polifenol do café, é um éster formado pelo ácido cafeico e o ácido quínico, sendo amplamente referido como ácido clorogênico. Esse termo, no entanto, abrange todos os ésteres hidroxicinâmicos do ácido quínico, incluindo os ácidos cafeoil-, feruloil-, dicafeoil- e cumaroilquínico, além de suas diversas formas isoméricas do ácido clorogênico (NGUYEN et al., 2024; TAJIK et al., 2017). Diferentes tipos de café possuem variações na composições de ácido clorogênico, sendo o ácido 5-cafeoilquínico (5-CQA) o isômero mais abundante nos grãos de café verde e em outras fontes vegetais (5-CQA) (TAJIK et al., 2017).

Estes ácidos atuam em diversas funções no organismo, auxiliando na neutralização de radicais livres, na redução da peroxidação lipídica e na inibição de citocinas pró-inflamatórias (MACHADO et al., 2023). Além disso, estudos sugerem que os ácidos clorogênicos podem influenciar alterações metabólicas, modulando o metabolismo de glicose, lipídeos, função cardiovasculares e hepáticas, o que pode auxiliar na síndrome metabólica e doenças relacionadas (BHANDARKAR et al., 2019; BHANDARKAR et al., 2019a).

Esses efeitos na manutenção da homeostase metabólica da glicose e dos lipídios pelo ácido clorogênico estão relacionados à ativação de vias metabólicas, como a proteína quinase ativada por AMP (AMPK), cinases reguladas por sinal extracelular (ERK), e à inibição de enzimas lipídicas, incluindo lipase pancreática e HMG-CoA redutase (NGUYEN et al., 2024; YAN et al., 2020). Além disso, o ácido clorogênico influencia o metabolismo do colesterol, modulando a homeostase de ácidos biliares e bilirrubina por meio de receptores como o receptor farnesóide X e receptor ativado por proliferador de peroxissoma gama (PPAR γ) (NGUYEN et al., 2024; YE et al., 2022).

A cafeína é o componente mais conhecido do café verde, sendo um alcaloide amplamente estudado por seus efeitos ao sistema nervoso, resultando em maior estado de alerta, excitação, energia e melhoria de humor. No metabolismo, a cafeína é rapidamente absorvida no trato gastrointestinal e metabolizada no fígado pelas enzimas do citocromo P450 (BARREA et al., 2023; NUGRAHINI et al., 2020).

Entre os efeitos fisiológicos da cafeína, inclui-se o bloqueio dos receptores de adenosina, especialmente no sistema nervoso central, o que reduz a sensação de sonolência (BARREA et al., 2023). Além disso, apresenta efeitos antioxidantes que protegem o organismo contra danos celulares, diminuindo os níveis de biomarcadores de estresse oxidativo. Ademais, eleva a concentração e a atividade de enzimas antioxidantes

em vários órgãos (SAIMAITI et al., 2023). Com isso, contribui para a redução do risco de condições como doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes mellitus, doenças neurodegenerativas e hepáticas, por meio de suas propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (KACZMARCZYK-SEDLAK, et al., 2019).

4.3 Café verde e efeitos na saúde

A complexa interação dos compostos bioativos do café verde, como o ácido clorogênico, confere um impacto positivo em diversas áreas da saúde, incluindo condições como obesidade, diabetes e dislipidemias (VERMA et al., 2024).

Contudo, grande parte das pesquisas concentra-se em modelos *in vitro* ou animais, utilizando compostos bioativos isolados presentes no café verde, o que limita a extrapolação dos resultados para humanos. Ensaio clínico que avalie os efeitos do extrato integral de café verde em populações humanas ainda são escassos, apesar de sua importância para validar os potenciais benefícios observados em estudos preliminares. A Tabela 2 apresenta os resultados de estudos sobre o efeito do extrato de café verde e seus compostos bioativos majoritários em diferentes condições de saúde.

Tabela 2 – Efeito do café verde e dos compostos majoritários sobre a saúde

Composto	Dosagem	Tempo	Modelo Experimental	Principais resultados	Autor
Excesso de peso					
ACG do extrato de café verde	220 mg/Kg (3x/semana)	14 semanas	Camundongos ApoE -/- (dieta HF)	Controle do ganho de peso corporal e redução da adiposidade.	(CARO-GÓMEZ et al., 2019)
Trigonelina	50 mg/kg	9 semanas	Camundongos C57Bl/6 (dieta HF)	Controle do ganho de peso corporal e redução da adiposidade; redução da inflamação no tecido adiposo.	(COSTA et al., 2020)
Extrato de café verde	400 mg (2x/dia)	64 dias	Homens e mulheres (18 a 70 anos) diagnosticados com SM e IMC > 25Kg/m ²	Redução da CC e do apetite.	(ROSHAN et al., 2018)
Extrato de café verde	200 mg (2x/dia)	8 semanas	Homens e mulheres (20 a 60 anos) com diagnóstico de DHGNA e IMC 25- 35Kg/m ²	Redução de peso médio, do IMC e da CC; redução da leptina.	(HOSSEINABADI et al., 2020)

Tabela 2 – Continua

Diabetes mellitus					
ACG do extrato de café verde	220 mg/Kg (3x/semana)	14 semanas	Camundongos ApoE -/- (dieta HF)	Redução da glicose de jejum e melhora da sensibilidade à insulina.	(CARO-GÓMEZ et al., 2019)
Trigonelina	50 mg/kg	9 semanas	Camundongos C57Bl/6 (dieta HF)	Redução na glicemia e melhora da sensibilidade à insulina.	(COSTA et al., 2020)
Extrato de café verde	50 e 100 mg/Kg	28 dias	Ratos Albinos Diabéticos (dieta HF e STZ - 35 mg/kg)	Redução dos níveis de glicose e aumento da sensibilidade à insulina	(ABDEL-MOHSEN et al., 2023)
Extrato de café verde	400 mg (2x/dia)	64 dias	Homens e mulheres diagnosticados com SM e IMC>25Kg/m ²	Redução da glicose e da insulina de jejum; redução de resistência à insulina.	(ROSHAN et al., 2018)
Doenças cardiovasculares					
Extrato de café verde	50 e 100 mg/Kg	28 dias	Ratos Albinos Diabéticos (dieta HF e STZ -35 mg/kg)	Redução de colesterol total, triglicerídios e LDL; aumento de HDL.	(ABDEL-MOHSEN et al., 2023)
Ácido clorogênico	100 mM	2 horas	Células HUVECs incubadas com LDLox (150 µg/mL)	Redução do estresse oxidativo; atividade antiapoptótica; aumento da massa e potencial de membrana mitocondrial.	(TSAI et al., 2018)

Tabela 2 – Continua

Doenças hepáticas					
ACG do extrato de café verde	220 mg/Kg (3x/semana)	14 semanas	Camundongos ApoE -/- (dieta HF)	Melhora da DHGNA e da fibrose hepática.	(CARO-GÓMEZ et al., 2019)
Trigonelina	50 mg/kg	9 semanas	Camundongos C57Bl/6 (dieta HF)	Redução do dano hepático e do processo inflamatório e oxidativo	(COSTA et al., 2020)
Extrato de café verde	100 mg/Kg	28 dias	Ratos Albinos Diabéticos (dieta HF e STZ - 35 mg/kg)	Redução dos níveis de ALT e AST; melhora do perfil inflamatório e oxidativo; melhora histopatológica.	(ABDEL-MOHSEN et al., 2023)

ACG: Ácido clorogênico; ALT: alanina aminotransferase; AST: aspartato aminotransferase; CC: circunferência da cintura; DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica; HDL: lipoproteína de alta densidade; HF: dieta hipercalórico rica em gordura(dieta high - fat); IMC: índice de massa corporal; LDL: lipoproteína de baixa densidade; LDLox - lipoproteína de baixa densidade oxidada; SM: síndrome metabólica; STZ: estreptozotocina.

Na obesidade, o consumo de café verde pode ser benéfico para melhorar parâmetros relacionados à doença por meio de diversos mecanismos biológicos. A ingestão de café verde pode contribuir para a perda de peso corporal ao reduzir a absorção de gordura, aumentar a queima de gordura para obtenção de energia e inibir enzimas relacionadas à síntese e ao armazenamento de gorduras no corpo (ASBAGHI et al., 2020; BONETTI et al., 2022). Esses efeitos ocorrem por meio da estimulação da oxidação de ácidos graxos e da inibição da lipogênese e do acúmulo de gordura corporal, mediante a regulação negativa de genes relacionados à adipogênese como: PPAR γ , proteína de ligação ao CCAAT/enhancer α (C/EBP α), ácido graxo sintase, leptina e cluster de diferenciação 36 (ASBAGHI et al., 2020).

Ao examinar os efeitos do extrato de café verde em ratos com obesidade induzida, evidenciaram-se melhorias significativas nos parâmetros metabólicos. A suplementação com 200 mg de extrato de café verde por quilograma de peso corporal, administrada oralmente por 8 semanas após a indução da obesidade, resultou em redução do peso corporal e dos órgãos, melhora nos níveis de colesterol e insulina, aumento da adiponectina e redução da resistência à insulina (SELIEM et al., 2022).

Estudos clínicos e experimentais corroboram que o café verde poderia auxiliar na redução de peso corporal, no índice de massa corporal, bem como na absorção e acúmulo de gordura no organismo (PIMPLEY et al., 2023; SELIEM et al., 2022; VERMA et al., 2024).

O café verde melhora a sensibilidade à insulina e reduz os níveis de lipídios no sangue, o que é crucial para o gerenciamento da obesidade e das condições associadas (KHALILI-MOGHADAM et al. 2023; NIKPAYAM et al., 2019; SELIEM et al., 2022). Contudo, é importante conduzir maiores investigações para elucidar possíveis inconsistências e informações conflitantes (ASBAGHI et al., 2020).

Pesquisas destinadas a avaliar os efeitos da suplementação com café verde na obesidade revelaram não apenas uma redução significativa em parâmetros relacionados à obesidade, como peso corporal e marcadores bioquímicos, mas também uma redução na resistência à insulina, diminuição dos níveis de insulina e do Índice de HOMA (FASIHI et al., 2020; SELIEM et al., 2022). Em um ensaio clínico randomizado, duplo-cego e controlado que investigou os efeitos da suplementação com extrato aquoso de café verde (400 mg, duas vezes ao dia, por 10 semanas) em pacientes com diabetes tipo 2 e sobrepeso/obesidade, foi possível observar uma

redução significativa no peso corporal, índice de massa corporal (IMC) e glicemia de jejum no grupo suplementado com café verde (KHALILI-MOGHADAM et al., 2023).

Acredita-se que o efeito benéfico do café verde sobre o metabolismo da glicose deve-se aos seus compostos bioativos, com destaque para o ácido clorogênico (KHALILI-MOGHADAM et al., 2023). Há indícios de que o ácido clorogênico pode inibir a atividade da enzima glicose-6-fosfatase, a qual desempenha um papel crucial na regulação dos níveis de glicose no sangue, ao limitar a síntese de glicose por meio dos processos de gliconeogênese e glicogenólise (ONG et al., 2012; SELIEM et al., 2022). Ademais, o consumo de café verde está associado à redução dos níveis de glicose sérica, efeito atribuído à ativação da AMPK, a qual promove a translocação do GLUT4 para a membrana plasmática, facilitando o transporte de glicose para o interior das células e sua eliminação periférica (SELIEM et al., 2022).

Além dos ácidos clorogênicos, a cafeína também desempenha um papel significativo na saúde metabólica. A cafeína tem sido associada a efeitos positivos nos níveis de insulina e na resistência à insulina, impactando diretamente no DM, o que pode ajudar a reduzir as complicações e a mortalidade dos pacientes (SAIMAITI et al., 2023). Em suma, os compostos presentes no café verde atuam através de múltiplos mecanismos para ajudar a controlar os níveis de glicose no sangue e melhorar a sensibilidade à insulina (KHALILI-MOGHADAM et al., 2023; ONG et al., 2012; SELIEM et al., 2022).

Além dos efeitos benéficos na obesidade e diabetes, o café verde também apresenta propriedades que podem influenciar positivamente as dislipidemias (BERBERICH E HEGELE, 2022). Em animais foi demonstrado que a ingestão de extrato de café verde está ligada a uma redução considerável nos níveis de colesterol total, triglicerídeos e lipoproteína de baixa densidade, promovendo um perfil lipídico mais saudável (SELIEM et al., 2022).

No estudo de Khalili-Moghadam et al. (2023), observaram-se mudanças significativas no perfil lipídico de humanos suplementados com cápsulas contendo 400 mg de extrato de café verde, duas vezes ao dia, durante 10 semanas. Houve um aumento nos níveis de HDL-c e diminuição nos triglicerídeos, embora os níveis de colesterol total e LDL-c tenham permanecido inalterados. Além disso, os níveis de proteína C-reativa reduziram-se, sugerindo benefícios metabólicos e anti-inflamatórios (KHALILI-MOGHADAM et al., 2023).

Em concordância, outros estudos demonstraram que a suplementação de café verde reduziu o colesterol total, LDL-c e triglicerídeos e aumentou a capacidade antioxidante total, indicando potenciais benefícios na redução do risco cardiovascular e modulação do perfil lipídico (MARTÍNEZ-LÓPEZ et al., 2019; SALAMAT et al., 2019). Tal modulação pode ser explicada pela ação do ácido clorogênico, que estima-se exercer efeitos hipolipemiantes ao reduzir a absorção de lipídios e a formação de micelas de colesterol, através da inibição da atividade da lipase pancreática (ASBAGHI et al., 2020a; KHALILI-MOGHADAM et al., 2023).

Condições metabólicas como obesidade, diabetes e dislipidemias estão intimamente ligadas às doenças hepáticas, pois as alterações no metabolismo da glicose e dos lipídios frequentemente contribuem para o desenvolvimento e a progressão dessas disfunções (TANASE et al., 2020). As doenças hepáticas, incluindo esteatose hepática, hepatite, fibrose e cirrose, comprometem as funções essenciais realizadas pelo fígado (CHEN et al., 2024; TANASE et al., 2020). Alterações hepáticas, como inflamação, acúmulo de gordura e fibrose, podem resultar em condições graves e progressivas, comprometendo significativamente a saúde do órgão (DARE et al., 2024; GUO et al., 2022).

Os efeitos associados ao café verde podem contribuir para a redução do risco de desenvolvimento de esteatose hepática e à inibição da progressão para esteato-hepatite com fibrose, bem como auxiliar na modulação de fatores metabólicos, promovendo a saúde hepática e mitigando os riscos associados (HOSSEINABADI et al., 2020; TANASE et al., 2020).

Para avaliar a saúde hepática, frequentemente se utilizam biomarcadores enzimáticos específicos, como a aspartato aminotransferase (AST) e a alanina aminotransferase (ALT) (ASBAGHI et al., 2021). Em condições normais, os níveis de AST e ALT no sangue são baixos, mas níveis elevados estão comumente associados a doenças hepáticas crônicas (DING E ZHANG, 2021). A aspartato aminotransferase (AST), encontrada também em outros tecidos, é menos específica para a avaliação de lesão hepática do que a alanina aminotransferase (ALT), que é predominantemente expressa no fígado. No entanto, ambos são utilizados como marcadores laboratoriais para a avaliação de lesão hepatocelular e são frequentemente empregados no diagnóstico e monitoramento de doenças hepáticas (LIU et al., 2024).

Estudos sugerem que a ingestão de café, incluindo o café verde pode reduzir os níveis de ALT e AST, sugerindo um efeito hepatoprotetor. A utilização do extrato de café verde com aveia mostrou efeitos positivos na diminuição das enzimas hepáticas AST e ALT, além de reduzir os níveis de colesterol total, LDL-c e triglicerídeos (MATEOS et al., 2022). Outro estudo, ao analisar indivíduos com excesso de peso e DHGNA, a ingestão de 1000 mg extrato de café verde por dia, durante 8 semanas, resultou em melhorias significativas nos níveis de aspartato aminotransferase (AST), triglicerídeos, colesterol total e ácidos graxos livres em comparação ao grupo controle. No entanto, não foram observadas diferenças relevantes em relação ao peso corporal, HDL-c e LDL-c, assim como no grau de esteatose e demais enzimas hepáticas analisadas (SHAHMOHAMMADI et al., 2017).

Apesar de vários estudos, ainda não há consenso sobre a relação entre o consumo de café e os níveis de ALT e AST, e consequentemente saúde hepática (DING E ZHANG, 2021). Portanto, o efeito da suplementação com café verde na função hepática não é claro (ASBAGHI et al., 2021). Os mecanismos pelos quais o café verde influencia a saúde hepática envolvem diversos processos metabólicos. Já discutidos anteriormente, os efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e a influência no metabolismo lipídico e glicose do café verde são fundamentais para a proteção hepática (ASBAGHI et al., 202; HOSSEINABADI et al., 2020; XUE et al., 2023).

Adicionalmente, o café verde oferece benefícios sobre a fibrose hepática. O ácido clorogênico, presente no café verde, tem mostrado potencial na atenuação da fibrose hepática através da redução da inflamação, supressão da lesão oxidativa hepática e inibição da ativação das células estelares hepáticas, que são responsáveis pela produção da matriz extracelular no fígado e desempenham um papel importante na progressão da fibrose hepática (MIAO et al., 2022). Assim, sugere-se que alterações no estilo de vida, incluindo o consumo de compostos bioativos, possam auxiliar no manejo das doenças hepáticas (HOSSEINABADI et al., 2020).

De maneira geral, o café verde através dos seus compostos, também possui notáveis propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias que são particularmente importantes para a promoção da saúde e prevenção de doenças. Os compostos bioativos, especialmente os ácidos clorogênicos e cafeína, desempenham um papel crucial na proteção contra a inflamação e o estresse oxidativo (MASEK et al., 2020; NGUYEN et al., 2024; SAIMAITI et al., 2023).

O ácido clorogênico (ACG), presente no café verde, exerce efeitos diversos na atividade anti-inflamatórias e antioxidantes (SALAMAT et al., 2019). Atuando na redução da atividade de vias de sinalização inflamatórias, como o fator nuclear kappa B (NF- κ B), a cinase N-terminal de junção (JNK), as cinases reguladas por sinal extracelular (ERK) e a proteína quinase ativada por mitógeno p38 (p 38 MAPK) (NGUYEN et al., 2024). Além disso, o ACG inibe a produção de fatores inflamatórios como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a interleucina 1 beta (IL-1 β) e a interleucina 6 (IL-6), diminui a expressão da ciclooxigenase-2 (COX-2) e a liberação de prostaglandina E2 (PGE2) em células expostas a lipopolissacarídeo (LPS), além de controlar a liberação de citocinas e quimiocinas, ajudando a prevenir patologias (NGUYEN et al., 2024; NIKPAYAM et al., 2018).

Além de estar ligado a ativação de vias relacionadas à eliminação de radicais livres, protegendo os tecidos contra danos oxidativos e apoptose. Os ácidos clorogênicos demonstraram melhorar a capacidade antioxidante do plasma, evidenciada pela redução dos níveis de malondialdeído e de lipoproteína de baixa densidade oxidada (ox-LDL) (NIKPAYAM et al., 2018). Além disso, o ACG pode aumentar a capacidade antioxidante total do plasma, contribuindo de maneira significativa para a defesa celular contra o estresse oxidativo (NIKPAYAM et al., 2018; SALAMAT et al., 2019).

Em síntese, os compostos bioativos do café verde, especialmente os ácidos clorogênicos, desempenham um papel fundamental na promoção da saúde e na prevenção de diversas doenças crônicas, evidenciando-se como aliados valiosos no combate à inflamação, ao estresse oxidativo e às disfunções metabólicas. No entanto, embora os resultados sejam promissores, os estudos realizados em humanos ainda são limitados, ressaltando a necessidade de pesquisas adicionais para consolidar essas evidências e ampliar o entendimento sobre seus benefícios clínicos.

5. MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado nos Laboratórios dos Departamentos de Medicina Veterinária, Engenharia de Alimentos e de Farmácia e Nutrição da Universidade do Espírito Santo (UFES), campus Alegre. As amostras de café verde do tipo Conilon (*Coffea canephora*) foram adquiridas de produtores da propriedade Fazenda Pessin (20°20'17.8"S 41°24'04.9"W), no município de Muniz Freire – ES, referente à safra de 2021 - 2022. Conforme informações dos produtores, o café foi colhido manualmente e seco de forma indireta, ou seja, sem contato direto com a fonte de calor, a uma temperatura média de 180°C por aproximadamente 50 horas. Durante o processo, o ar quente circula ao redor dos grãos, removendo a umidade de maneira controlada.

5.1. Extrato aquoso de café verde

Os grãos de café verdes foram moídos em moinho de facas tipo Willy SL-31 (Solab, Brasil) e em seguida peneirados (14 mesh) para obtenção de tamanho de partículas inferior a 1,18 mm, armazenados em embalagens a vácuo e ao abrigo da luz até elaboração dos extratos. O extrato aquoso foi obtido diariamente utilizando um sistema de filtração simples com filtro de papel, onde era filtrado 1 g de pó para cada 1,6 mL de água a 90°C (SILVA et al., 2022).

5.2 Determinação dos teores de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina

A determinação dos teores de cafeína, ácido clorogênico e trigonelina no extrato de café verde foi obtida utilizando-se um sistema cromatográfico UPLC Acquity (Waters Corporation, EUA), equipado com sistema de bomba quaternária e detector de arranjo de diodos (DAD). As amostras e a fase móvel foram filtradas em membranas de 0,22 µm antes da análise. Injetou-se 20 µL das amostras de extrato aquoso (diluído na proporção 1:5 v/v) em uma coluna de fase reversa C18 (21 x 50 mm, 1,7 µm, Waters Acquity), mantida a 40°C. A fase móvel utilizada foi composta por metanol, água e ácido acético na proporção de 20:80:1 (v/v), com fluxo de 0,1 ml/min, eluição isocrática e com tempo de corrida de 8 minutos. A identificação dos compostos foi feita a 272 nm, comparando-se padrões comerciais com os compostos de

interesse, e a quantificação feita com concentrações conhecidas dos compostos. O apêndice A apresenta as curvas padrão dos compostos analisados.

5.3 Estudo em modelo animal

Foram utilizados 48 ratos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) (aproximadamente 21 dias de idade), provenientes do Biotério Central da Universidade Federal do Espírito Santo. Os animais foram alojados em gaiolas individuais de aço inoxidável, com controle da iluminação (ciclo de luz claro/escuro de 12 horas), temperatura de 22 °C (± 1 °C) e receberam dieta e água *ad libitum*. Os animais permaneceram em ambientação por 7 dias.

Foi realizado durante todo o experimento o controle diário do consumo alimentar e avaliação semanal do peso corporal. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Espírito Santo, campus Alegre, sob o número 001/2023 (Anexo A).

5.4 Delineamento experimental

Foram testados os efeitos do extrato de café verde, de forma preventiva e de tratamento, sobre as alterações metabólicas e morfológicas relacionadas à obesidade. Para isso após o período de ambientação os animais foram divididos em 4 grupos experimentais (n= 12/grupo): grupo CT (controle negativo, dieta controle comercial, sem suplementação de extrato de café verde), HF (controle positivo, dieta hipercalórica rica em gordura para indução da obesidade, sem adição do extrato de café verde), HFP (grupo experimental de prevenção, dieta hipercalórica rica em gordura para indução da obesidade, com adição do extrato de café verde desde a 1ª semana de tratamento) e HFT (grupo experimental de tratamento, dieta hipercalórica rica em gordura para indução da obesidade, com adição do extrato de café verde a partir da 8ª semana).

Os animais receberam água e dieta *ad libitum* e a indução da obesidade foi realizada durante 8 semanas, por meio da administração de uma dieta hipercalórica e hiperlipídica, ou seja, rica em gordura (HF). As concentrações de cafeína e de ácido clorogênico analisados no extrato de café foram utilizadas para determinar o

percentual de suplementação da dieta dos animais. Os animais foram monitorados diariamente em relação à ingestão alimentar e semanalmente, para avaliação do peso corporal, tais registros foram utilizados para o cálculo da média de ingestão total e ingestão dos compostos majoritários do extrato de café verde, média de ganho de peso e coeficiente de eficiência alimentar.

Na 15ª semana foi realizada a análise glicêmica, pelo teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGip). Na 16ª semana, ou seja, ao final do experimento, foi aferido e registrado o comprimento nasoanal (CNA) dos animais. Esses dados foram utilizados para o cálculo do Índice de Lee, um parâmetro que relaciona o peso corporal e o comprimento nasoanal, sendo o índice foi calculado por meio da fórmula: $[3\sqrt{\text{Peso corporal (g)}/\text{CNA (cm)}}]$. Após os animais foram submetidos a jejum de 12 horas e anestesiados pela administração intraperitoneal de uma dose de 0,4 mL/100 g de massa corporal de uma combinação de cetamina, xilazina e soro fisiológico, na proporção de 1,5:1:1,5 via intraperitoneal. Após, foi realizada a eutanásia por punção cardíaca e o sangue coletado foi centrifugado a 3000g por 10 minutos a 4°C (MPW Med. Instruments, modelo MPW-351, Warszawa, Poland) para obtenção do soro. O soro foi transferido para microtubos identificados e armazenado a -80° C até o momento da análise dos marcadores metabólicos. Tecido adiposo epididimal e fígado foram removidos, lavados com soro fisiológico e pesados para análises histológicas e para observação de alterações inflamatórias e oxidativas. Uma parte dos tecidos foi imediatamente fixada, enquanto outra parte foi armazenada a -80°C para posteriores análises. A partir do peso do fígado, também foi calculado o índice hepatossomático (IHS), calculado utilizando a fórmula: $(\text{peso do fígado (g)}/\text{peso corporal total do animal (g)}) \times 100$. O período experimental total foi de 16 semanas (Figura 3).

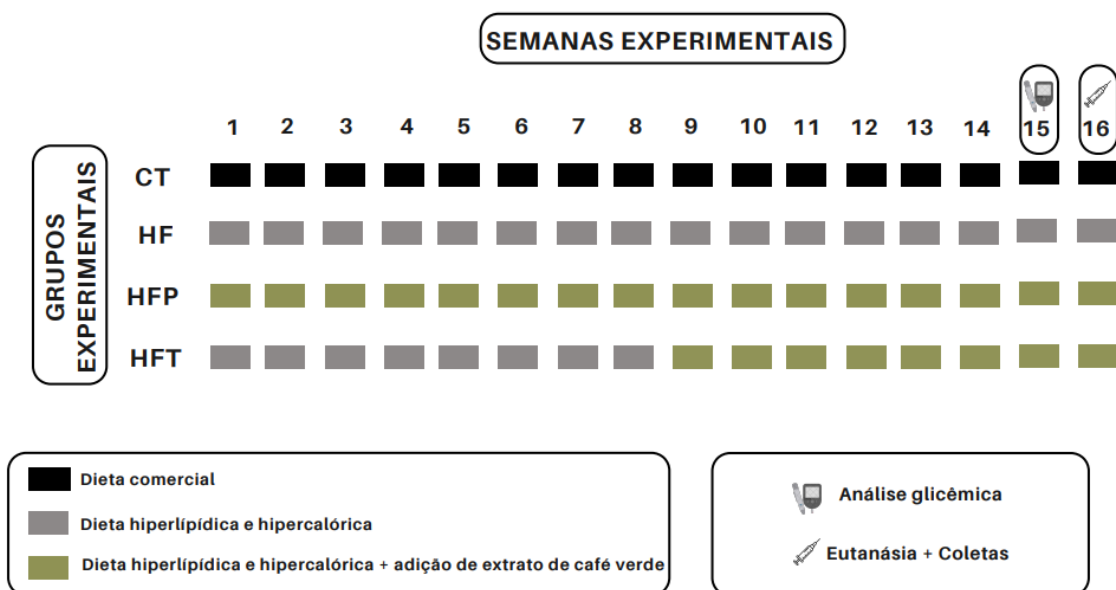


Figura 2 – Esquema do desenho experimental. CT: grupo controle negativo, dieta comercial; HF: grupo controle positivo, dieta high fat; HFP: grupo que recebeu dieta high fat suplementada com extrato desde a 1ª semana de tratamento; HFT: grupo que recebeu dieta high fat suplementada com extrato de café verde a partir da 8ª semana de tratamento.

5.5 Dietas experimentais

O grupo controle recebeu dieta comercial da marca Nuvilab[®] (339 kcal/100 g; dos quais 63% de carboidratos, 26% de proteínas e 11% de lipídeos) (DE VICENTE et. al. 2021). Os grupos com indução de obesidade receberam dieta hipercalórica rica em gordura – HF, sendo sua composição baseada na AIN-93M, com adição de 31,2% de banha de porco (CINTRA et al., 2012; REEVES et. al. 1993) (TABELA 3).

A composição da dieta hipercalórica rica em gordura (535,8 kcal/100 g; dos quais 34,7% de carboidratos, 17% de proteínas e 35,2% de lipídeos), contava com os seguintes ingredientes: caseína, celulose microfina, mix de minerais (AIN-93M), mix de vitaminas (AIN-93M), L – cistina e bitartarato de colina adquiridos na Rhoster[®]; amido de milho (Maisena[®]), sacarose (União[®]), óleo de soja (Soya[®]), banha (Aurora[®]) (Tabela 3). As dietas foram preparadas semanalmente e acondicionadas em sacos plásticos e permaneceram sob refrigeração até o momento da administração aos animais.

O extrato de café verde foi incorporado na dieta no momento da montagem dos pellets e a quantidade do extrato aquoso de café verde ofertada dependeu dos resultados da análise do teor de cafeína, visto que a dosagem diária deste composto

não deveria passar de 45 mg de cafeína/kg de peso (ILBÄCK et. al. 2007; SILVA et. al. 2022). Dessa forma, foram ofertados 2 ml de extrato por dia por animal, adicionados e homogeneizados na dieta no momento da oferta para os animais experimentais.

Tabela 3 – Composição da dieta experimental

Ingredientes (g/100 g)	CT	HF
Ração comercial	100	-
Amido de milho	-	11,5
Caseína	-	20
Sacarose	-	13,2
Amido dextrinizado	-	10
Óleo de soja	-	4,0
Banha	-	31,2
Celulose microfina	-	5
Mix de minerais AIN-93M	-	3,5
Mix de vitaminas AIN-93M	-	1
L-cistina	-	0,3
Bitartarato de Colina	-	0,2
Energia (kcal/100g)	339,0	535,8

5.6 Avaliação da tolerância à glicose

O teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGip) foi realizado na 15ª semana com animais não anestesiados, após jejum de 8h. Uma solução de glicose a 50% (2,0 g/kg de peso corporal) foi administrada na cavidade peritoneal, e as amostras de sangue foram coletadas através de uma incisão na ponta da cauda, nos tempos 0, 30, 60, 90 e 120 minutos para a determinação das concentrações de glicose. Os níveis de glicose no sangue foram medidos com um glicosímetro portátil (Accu-Chek, Roche), usando tiras de testes apropriadas. Os resultados, expressos em mg.dL^{-1} , foram utilizados para calcular a área sob a curva (AUC) de glicose, plotada em um gráfico versus o tempo em minutos.

5.7 Marcadores bioquímicos

As dosagens de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triacilgliceróis, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram realizadas por analisador bioquímico semi automático (Bio-2000IL, BioPlus).

As dosagens foram determinadas a partir do soro, com a utilização dos kits enzimáticos colorimétricos da marca Gold Analisa®. O conteúdo de lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) foi estimado pela Equação de Friedewald (FRIEDEWALD; LEVY; FREDRICKSON, 1972).

$$\text{LDL-c (mg/dL)} = \text{Colesterol total} - \text{HDL-c} - (\text{Triacilgliceróis} / 5).$$

O índice de Castelli I foi obtido pela razão entre colesterol total e HDL-c (Colesterol/HDL-c), enquanto o índice de Castelli II foi determinado pela razão entre LDL-c e HDL-c (LDL-c/HDL-c).

5.8 Biomarcadores de estresse oxidativos

As amostras de tecidos adiposo e hepático coletadas foram utilizadas para a determinação das atividades de enzimas antioxidantes, incluindo catalase (CAT), superóxido dismutase (SOD) e óxido nítrico (ON). Inicialmente para as análises, o homogenato de fígado foi preparado com 200 mg de fígado, o qual foi misturado com 1 mM de EDTA (pH 7.4) e 1000 µL de tampão fosfato (50 mM). O conteúdo foi macerado e centrifugado (1200g/ 10 min/ 4°C), e o sobrenadante foi coletado para a análise das enzimas antioxidantes, o mesmo processo foi realizado para análise do tecido adiposo.

Para a quantificação da enzima superóxido dismutase (SOD), 243 µL de tampão Tris-HCl 50 mM (pH 8,2) (1 mM de EDTA), 12 µL de MTT (1,25 mM) e 15 µL de pirogalol (10 mM) foram misturados no homogeneizado dividido em alíquotas. Para determinar o branco, 12 µL de MTT e 288 µL de tampão foram adicionados aos poços, os quais foram incubados por 5 minutos a 37°C, e a leitura foi realizada em um espectrofotômetro a 570 nm (Thermo Scientific Multiskan GO, Waltham, MA, EUA). A

quantificação de SOD foi expressa em unidades de SOD/mg de proteína (MARKLUND, 1985).

A catalase foi realizada nas amostras do homogeneizado conforme descrito acima. Aos 0, 30 e 60 segundos após o início da reação, a absorbância foi determinada em 240 nm (Thermo Scientific Multiskan GO, Waltham, MA, EUA). A atividade enzimática foi relatada como μmol por mL de amostra, e os dados foram expressos em U de catalase por mg de proteína. A atividade da catalase foi calculada de acordo com a Lei de Beer-Lambert (AEB, 1984).

Para a quantificação do óxido nítrico foram utilizados 100 μL do homogeneizado, adicionado ao reagente de Griess e a absorbância foi determinada em 570 nm (Thermo Scientific Multiskan GO, Waltham, MA, EUA) (GRIESS, 1879).

5.9 Quantificação de PPAR- γ , TNF- α , IL-1 β e IL-10

As amostras de tecido adiposo e fígado foram homogeneizadas usando um inibidor de protease. O homogenato preparado foi analisado por imunoenensaio com os kits ELISA Rat PPAR- γ (Receptor Gamma Ativado por Proliferador de Peroxissomo - E-EL-R0724, Elabscience, Houston, TX, EUA), Rat TNF- α (Fator de Necrose Tumoral Alfa - E-EL-R2859, Elabscience, Houston, TX, EUA), Rat IL-1 β (Interleucina 1 Beta - E-EL-R001, Elabscience, Houston, TX, EUA) e Rat IL-10 (Interleucina 10 - ERA23RB, Invitrogen, Thermo Fisher Scientific, Waltham MA, EUA). As concentrações foram calculadas por comparação com as curvas padrão correspondentes, com diluição de 1:50 (v/v) para o fígado e 1:10 (v/v) para o tecido adiposo. O soro também foi analisado, usando uma diluição de 1:20 (v/v).

5.10 Análises histomorfológicas

As análises histológicas foram realizadas no Laboratório de Patologia Animal do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal do Espírito Santo (CCAUE/UFES). Após a eutanásia dos animais experimentais, o fígado e o tecido adiposo epididimal esquerdo foram coletadas e fixadas em formol tamponado (10%), até que fosse observado completa fixação. Após, os fragmentos de aproximadamente 1 cm^2 foram colocados em cassetes e passaram por processamento em histotécnico

automático (OMA, modelo DM-40), onde foram desidratados em concentrações crescentes de etanol (70%, 80%, 90% e 100%) por 60 minutos em cada etapa. Após, foram diafanizados com três banhos de xilol por 60 minutos cada. Os tecidos foram embebidos em dois banhos de parafina (65°C), por 60 minutos cada, após finalizado o processo foram emblocados em parafina e armazenados em freezer até o momento do corte.

Utilizou-se um micrótomo (Leica RM2235) para os cortes dos blocos, cuja espessura foi ajustada para 5µm. Os cortes foram estendidos em banho-maria (40°C) e colocados em lâminas de vidro. Após, foram acondicionados em laminários de madeira e secos. Já secas, foi feito o processo de montagem das lâminas: as lâminas foram desparafinizadas com dois banhos de xilol um de 10 minutos seguido por um de 5 minutos. Em sequência, os cortes foram desidratados com dois banhos de etanol 100% por 5 minutos. Em seguida, as lâminas foram passadas em água corrente seguida por uma passagem em água destilada.

Os cortes receberam, então, coloração com Hematoxilina-Eosina, que durou 3 e 4 minutos, respectivamente, entre as colorações as lâminas foram lavadas em água por 10 minutos seguidas por passagem em água destilada. Após esse processo, os cortes foram novamente desidratados com três banhos de álcool 100% e diafanizados com um banho de xilol por 3 minutos, cada. Por fim, os cortes passaram mais uma vez no xilol e foram cobertos com lamínulas de vidro, sobre bálsamo do Canadá.

Foram feitas microfotografias dos cortes histológicos utilizando microscópio óptico (Opticam Microscopy Technology®, modelo O500R) acoplado a uma câmera de captação de imagens (Opticam Microscopy Technology® - Lopt 14003) com auxílio do software OPTHD 3.7 (Opticam Microscopy Technology®). Para a análise do fígado, fotos foram capturadas aleatoriamente de cada animal, utilizando-se a lente objetiva de 20x.

A infiltração lipídica hepática foi avaliada qualitativamente, classificando o grau de infiltração de acordo com a quantidade de gotículas de gordura presentes no tecido hepático. As microfotografias foram examinadas e categorizadas em uma escala de 0 a 4, onde: nenhum hepatócito afetado (0), menos de 25% do parênquima afetado (1), entre 25 e 50% do parênquima afetado (2), entre 50 e 75% do parênquima afetado (3) e mais de 75% do parênquima afetado (4) (CINTRA et al., 2006). Posteriormente, foi calculada a média dos valores obtidos nas imagens de cada grupo. Já para o tecido

adiposo, foram feitas microfotografias do tecido para observar aleatoriamente o mínimo de 20 adipócitos, sendo necessário a análise de mais de uma fotografia, todas tiradas utilizando-se a lente objetiva de 20x. A área de cada adipócito foi avaliada, com auxílio do software Software Image-Pro Plus® 4.5 (Media Cybernetics, Rockville EUA).

5.11 Análise estatística

Para as análises estatísticas utilizou o software GraphPad Prism, versão 10.1.2 Inicialmente, foi aplicado o teste Kolmogorov–Smirnov para testar a normalidade dos dados e, após a confirmação da normalidade, foi aplicado o teste *t* para análise dos grupos CT e HF. Os grupos HF, HFP e HFT foram comparados por meio da aplicação da análise de variância (ANOVA), complementada com teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

6. RESULTADOS

6.1. Composição do extrato de café verde

Entre os compostos bioativos analisados o ácido clorogênico foi o composto majoritário, sendo seguido pela cafeína e trigonelina (Tabela 4).

Tabela 4 – Quantificação de compostos bioativos do extrato de café verde

Análise*	Concentrações
Ácido clorogênico (mg/mL)	5,53±1,79
Cafeína (mg/mL)	1,84±0,35
Trigonelina (mg/mL)	0,73±0,08

Dados expressos em média±desvio padrão (n=3)

*Análises realizadas em triplicata.

6.2 Peso, consumo alimentar e parâmetros murinométricos dos animais

A quantidade diária consumida dos compostos bioativos do extrato aquoso de café verde pelos animais durante o período experimental não apresentou diferença significativa entre os grupos HFP e HFT (Figura 3 A, 3 B, 3 C, $p>0,05$).

Foi observada diferença ($p < 0,05$) entre o consumo alimentar médio diário, coeficientes de eficiência alimentar (CEA) e calórica (CEC) entre os grupos CT e HF (Figuras 3 D, 3 F, 3 G, respectivamente). Embora não se tenha observado diferença significativa entre os consumo calórico médio dos grupos (Figuras 3 E, $p < 0,05$). O grupo controle CT apresentou um consumo alimentar médio diário maior que o grupo experimental HF. No entanto, observou-se que a eficiência alimentar e calórica foi menor no grupo CT, indicando que apesar do menor consumo em gramas, a dieta rica em gordura do grupo HF foi mais eficiente em promover o ganho de peso dos animais.

Os animais do grupo HF apresentaram um maior ganho de peso na 8^a e 16^a semana, quando comparados aos animais do grupo CT (Fig. 3 H e Fig. 3 I, $p < 0,05$). O mesmo comportamento foi observado no ganho de peso final dos animais (Fig. 3 J, $p < 0,05$). Contudo, a suplementação das dietas com extrato de café não apresentou efeito significativo na atenuação do ganho de peso dos animais, quando comparado ao grupo HF.

A Tabela 5 apresenta os parâmetros murinométricos dos animais experimentais. Em relação à circunferência abdominal, não houve diferença significativa entre os grupos CT e HF ($p > 0,05$). No entanto, observou-se maior circunferência abdominal no grupo HFT em relação ao grupo HF (Tabela 5, $p < 0,05$). Ao analisar o comprimento nasoanal dos animais não foi possível observar diferença entre os comprimentos dos animais dos diferentes grupos experimentais ($p > 0,05$). O índice de Lee, mostrou diferenças significativas apenas entre os grupos HF e CT.

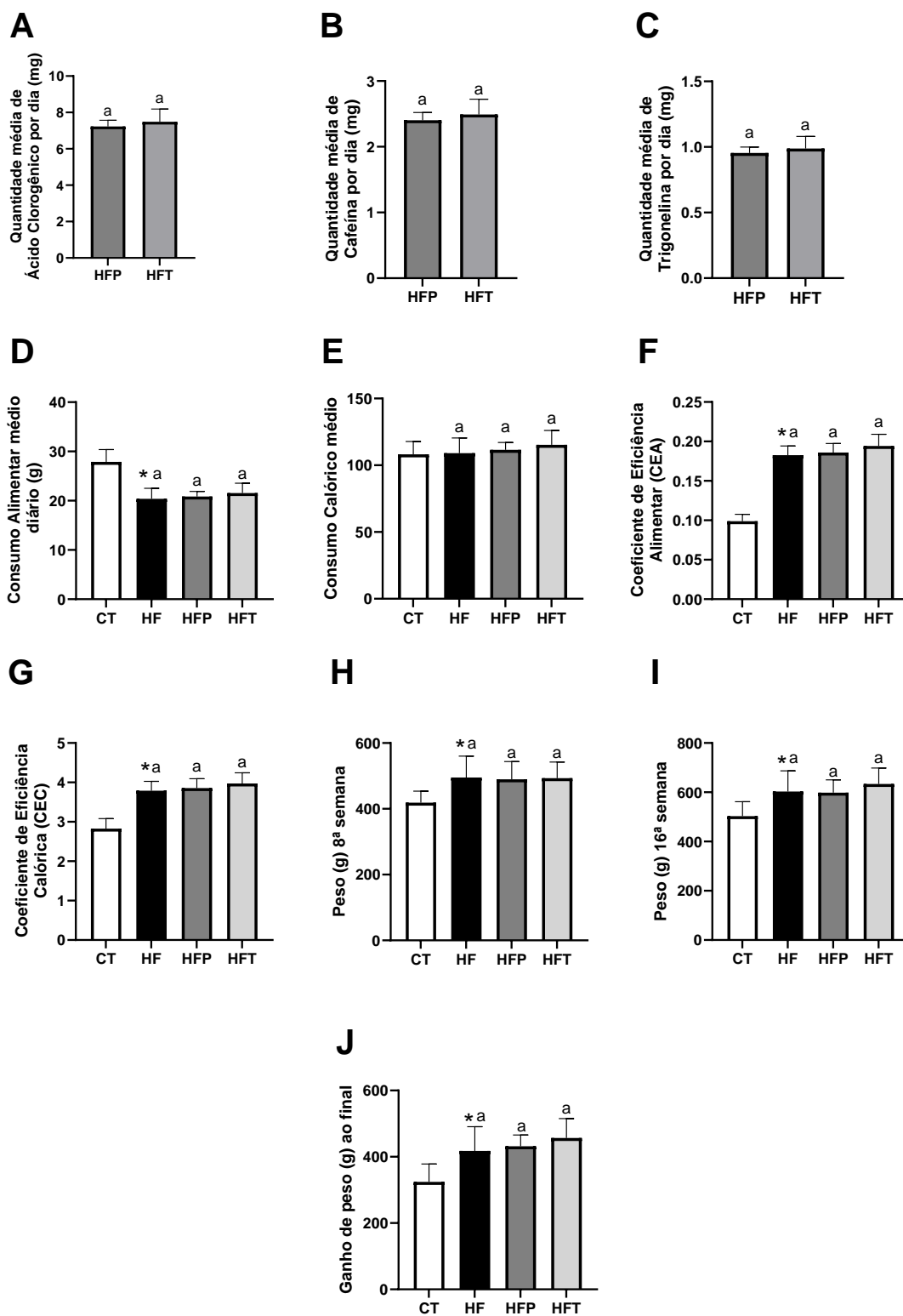


Figura 3 – Gráficos de peso e consumo. Consumo diário de ácido clorogênico (A), consumo diário de cafeína (B), consumo diário de trigonelina (C), consumo alimentar médio diário (D), consumo calórico médio (E), coeficiente de eficiência alimentar até a 16ª semana (CEA) (F), coeficiente de eficiência calórica até a 16ª semana (CEC) (G), ganho de peso até a 8ª semana (H), ganho de peso até a 16ª semana (I), ganho de peso ao final do experimento (J). Dados expressos em média \pm desvio padrão (n=48). * Diferença estatística entre CT e HF pelo teste *t* ($p \leq 0,05$).

Tabela 5 - Análise dos parâmetros murinométricos dos animais experimentais.

	CT	HF	HFP	HFT
Circunferência abdominal (cm)	17,46±1,21	17,9±1,35 ^b	18,4±0,61 ^{ab}	19,40±1,02 ^a
CNA (cm)	23,54±0,82	23,45±1,15 ^a	23,04±0,01 ^a	23,29±0,81 ^a
Índice de Lee	0,33±0,01	0,36±0,00 ^{*a}	0,36±0,01 ^a	0,37±0,01 ^a

Dados expressos em média ± DP (n=48). * Diferença estatística entre CT e HF pelo teste *t* ($p \leq 0,05$) na mesma linha. Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CT: grupo controle negativo, dieta comercial normocalórica; HF: grupo controle positivo, dieta hipercalórica rica em gordura; HP: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato desde a 1ª semana de tratamento; HT: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato de café verde desde a partir da 8ª semana de tratamento. CNA: Comprimento nasoanal.

6.3 Perfil glicêmico e marcadores bioquímico dos animais

Observou-se que os valores de glicemia e AUC (Área sob a curva) foram significativamente maiores no grupo HF em comparação com o CT (Fig. 4 B, $p < 0,05$). Esses resultados indicam uma maior intolerância à glicose no grupo HF em relação ao CT, sugerindo que a dieta hipercalórica rica em gordura teve um impacto negativo na regulação da glicemia. Não foram encontradas diferenças significativas entre o grupo HF e aqueles que receberam extrato de café verde, o que sugere que a intervenção com o café verde não foi efetiva na melhoria da tolerância à glicose.

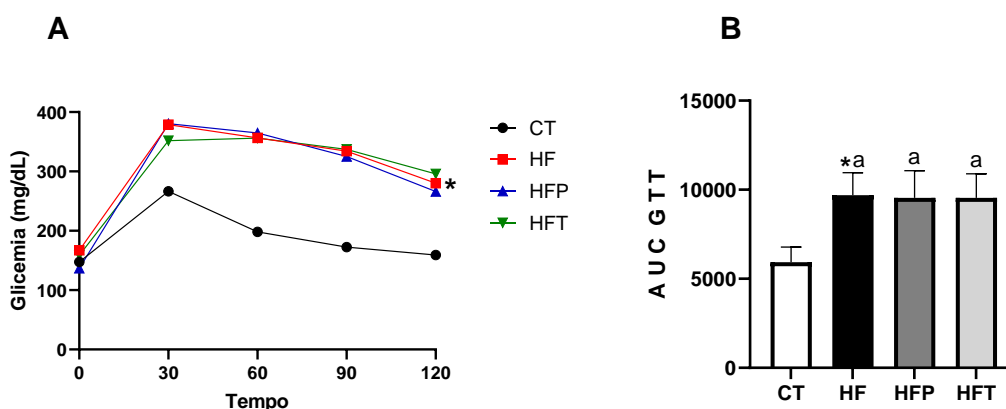


Figura 4 - Perfil Glicêmico. Teste de tolerância à glicose intraperitoneal (TTGip) (A), área sob a curva (AUC) do TTGip (B). * Diferença estatística entre CT e HF pelo teste *t* ($p \leq 0,05$).

Na Tabela 6 são apresentados os resultados referentes aos parâmetros bioquímicos sanguíneos dos animais experimentais. Os parâmetros ALT, colesterol total, LDL-c e triacilgliceróis não apresentaram diferenças estatísticas entre nenhum

dos grupos analisados ($p > 0,05$). Verificou-se diferença significativa nos níveis de AST entre os grupos CT e HF, com valor médio mais elevado no grupo que recebeu a dieta rica em gorduras. Houve redução de AST no grupo HFT em comparação ao HF e HFP (Tabela 6, $p \leq 0,05$).

Ao analisar os níveis de HDL-c, não foram observadas diferenças estatísticas entre os grupos CT e HF, mas houve diferença entre o grupo HF e HFT. Adicionalmente, os dados indicam que o grupo HF apresentou menores valores das razões Colesterol/HDL e LDL/HDL, em relação ao grupo CT ($p \leq 0,05$).

Tabela 6 - Resultados bioquímicos sanguíneos dos animais experimentais

Marcadores Bioquímicos	CT	HF	HFP	HFT	Variação relativa (%) (HFP vs HF)	Variação relativa (%) (HFT vs HF)
AST (U/L)	64,44±8,98	76,86±14,63 ^{*a}	77,41±9,34 ^a	64,50±9,05 ^b	100,71	83,91
ALT (U/L)	39,92±9,84	43,14±12,04 ^a	45,79±12,42 ^a	36,95±8,79 ^a	106,14	85,65
Colesterol total (mg/dL)	65,64±10,18	57,42±9,90 ^a	59,50±6,56 ^a	62,67±10,43 ^a	103,62	109,14
HDL-c (mg/dL)	26,61±5,04	23,78±4,87 ^b	26,94±3,37 ^{ab}	28,39±2,88 ^a	113,28	119,38
LDL-c (mg/dL)	23,14±6,56	18,39±6,20 ^a	17,83±8,84 ^a	16,73±10,53 ^a	96,95	90,97
Triacilgliceróis (mg/dL)	68,45±12,65	63,54±22,36 ^a	52,67±8,28 ^a	63,56±11,11 ^a	82,89	100,03
Colesterol/HDL-c	2,58±0,27	2,26±0,24 ^{*a}	2,12±0,34 ^a	2,22±0,24 ^a	93,80	98,23
LDL-c/HDL-c	0,96±0,30	0,68±0,18 ^{*a}	0,59±0,36 ^a	0,66±0,33 ^a	86,76	97,05

Dados expressos em média ± DP (n=48). * Diferença estatística entre CT e HF pelo teste *t* ($p \leq 0,05$). Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CT: grupo controle negativo, dieta comercial normocalórica; HF: grupo controle positivo, dieta hipercalórica rica em gordura; HP: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato desde a 1ª semana de tratamento; HT: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato de café verde desde a partir da 8ª semana de tratamento. AST: aspartato amino transferase; ALT: alanina aminotransferase; HDL-c: lipoproteína de alta densidade; LDL-c: lipoproteína de baixa densidade.

6.4 Quantificação de biomarcadores oxidativos e inflamatórios no soro, tecido adiposo e hepático

Entre as enzimas quantificadas no tecido hepático, não houve diferença nos teores de SOD, CAT e óxido nítrico (Fig. 5 A; Fig. 5 B; Fig. 5 C, respectivamente). Neste mesmo tecido, a concentração de IL-10 (Fig. 5 D) do grupo HF foi superior ao grupo CT ($p \leq 0,05$), mas não houve diferença entre os grupos tratados com dieta rica em gordura (Fig. 5 D). De forma semelhante, não foram observadas diferenças significantes entre os grupos HF na quantificação de IL-1 β , TNF- α e PPAR- γ (Fig. 5 E; Fig. 5 F; Fig. 5 G, respectivamente).

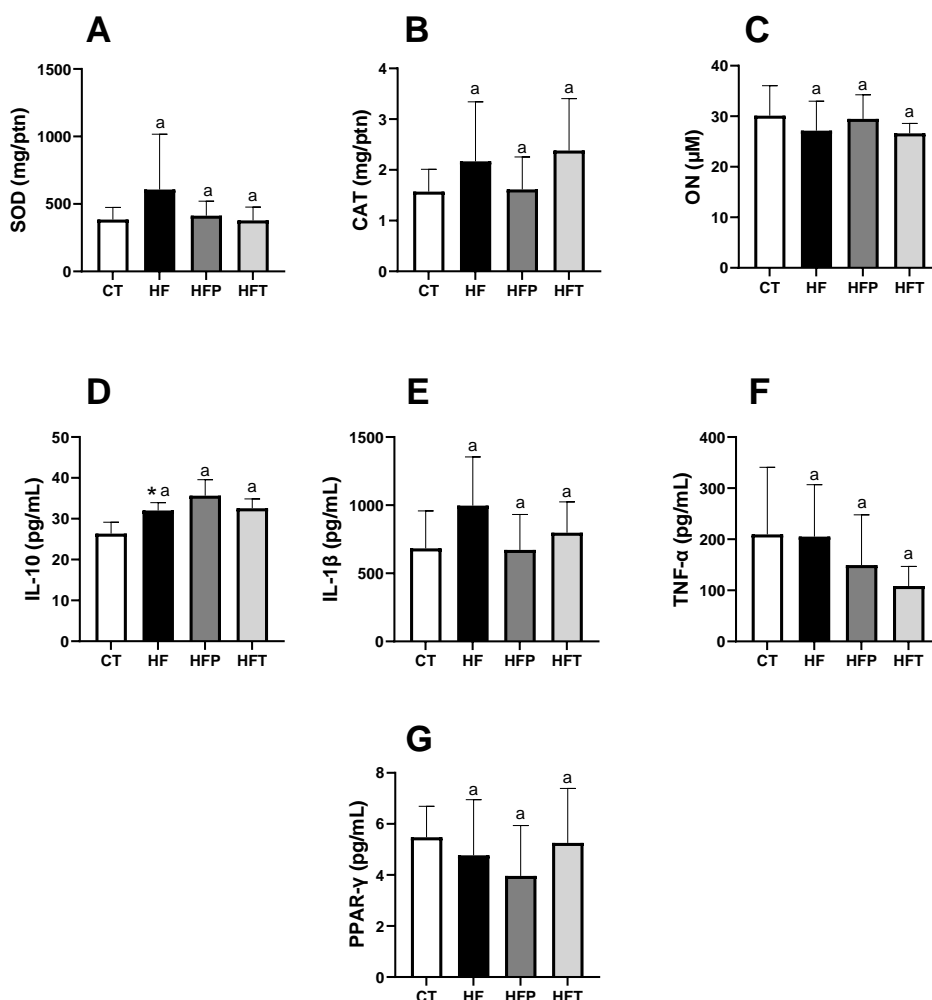


Figura 5 – Concentração de superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), óxido nítrico (ON) (C), IL-10 (D), IL-1 β (E), TNF- α (F) e PPAR- γ (G) no tecido hepático dos animais experimentais.* Diferença estatística entre CT e HF pelo teste t ($p \leq 0,05$).

Com relação ao tecido adiposo, não houve diferença na concentração de SOD, CAT, ON e IL-1- β (Fig. 6 A; Fig. 6 B; Fig. 6 C; Fig. 6 D, respectivamente), quando compararam-se os grupos controle (CT e HF) quanto entre os grupos tratados com dieta rica em gordura. Também foi feita a quantificação de PPAR- γ e IL-10 (Fig. 7 A; Fig. 7 B, respectivamente) no soro dos animais, porém não foi constatada diferença estatística entre os grupos experimentais.

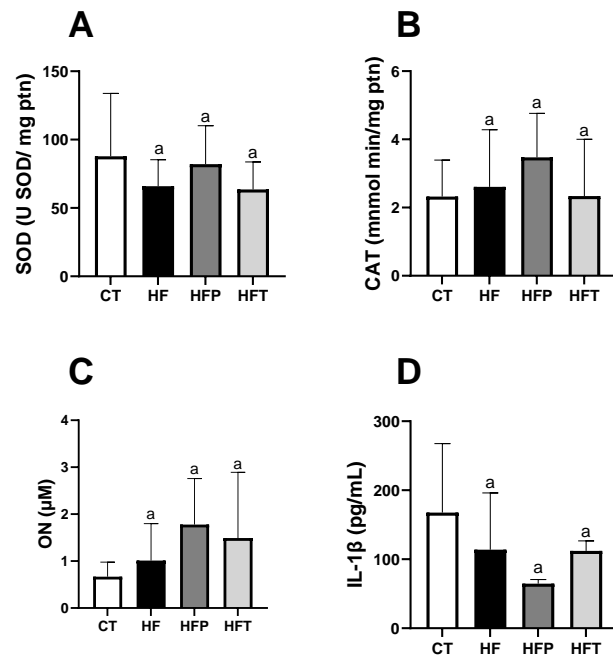


Figura 6 – Concentração de superóxido dismutase (SOD) (A), catalase (CAT) (B), óxido nítrico (ON) (C) e IL-1 β (D) no tecido adiposo dos animais experimentais. * Diferença estatística entre CT e HF pelo teste *t* ($p \leq 0,05$).

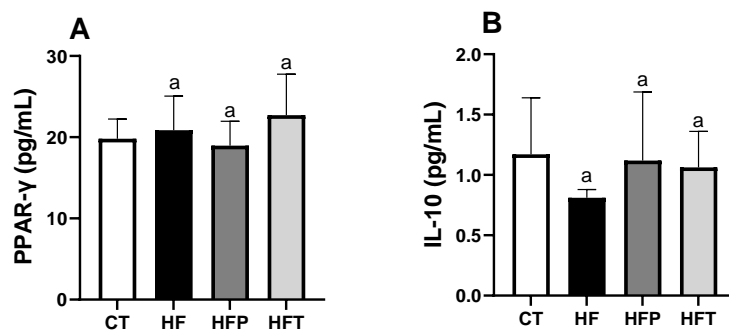


Figura 7 – Concentração de PPAR- γ (A) e IL-10 (B) sanguíneo dos animais experimentais. * Diferença estatística entre CT e HF pelo teste *t* ($p \leq 0,05$).

6.5 Análise morfológica dos tecidos hepático e do tecido adiposo epididimal

Os dados da Tabela 7 apresentam os resultados das análises no tecido hepático e adiposo. Em relação aos parâmetros hepáticos, o peso do fígado e o grau de infiltração lipídica foram maiores no grupo HF em comparação com o grupo CT ($p \leq 0,05$). No entanto, o grupo HF não apresentou diferença significativa em relação aos demais grupos que receberam o extrato de café verde. Não foram observadas diferenças entre os grupos para o índice hepatossomático.

Com relação ao peso do tecido adiposo epididimal, observou-se diferença estatística entre os grupos controle, sendo que o grupo HF apresenta uma média de peso duas vezes maior do que o valor apresentado no grupo CT. Ainda, observou-se que o peso do tecido adiposo epididimal do grupo HFT foi superior aos grupos HF e HFP. A área dos adipócitos e o perímetro dos adipócitos apresentaram diferença estatística somente entre os controles.

Tabela 7 - Análise morfológica do tecido hepático e do tecido adiposo epididimal

	CT	HF	HFP	HFT
Fígado (g)	16,94±2,67	20,21±3,26 ^a	21,645±3,22 ^a	21,63± 3,80 ^a
Grau de infiltração lipídica (0-4)	0,22±0,26	3,30±0,63 ^a	3,15±0,74 ^a	2,86±0,94 ^a
IHS	3,31±0,29	3,43±0,24 ^a	3,58±0,47 ^a	3,35±0,43 ^a
TAE (g)	7,62±2,22	17,74±3,83 ^b	18,23±3,40 ^b	21,03±3,56 ^a
Área dos Adipócitos (mm ²)	0,28±0,04	0,42± 0,08 ^a	0,48±0,13 ^a	0,49±0,11 ^a
Perímetro do adipócito (mm)	2,03±0,17	2,52± 0,25 ^a	2,59±0,40 ^a	2,66±0,27 ^a

Dados expressos em média ± DP. * Diferença estatística entre CT e HF pelo teste t ($p \leq 0,05$). Letras diferentes em uma mesma linha representam diferença estatística, pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$). CT: grupo controle negativo, dieta comercial normocalórica; HF: grupo controle positivo, dieta hipercalórica rica em gordura; HP: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato desde a 1ª semana de tratamento; HT: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato de café verde desde a partir da 8ª semana de tratamento. IHS: Índice hepatossomático; TAE: Tecido adiposo epididimal.

Na Figura 8 são apresentadas as microfotografias do tecido hepático (Fig. 8 A, B, C e D) e do tecido adiposo epididimal (Fig. 8 E, F, G e H) dos grupos experimentais. No fígado, observou-se um percentual de infiltração lipídica elevado nos grupos de animais que recebeu a dieta HF, característica que contraria a observada ao grupo controle, no qual não se observa deposição de gordura. Os grupos HF e HFP apresentaram maior acúmulo lipídico (superior a 75% de depósito), quando

comparado ao grupo HFT. O grupo HFT apresentou um menor acúmulo de gordura (entre 50% e 75%), sendo caracterizado por menores gotículas lipídicas.

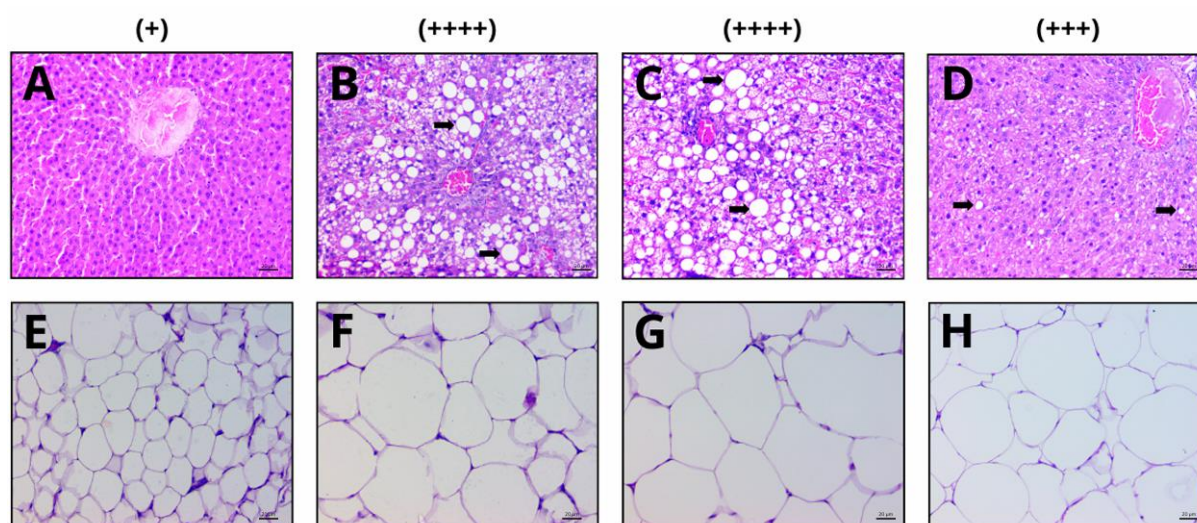


Figura 8 - Fotomicrografias representativas dos tecidos hepático (A, B, C, D) e adiposo epididimal (E, F, G, H) dos animais experimentais. CT: grupo controle negativo, dieta comercial normocalórica (A e E); HF: grupo controle positivo, dieta hipercalórica rica em gordura (B e F); HFP: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato desde a 1ª semana de tratamento (C e G); HFT: grupo que recebeu dieta hipercalórica rica em gordura suplementada com extrato de café verde desde a partir da 8ª semana de tratamento (D e H). Menos que 25% (+), entre 25% e 50% (++) , entre 50% e 75% (+++) e maior que 75% (++++). Coloração com hematoxilina-eosina (HE). Resolução: 500 pixels. As setas indicam deposição lipídica no tecido hepático.

7. DISCUSSÃO

Entre os compostos bioativos analisados no presente estudo, o ácido clorogênico foi o principal componente encontrado no extrato de café verde, com concentração de $5,53 \pm 1,79$ mg/mL, seguido pela cafeína e pela trigonelina. Esses resultados estão de acordo com a literatura, que também identifica o ácido clorogênico como o principal composto bioativo no extrato aquoso de café verde, seguido pela cafeína e trigonelina (DO CARMO et al., 2022; LEMOS et al., 2020; MUÑOZ et al., 2020; SILVA et al., 2022). Em um estudo realizado com grãos de café verde da mesma região, verificou-se concentrações de $5,78 \pm 0,43$ mg/mL para ácido clorogênico, $3,73 \pm 0,49$ mg/mL para cafeína e $2,04 \pm 0,09$ mg/mL para trigonelina (SILVA et al., 2022). Embora os valores sejam semelhantes aos do presente estudo, a variabilidade natural entre amostras de café pode ser atribuída a características genéticas dos grãos, condições de colheita e pós-colheita, práticas agrônômicas e fatores climáticos e ambientais (WONGSA et al., 2019).

No presente estudo, o modelo experimental de indução da obesidade demonstrou-se efetivo. Durante o período experimental de 8 semanas, a dieta hipercalórica e hiperlipídica induziu um aumento significativo no ganho de peso nos animais, padrão que se observou até o final do período experimental. A diferença no consumo alimentar e nos coeficientes de eficiência alimentar e calórica reforça a maior capacidade da dieta hipercalórica rica em gordura em promover ganho de peso, apesar do menor consumo diário pelos animais. Adicionalmente, os parâmetros murinométricos auxiliam no embasamento da efetividade do modelo experimental utilizado.

Os resultados deste estudo não mostraram efeitos favoráveis do consumo de extrato de café verde na diminuição do peso e adiposidade dos animais obesos. Apesar disso, a literatura aponta que o extrato de café verde contém compostos bioativos capazes de influenciar no controle de peso, ao aumentar a lipólise (SELIEM et al., 2022), estimular a β -oxidação, reduzir a atividade da lipase pancreática, exercer efeito lipolítico nos adipócitos (BONETTI et al., 2022), bem como inibir a síntese de ácidos graxos, da hidroximetil-glutaril-CoA redutase e da acil-CoA-colesterol aciltransferase (RÍOS-HOYO E GUTIÉRREZ-SALMEÁN, 2016).

A administração de uma dieta rica em gordura induziu também ao quadro de intolerância à glicose, como pode ser evidenciado pelos níveis mais elevados de glicemia e pela maior área sob a curva (AUC) no teste intraperitoneal de tolerância à glicose (TTGip). Contudo, os animais dos grupos suplementados com extrato de café verde não exibiram efeitos na reversão ou atenuação do quadro de obesidade e na intolerância à glicose causada pelo consumo de dieta HF. A intolerância à glicose observada nos grupos HF corrobora a literatura científica, que descreve o impacto negativo das dietas ricas em gordura sobre a regulação da glicose, principalmente quando esta é associada a obesidade (BASHIR et al., 2023; CHOI et al., 2016).

A ausência dos efeitos significativos do extrato de café verde sobre o peso dos animais e a intolerância à glicose observados pode ser atribuída à dose utilizada e tempo de intervenção, que podem não ter sido suficiente para produzir uma resposta fisiológica mensurável. Além das alterações nos níveis glicêmicos, uma dieta rica em gordura, principalmente saturada, pode impactar a homeostase do organismo, modificando parâmetros associados ao metabolismo lipídico e à saúde hepática. A ingestão de gorduras saturadas tem sido associada a aumentos nos níveis de

colesterol LDL e triacilgliceróis, o que torna o perfil lipídico menos saudável (IZAR et al., 2021), além de contribuir para o acúmulo de gordura hepática (PARKS et al., 2017).

No presente estudo, o grupo HF não diferiu do grupo CT no que se refere aos níveis de colesterol total, LDL-c e triacilgliceróis. Esse achado foi semelhante aos resultados encontrados em um estudo utilizando um modelo experimental para indução de dislipidemia, no qual foi observado um possível feedback negativo, ou seja, uma proteção do próprio animal à alta oferta lipídica (CINTRA et al., 2006). A elevada deposição de gordura no fígado observada no grupo HF pode ser explicada pelo aumento da captação de ácidos graxos livres pelo fígado, associado a um desequilíbrio entre a síntese e a exportação de lipoproteínas, resultando na redução desses componentes na corrente sanguínea dos animais. Contrariamente, esperava-se uma elevação nos níveis de HDL com a administração de extrato de café verde, uma vez que estudos demonstram sua associação com a regulação e melhoria do perfil lipídico em animais e humanos (KHALILI-MOGHADAM et al., 2023; SELIEM et al., 2022). Além disso, o ácido clorogênico, presente no café verde, pode exercer efeitos hipolipemiantes ao reduzir a absorção de lipídios e a formação de micelas de colesterol, por meio da inibição da atividade da lipase pancreática e da HMG-CoA redutase (ASBAGHI et al., 2020; KHALILI-MOGHADAM et al., 2023).

Adicionalmente, no sangue dos animais, foram dosadas as enzimas AST e ALT. O grupo HF apresentou um aumento significativo nos níveis de AST. No entanto, a administração do extrato de café verde após o estabelecimento da obesidade (HFT) reduziu a concentração desse marcador de saúde hepática a níveis semelhantes ao do grupo CT. Os resultados demonstram que a administração de extrato de café verde pode apresentar efeitos benéficos na função hepática, mesmo no contexto de obesidade, o que é consistente com a literatura existente sobre a hepatoproteção associada aos compostos do café verde. Yu e colaboradores (2024), ao analisarem a ingestão de ácido clorogênico em animais alimentados com dieta HF, observaram uma redução nos níveis de AST, indicando que o ácido clorogênico poderia acelerar o metabolismo da gordura e proteger a função hepática (YU et al., 2024). Além disso, Xu et al. (2014) verificaram que a administração de ACG também reduziu os níveis séricos de AST e ALT em um modelo animal com lesão hepática aguda induzida por tetracloro-1,4-benzoquinona (XU et al., 2014). Esses efeitos protetores no fígado são

atribuídos às propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias do ACG, um antioxidante eficaz, capaz de mitigar as reações oxidativas e proteger o fígado contra danos causados pelo estresse oxidativo, promovendo a expressão de enzimas antioxidantes e prevenindo a peroxidação lipídica (HOSSEINABADI et al., 2020; XU et al., 2014). Ademais, Shahmohammadi e colaboradores observaram redução nos níveis séricos de ALT após suplementação com 1 g/dia de extrato de café verde em indivíduos com doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), reforçando a evidência de que o extrato pode melhorar a saúde hepática em condições patológicas (SHAHMOHAMMADI et al., 2017). Portanto, sugere-se que o extrato de café verde pode ter um efeito terapêutico significativo nos níveis de enzimas hepáticas no contexto de obesidade, especialmente na forma de tratamento quando comparado com a abordagem preventiva.

Atualmente, um novo conceito está sendo estabelecido para a disfunção hepática, substituindo a antiga denominação de doença hepática gordurosa não alcoólica por doença hepática esteatótica associada à disfunção metabólica. Essa atualização reflete uma definição mais precisa, caracterizando a condição como hepática esteatótica que ocorre na presença de um ou mais fatores de risco cardiometabólicos, excluindo o consumo prejudicial de álcool como causa. A mudança visa reconhecer a complexidade da doença, que está intimamente ligada a distúrbios metabólicos e ao perfil cardiometabólico dos pacientes (TACKE et al., 2024). Portanto, indivíduos obesos ou diabéticos com alguns parâmetros bioquímicos, oxidativos e inflamatórios considerados normais ainda podem desenvolver doença hepática.

De forma mais simplificada, a doença hepática gordurosa não alcoólica é caracterizada pelo aumento de gordura no fígado sem causas secundárias evidentes. O início da doença está fortemente ligado à resistência à insulina e à disfunção do tecido adiposo (GODOY-MATOS et al., 2020). A esteatose é o primeiro estágio da doença, tendo como causas a dieta, lipogênese *de novo* ou lipídios liberados do tecido adiposo. O estresse oxidativo, inflamação, disfunção mitocondrial e resistência à insulina podem levar a lesões hepáticas graves, resultando no segundo estágio da doença, que é a esteato-hepatite ou cirrose (FOURET et al., 2018).

Embora o papel protetor do café na esteatose hepática ainda seja controverso, estudos demonstraram uma possível associação promissora entre o consumo dos

compostos do café verde e a proteção contra esteatose hepática, progressão de fibrose e danos hepáticos (CALABRÒ et al., 2020).

Em um estudo com o objetivo de avaliar o efeito da cafeína na redução de danos hepáticos, causados por uma dieta rica em gordura em modelo animal, constatou-se que o tratamento com cafeína melhorou a saúde hepática, por meio da redução dos níveis elevados de ALT, AST e bilirrubina, além de diminuir a expressão hepática de mRNA da sintase de ácidos graxos e acetil-CoA carboxilase (HELAL et al., 2018). Outro estudo mostrou que a suplementação de ácido clorogênico em animais com dieta rica em gordura reduziu o acúmulo de lipídios no fígado e os níveis de marcadores de lesão hepática (ALT e AST), além de diminuir o número de gotículas lipídicas e aliviar a inflamação no trato portal, indicando um efeito hepatoprotetor (XU et al., 2021). Por outro lado, em outro estudo, a cafeína e o extrato de café verde não foram efetivos em reduzir a esteatose hepática em ratas (VELÁZQUEZ et al., 2020).

No presente estudo, os animais alimentados com dieta hiperlipídica sem extrato (HF) ou como prevenção (HFP), apresentaram um grau de infiltração lipídica superior a 75%, caracterizada por macrogotículas de gordura. Em contraste, o grupo tratado com extrato de café verde após o estabelecimento da obesidade (HFT) mostrou uma infiltração lipídica reduzida, com valores entre 50% e 75% e predominância de microgotículas. Esses resultados demonstram uma melhor eficácia do tratamento com café verde na redução do acúmulo de gordura e atenuação do grau de esteatose no fígado, reduzindo-o de grave para moderado.

A redução na infiltração lipídica observada no grupo tratado com extrato de café verde após o desenvolvimento da obesidade (HFT) pode ser atribuída a vários mecanismos associados ao extrato. O café verde pode atuar reduzindo a lipogênese (FARIAS-PEREIRA et al., 2019), promovendo a lipólise e oxidação de lipídios (BONETTI et al., 2022), além de inibir a absorção de lipídios e modificar o metabolismo hepático do colesterol e dos ácidos graxos (ASBAGHI et al., 2020). O início precoce do tratamento, ou seja, anterior à manifestação da obesidade, pode não ter sido suficiente para prevenir a esteatose devido às respostas metabólicas ajustadas, ao passo que a administração após o desenvolvimento da obesidade pode ter sido mais eficaz por agir em condições patológicas já estabelecidas.

Ao avaliar o tecido adiposo epididimal, observou-se que os grupos alimentados com a dieta hiperlipídica apresentaram aumento no peso e na hipertrofia dos

adipócitos em comparação ao grupo controle. Além disso, como evidenciado no presente estudo a suplementação com o extrato de café verde não conseguiu reverter ou atenuar parâmetros relacionados a adiposidade nos animais experimentais. Adicionalmente, devido à ingestão de uma dieta hiperlipídica, que resultou em obesidade e ao aumento da adiposidade foi possível observar o desenvolvimento de esteatose hepática gordurosa não alcoólica nos animais, sendo essa confirmada pelos parâmetros morfológicos e histológicos hepáticos, que evidenciaram alterações relacionadas ao aumento hepático e maior grau de infiltração lipídica relacionada a dieta.

A análise do perfil oxidativo no tecido hepático não revelou diferenças estatísticas significativas entre os grupos experimentais. No presente estudo, a suplementação com extrato de café verde não foi efetiva para o aumento de superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT) e óxido nítrico (ON) no tecido hepático e no tecido adiposo. Esse resultado pode estar relacionado à dose administrada ou à duração da intervenção, que podem ter sido insuficientes para promover alterações significativas na atividade antioxidante. Embora estudos anteriores sugiram que o extrato de café verde possui propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias (CHOI et al., 2016), tais efeitos não foram observados de forma conclusiva no presente experimento, ressaltando a complexidade das interações metabólicas envolvidas.

A inflamação crônica de baixo grau relacionada à obesidade é caracterizada pela infiltração tecidual de células imunes e pela produção de adipocinas e citocinas inflamatórias. Esse processo envolve a ativação de células tanto do sistema imunológico inato quanto do adaptativo (AGRAWAL et al., 2017; GUZIK et al., 2017). Essas células podem migrar pelo tecido adiposo, fígado e outros órgãos, contribuindo para o desenvolvimento da inflamação sistêmica (ANDERSEN et al., 2016).

No presente estudo foi observado um aumento na expressão hepática de IL-10 no grupo HF, mas não foram observadas alterações significativas nos níveis das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β , TNF- α e do fator de transcrição PPAR- γ entre os grupos. A IL-10 atua auxiliando a resposta inflamatória através de atividades imunorregulatórias, sendo proposto que a capacidade do organismo obeso de produzir essa citocina (MEDEIROS et al., 2018, MOGHBELI et al., 2021). Esses achados fortalecem a hipótese de que o organismo pode ter desenvolvido mecanismos adaptativos para regular tanto a resposta inflamatória quanto o estresse

oxidativo, mantendo um equilíbrio dinâmico visando minimizar as alterações provocadas pela obesidade no tecido adiposo e hepático. Essa adaptação dos animais à condição de obesidade pode ter reduzido a capacidade de detectar efeitos distintos do extrato de café verde. Além disso, a variabilidade na concentração desses biomarcadores nos animais contribuiu negativamente para a clareza dos resultados.

Em resumo, o extrato de café verde demonstrou um impacto positivo na redução da infiltração lipídica no fígado e na normalização dos níveis de AST, sugerindo sua eficácia na melhoria da saúde hepática, especialmente em contextos de obesidade induzida pela dieta. Estes achados ressaltam o potencial terapêutico do extrato de café verde no tratamento e manejo de condições associadas à obesidade e síndrome metabólica, sublinhando a importância de abordagens dietéticas e suplementares na promoção da saúde.

8. CONCLUSÃO

Este estudo identificou e quantificou os compostos majoritários do extrato de café verde, destacando o ácido clorogênico como o componente majoritário. A dieta hipercalórica rica em gordura utilizada induziu de forma eficiente a obesidade nos animais experimentais, reproduzindo condições metabólicas associadas à obesidade.

A suplementação com extrato de café verde não apresentou efeitos significativos sobre o consumo alimentar, o ganho de peso, a intolerância à glicose, o perfil oxidativo e inflamatório ou na morfologia do tecido adiposo. Contudo, o extrato de café verde demonstrou um efeito hepatoprotetor ao reduzir a infiltração lipídica no fígado, sendo este o principal achado deste estudo. Esse efeito pode estar relacionado à capacidade dos compostos bioativos presentes no extrato de modular o metabolismo lipídico e proteger contra a esteatose hepática induzida pela dieta. Além disso, foi observado um efeito positivo nos níveis de HDL, sugerindo um impacto positivo no perfil lipídico. No caso da enzima AST, o extrato foi eficaz em melhorar o estado funcional do fígado, o que reforça seu potencial hepatoprotetor.

Os resultados deste estudo destacam a relevância do extrato de café verde como uma intervenção com efeitos benéficos sobre a saúde hepática, embora com limitações no controle dos parâmetros sistêmicos da obesidade. Estudos futuros são

necessários para aprofundar os mecanismos de ação envolvidos, testar diferentes dosagens e explorar potenciais efeitos sinérgicos com outras estratégias terapêuticas.

9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-MOHSEN, D. M. et al. Green Coffee Bean Extract Potentially Ameliorates Liver Injury due to HFD/STZ-Induced Diabetes in Rats. **Journal of Food Biochemistry**, v. 2023, p. 1–16, 8 fev. 2023.

ACIDRI, R. et al. Phytochemical Profile and Antioxidant Capacity of Coffee Plant Organs Compared to Green and Roasted Coffee Beans. **Antioxidants**, v. 9, n. 2, p. 93, 22 jan. 2020.

AEBI, H. [13] Catalase in vitro. In: [s.l: s.n.]. p. 121–126.

AGRAWAL, M.; KERN, P. A.; NIKOLAJCZYK, B. S. The Immune System in Obesity: Developing Paradigms Amidst Inconvenient Truths. **Current Diabetes Reports**, v. 17, n. 10, p. 87, 15 out. 2017.

AHMED, B.; SULTANA, R.; GREENE, M. W. Adipose tissue and insulin resistance in obese. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 137, p. 111315, maio 2021.

AL-DOMI, H. A.; AL HAJ AHMAD, R. M. Association between complement component C3 and body composition: a possible obesity inflammatory biomarker for insulin resistance. **Asia Pacific journal of clinical nutrition**, v. 26, n. 6, p. 1082–1087, 2017.

ANDERSEN, C. J.; MURPHY, K. E.; FERNANDEZ, M. L. Impact of Obesity and Metabolic Syndrome on Immunity. **Advances in Nutrition**, v. 7, n. 1, p. 66–75, jan. 2016.

APRELINI, C. M. DE O. et al. Tendência da prevalência do sobrepeso e obesidade no Espírito Santo: estudo ecológico, 2009-2018. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 30, n. 3, 2021.

ASBAGHI, O. et al. Effect of green coffee bean extract supplementation on liver function and inflammatory biomarkers: A meta-analysis of randomized clinical trials. **Complementary Therapies in Clinical Practice**, v. 43, p. 101349, 1 maio 2021.

ASBAGHI, O. et al. The effect of green coffee extract supplementation on anthropometric measures in adults: A comprehensive systematic review and dose-response meta-analysis of randomized clinical trials. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 51, p. 102424, 1 jun. 2020.

ASBAGHI, O. et al. The effects of green coffee extract supplementation on glycemic indices and lipid profile in adults: a systematic review and dose-response meta-analysis of clinical trials. **Nutrition Journal**, v. 19, n. 1, p. 71, 14 dez. 2020a.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA PARA O ESTUDO DA OBESIDADE E DA SÍNDROME METABÓLICA (ABESO). **Mapa da Obesidade**. Disponível em: <https://abeso.org.br/obesidade-e-sindrome-metabolica/mapa-da-obesidade/>. Acesso em: 14 out. 2024.

BACCARI, M. C.; VANNUCCHI, M. G.; IDRIZAJ, E. The Possible Involvement of Glucagon-like Peptide-2 in the Regulation of Food Intake through the Gut–Brain Axis. **Nutrients**, v. 16, n. 18, p. 3069, 11 set. 2024.

BARREA, L. et al. Coffee consumption, health benefits and side effects: a narrative review and update for dietitians and nutritionists. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 9, p. 1238–1261, 3 abr. 2023.

BASHIR, K. M. I. et al. Validating the Health Benefits of Coffee Berry Pulp Extracts in Mice with High-Fat Diet-Induced Obesity and Diabetes. **Antioxidants**, v. 13, n. 1, p. 10, 20 dez. 2023.

BERBERICH, A. J.; HEGELE, R. A. A Modern Approach to Dyslipidemia. **Endocrine Reviews**, v. 43, n. 4, p. 611–653, 13 jul. 2022.

BHANDARKAR, N. S.; BROWN, L.; PANCHAL, S. K. Chlorogenic acid attenuates high-carbohydrate, high-fat diet-induced cardiovascular, liver, and metabolic changes in rats. **Nutrition Research**, v. 62, p. 78–88, 1 fev. 2019.

BHANDARKAR, N. S. et al. Green coffee ameliorates components of diet-induced metabolic syndrome in rats. **Journal of Functional Foods**, v. 57, p. 141–149, 1 jun. 2019a.

BLACK, H. S. A Synopsis of the Associations of Oxidative Stress, ROS, and Antioxidants with Diabetes Mellitus. **Antioxidants**, v. 11, n. 10, p. 2003, 10 out. 2022.

BONETTI, G. et al. Dietary supplements for obesity. **Journal of preventive medicine and hygiene**, v. 63, n. 2 Suppl 3, p. E160–E168, jun. 2022.

BOSSO, H. et al. Green coffee: economic relevance and a systematic review of the effects on human health. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 3, p. 394–410, 25 jan. 2023.

BRAWERMAN, G.; THOMPSON, P. J. Beta Cell Therapies for Preventing Type 1 Diabetes: From Bench to Bedside. **Biomolecules**, v. 10, n. 12, p. 1681, 16 dez. 2020.

BRAY, G. A.; KIM, K. K.; WILDING, J. P. H. Obesity: a chronic relapsing progressive disease process. A position statement of the World Obesity Federation. **Obesity Reviews**, v. 18, n. 7, p. 715–723, 10 jul. 2017.

BUSEBEE, B. et al. Obesity: A Review of Pathophysiology and Classification. **Mayo Clinic Proceedings**, v. 98, n. 12, p. 1842–1857, dez. 2023.

CALABRÒ, A. et al. Beneficial effects of coffee in non-alcoholic fatty liver disease: a narrative review. **Hepatoma Research**, v. 2020, 12 out. 2020.

CARO-GÓMEZ, E. et al. Green Coffee Extract Improves Cardiometabolic Parameters and Modulates Gut Microbiota in High-Fat-Diet-Fed ApoE^{-/-} Mice. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 497, 27 fev. 2019.

CHANDRASEKARAN, P.; WEISKIRCHEN, R. The Role of Obesity in Type 2 Diabetes Mellitus—An Overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 3, p. 1882, 4 fev. 2024.

CHEN, G. et al. Prognostic nutritional index (PNI) and risk of non-alcoholic fatty liver disease and advanced liver fibrosis in US adults: Evidence from NHANES 2017–2020. **Heliyon**, v. 10, n. 4, p. e25660, fev. 2024.

CHOI, B. K. et al. Green coffee bean extract improves obesity by decreasing body fat in high-fat diet-induced obese mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 9, n. 7, p. 635–643, 1 jul. 2016.

CINTRA, D. E. et al. Lipid profile of rats fed high-fat diets based on flaxseed, peanut, trout, or chicken skin. **Nutrition**, v. 22, n. 2, p. 197–205, 1 fev. 2006.

CINTRA, D. E. et al. Unsaturated Fatty Acids Revert Diet-Induced Hypothalamic Inflammation in Obesity. **PLoS ONE**, v. 7, n. 1, p. e30571, 18 jan. 2012.

CORSO, M. P.; VIGNOLI, J. A.; BENASSI, M. DE T. Development of an instant coffee enriched with chlorogenic acids. **Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 3, p. 1380–1388, 13 mar. 2016.

COSTA, M. C. et al. Trigonelline and curcumin alone, but not in combination, counteract oxidative stress and inflammation and increase glycation product detoxification in the liver and kidney of mice with high-fat diet-induced obesity. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 76, p. 108303, fev. 2020.

DARE, A.; KING, S. D.; CHEN, S.-Y. Surfactant protein A promotes western diet-induced hepatic steatosis and fibrosis in mice. **Scientific Reports**, v. 14, n. 1, p. 7464, 29 mar. 2024.

DE VICENTE, L. G. et al. TLR4 deletion increases basal energy expenditure and attenuates heart apoptosis and ER stress but mitigates the training-induced cardiac function and performance improvement. **Life Sciences**, v. 285, p. 119988, 15 nov. 2021.

DING, J.; ZHANG, Y. Associations of Coffee Consumption with the Circulating Level of Alanine Aminotransferase and Aspartate Aminotransferase. A Meta-Analysis of Observational Studies. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 40, n. 3, p. 261–272, 3 abr. 2021.

DO CARMO, L. B. et al. Green Coffee Extract Microencapsulated: Physicochemical Characteristics, Stability, Bioaccessibility, and Sensory Acceptability through Dairy Beverage Consumption. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 20, p. 13221, 14 out. 2022.

DREHER, M. L.; FORD, N. A. A Comprehensive Critical Assessment of Increased Fruit and Vegetable Intake on Weight Loss in Women. **Nutrients**, v. 12, n. 7, p. 1919, 29 jun. 2020.

DUSEJA, A. et al. Indian National Association for Study of the Liver (INASL) Guidance Paper on Nomenclature, Diagnosis and Treatment of Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). **Journal of Clinical and Experimental Hepatology**, v. 13, n. 2, p. 273–302, mar. 2023.

FARIAS-PEREIRA, R.; PARK, C.-S.; PARK, Y. Mechanisms of action of coffee bioactive components on lipid metabolism. **Food Science and Biotechnology**, v. 28, n. 5, p. 1287–1296, 12 out. 2019.

FASIHI, M. et al. Effects of green coffee extract supplementation on level of chemerin, malondialdehyde, nutritional and metabolic status in patients with metabolic syndrome. **Nutrition & Food Science**, v. 50, n. 1, p. 21–33, 28 jun. 2020.

FOURET, G. et al. 20-Week follow-up of hepatic steatosis installation and liver mitochondrial structure and activity and their interrelation in rats fed a high-fat–high-fructose diet. **British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 4, p. 368–380, 28 fev. 2018.

FRIEDEWALD, W. T.; LEVY, R. I.; FREDRICKSON, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. **Clinical chemistry**, v. 18, n. 6, p. 499–502, jun. 1972.

GODOY-MATOS, A. F.; SILVA JÚNIOR, W. S.; VALERIO, C. M. NAFLD as a continuum: from obesity to metabolic syndrome and diabetes. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 12, n. 1, p. 60, 14 dez. 2020.

GÖKCEN, B. B.; ŞANLIER, N. Coffee consumption and disease correlations. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 2, p. 336–348, 19 jan. 2019.

GREEN, M.; ARORA, K.; PRAKASH, S. Microbial Medicine: Prebiotic and Probiotic Functional Foods to Target Obesity and Metabolic Syndrome. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 21, n. 8, p. 2890, 21 abr. 2020.

GRIESS, P. Bemerkungen zu der Abhandlung der HH. Weselsky und Benedikt „Ueber einige Azoverbindungen”. **Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft**, v. 12, n. 1, p. 426–428, 28 jan. 1879.

GU, Z. et al. Causal association between diabetes mellitus and rheumatoid arthritis: A bidirectional Mendelian randomization study. **Endocrine and Metabolic Science**, v. 16, p. 100186, 30 set. 2024.

GUO, X. et al. Non-Alcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD) Pathogenesis and Natural Products for Prevention and Treatment. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 24, p. 15489, 7 dez. 2022.

GUTIÉRREZ ORTIZ, A. L. et al. Distribution of p-coumaroylquinic acids in commercial *Coffea* spp. of different geographical origin and in other wild coffee species. **Food Chemistry**, v. 286, p. 459–466, jul. 2019.

GUZIK, T. J. et al. The role of infiltrating immune cells in dysfunctional adipose tissue. **Cardiovascular Research**, v. 113, n. 9, p. 1009–1023, 1 jul. 2017.

HAAS, M. E.; ATTIE, A. D.; BIDDINGER, S. B. The regulation of ApoB metabolism by insulin. **Trends in Endocrinology & Metabolism**, v. 24, n. 8, p. 391–397, ago. 2013.

HALL, R. D.; TREVISAN, F.; DE VOS, R. C. H. Coffee berry and green bean chemistry – Opportunities for improving cup quality and crop circularity. **Food Research International**, v. 151, p. 110825, 1 jan. 2022.

HELAL, M. et al. Caffeine affects HFD-induced hepatic steatosis by multifactorial intervention. **Human & Experimental Toxicology**, v. 37, n. 9, p. 983–990, 18 set. 2018.

HOSSEINABADI, S. et al. Effect of green coffee extract supplementation on serum adiponectin concentration and lipid profile in patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized, controlled trial. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 49, p. 102290, mar. 2020.

ILBÄCK, N. G.; SILLER, M.; STÅLHANDSKE, T. Evaluation of cardiovascular effects of caffeine using telemetric monitoring in the conscious rat. **Food and Chemical Toxicology**, v. 45, n. 5, p. 834–842, maio 2007.

IZAR, M. C. DE O. et al. Posicionamento sobre o Consumo de Gorduras e Saúde Cardiovascular – 2021. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 116, n. 1, p. 160–212, 27 jan. 2021.

JAISON K, I. et al. Psychological impact of obesity: A comprehensive analysis of health-related quality of life and weight-related symptoms. **Obesity Medicine**, v. 45, p. 100530, jan. 2024.

JESZKA-SKOWRON, M. et al. Chlorogenic acids, caffeine content and antioxidant properties of green coffee extracts: influence of green coffee bean preparation. **European Food Research and Technology**, v. 242, n. 8, p. 1403–1409, 9 ago. 2016.

KACZMARCZYK-SEDLAK, I. et al. Effect of caffeine on biomarkers of oxidative stress in lenses of rats with streptozotocin-induced diabetes. **Archives of Medical Science**, v. 15, n. 4, p. 1073–1080, 2019.

KADOWAKI, T. et al. The role of PPAR γ in high-fat diet-induced obesity and insulin resistance. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 16, n. 1, p. 41–45, jan. 2002.

KAMSTRUP, P. R. Lipoprotein(a) and Cardiovascular Disease. **Clinical Chemistry**, v. 67, n. 1, p. 154–166, 8 jan. 2021.

KANALEY, J. A. et al. Exercise/Physical Activity in Individuals with Type 2 Diabetes: A Consensus Statement from the American College of Sports Medicine. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 54, n. 2, p. 353–368, fev. 2022.

KANE, H.; LYNCH, L. Innate Immune Control of Adipose Tissue Homeostasis. **Trends in Immunology**, v. 40, n. 9, p. 857–872, set. 2019.

KAWAI, T.; AUTIERI, M. V.; SCALIA, R. Adipose tissue inflammation and metabolic dysfunction in obesity. **American Journal of Physiology-Cell Physiology**, v. 320, n. 3, p. C375–C391, 1 mar. 2021.

KHALILI-MOGHADAM, S. et al. Effects of green coffee aqueous extract supplementation on glycemic indices, lipid profile, CRP, and malondialdehyde in patients with type 2 diabetes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **Frontiers in Nutrition**, v. 10, 16 nov. 2023.

KIM, M. S. et al. Association of genetic risk, lifestyle, and their interaction with obesity and obesity-related morbidities. **Cell Metabolism**, v. 36, n. 7, p. 1494- 1503.e3, 2 jul. 2024.

KOSITAMONGKOL, C. et al. Coffee Consumption and Non-alcoholic Fatty Liver Disease: An Umbrella Review and a Systematic Review and Meta-analysis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 12, 13 dez. 2021.

LAAKSO, M. Biomarkers for type 2 diabetes. **Molecular Metabolism**, v. 27, p. S139–S146, set. 2019.

LE LAY, S. et al. Adipocyte-derived extracellular vesicles in health and diseases: Nano-packages with vast biological properties. **FASEB BioAdvances**, v. 3, n. 6, p. 407–419, 4 jun. 2021.

LEMAMSHA, H.; RANDHAWA, G.; PAPADOPOULOS, C. Prevalence of Overweight and Obesity among Libyan Men and Women. **BioMed research international**, v. 2019, p. 8531360, 2019.

LEMOS, M. F. et al. Chemical and sensory profile of new genotypes of Brazilian Coffea canephora. **Food Chemistry**, v. 310, p. 125850, 25 abr. 2020.

LIN, X.; LI, H. Obesity: Epidemiology, Pathophysiology, and Therapeutics. **Frontiers in Endocrinology**, v. 12, 6 set. 2021.

LIU, H. et al. Association of AST/ALT ratio with 90-day outcomes in patients with acute exacerbation of chronic liver disease: a prospective multicenter cohort study in China. **Frontiers in Medicine**, v. 11, 21 mar. 2024.

LUO, Y.; LIN, H. Inflammation initiates a vicious cycle between obesity and nonalcoholic fatty liver disease. Immunity, Inflammation and Disease. **Wiley-Blackwell**, 1 mar. 2021.

MACHADO, F. et al. Mechanisms of action of coffee bioactive compounds – a key to unveil the coffee paradox. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, p. 1–23, 20 jun. 2023.

MAN, K.; KALLIES, A.; VASANTHAKUMAR, A. Resident and migratory adipose immune cells control systemic metabolism and thermogenesis. **Cellular & Molecular Immunology**, v. 19, n. 3, p. 421–431, 26 mar. 2022.

MARKLUND, S. L. Superoxide dismutase isoenzymes in tissues and plasma from New Zealand black mice, nude mice and normal BALB/c mice. **Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 148, n. 1–2, p. 129–134, jan. 1985.

MARTÍNEZ-LÓPEZ, S. et al. Moderate consumption of a soluble green/roasted coffee rich in caffeoylquinic acids reduces cardiovascular risk markers: results from a randomized, cross-over, controlled trial in healthy and hypercholesterolemic subjects. **European Journal of Nutrition**, v. 58, n. 2, p. 865–878, 1 mar. 2019.

MARUŠIĆ, M. et al. NAFLD, Insulin Resistance, and Diabetes Mellitus Type 2. **Canadian Journal of Gastroenterology and Hepatology**, v. 2021, p. 1–9, 17 fev. 2021.

MASEK, A. et al. Antioxidant Properties of Green Coffee Extract. **Forests**, v. 11, n. 5, p. 557, 15 maio 2020.

MATEOS, R. et al. Evaluation of novel nutraceuticals based on the combination of oat beta-glucans and a green coffee phenolic extract to combat obesity and its comorbidities. A randomized, dose-response, parallel trial. **Food and Function**, v. 13, n. 2, p. 574–586, 21 jan. 2022.

MEDEIROS, N. I. et al. IL-10 and TGF- β unbalanced levels in neutrophils contribute to increase inflammatory cytokine expression in childhood obesity. **European Journal of Nutrition**, v. 57, n. 7, p. 2421–2430, 22 out. 2018.

MENG, S. et al. Roles of Chlorogenic Acid on Regulating Glucose and Lipids Metabolism: A Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1–11, 2013.

MIAO, H. et al. Chlorogenic acid alleviated liver fibrosis in methionine and choline deficient diet-induced nonalcoholic steatohepatitis in mice and its mechanism. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 106, p. 109020, 1 ago. 2022.

MOGHBELI, M. et al. Cytokines and the immune response in obesity-related disorders. In: [s.l.: s.n.]. p. 135–168, 2021.

MUÑOZ, A. E. et al. Evaluation of differences in the antioxidant capacity and phenolic compounds of green and roasted coffee and their relationship with sensory properties. **LWT**, v. 128, p. 109457, jun. 2020.

NGUYEN, V. et al. Chlorogenic Acid: A Systematic Review on the Biological Functions, Mechanistic Actions, and Therapeutic Potentials. **Nutrients**, v. 16, n. 7, p. 924, 23 mar. 2024.

NIKPAYAM, O. et al. Effects of green coffee extract on fasting blood glucose, insulin concentration and homeostatic model assessment of insulin resistance (HOMA-IR): a systematic review and meta-analysis of interventional studies. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 11, n. 1, p. 91, 5 dez. 2019.

NIKPAYAM, O. et al. Effects of Green Coffee Extract Supplementation on Oxidative Stress, Systemic and Vascular Inflammation in Patients with Metabolic Syndrome: A Randomized Clinical Trial. **Iranian Red Crescent Medical Journal**, v. 20, n. 6, 11 set. 2018.

NILSON, E. A. F. et al. [Costs attributable to obesity, hypertension, and diabetes in the Unified Health System, Brazil, 2018Costos atribuibles a la obesidad, la hipertensión y la diabetes en el Sistema Único de Salud de Brasil, 2018]. **Revista panamericana de salud publica = Pan American journal of public health**, v. 44, p. e32, 2020.

NUGRAHINI, A. D. et al. Trigonelline: An alkaloid with anti-degranulation properties. **Molecular Immunology**, v. 118, p. 201–209, 1 fev. 2020.

ONG, K. W.; HSU, A.; TAN, B. K. H. Chlorogenic Acid Stimulates Glucose Transport in Skeletal Muscle via AMPK Activation: A Contributor to the Beneficial Effects of Coffee on Diabetes. **PLoS ONE**, v. 7, n. 3, p. e32718, 7 mar. 2012.

PARKS, E.; YKI-JÄRVINEN, H.; HAWKINS, M. Out of the frying pan: dietary saturated fat influences nonalcoholic fatty liver disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 127, n. 2, p. 454–456, 23 jan. 2017.

PEI, J.; WANG, B.; WANG, D. Current Studies on Molecular Mechanisms of Insulin Resistance. **Journal of Diabetes Research**, v. 2022, p. 1–11, 23 dez. 2022.

PETELIN, A. et al. Total Serum Antioxidant Capacity in Healthy Normal Weight and Asymptomatic Overweight Adults. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 125, n. 07, p. 470–477, 26 jul. 2017.

PIMPLEY, V. A. et al. Modulatory effect of green coffee bioactives on high-fat diet-induced obesity in C57BL6 mice model. **Nutrition**, v. 115, p. 112141, nov. 2023.

RAHMATI, M. et al. The global impact of COVID-19 pandemic on the incidence of pediatric new-onset type 1 diabetes and ketoacidosis: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Medical Virology**, v. 94, n. 11, p. 5112–5127, 22 nov. 2022.

RAMOS, L. V.; DA COSTA, T. H. M.; ARRUDA, S. F. The effect of coffee consumption on glucose homeostasis and redox-inflammatory responses in high-fat diet-induced obese rats. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 100, p. 108881, fev. 2022.

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.

REYES-FARIAS, M. et al. White adipose tissue dysfunction in obesity and aging. **Biochemical Pharmacology**, v. 192, p. 114723, out. 2021.

RIMES-DIAS, K. A.; COSTA, J. C.; CANELLA, D. S. Obesity and health service utilization in Brazil: data from the National Health Survey. **BMC public health**, v. 22, n. 1, p. 1474, 2 ago. 2022.

RÍOS-HOYO, A.; GUTIÉRREZ-SALMEÁN, G. New Dietary Supplements for Obesity: What We Currently Know. **Current Obesity Reports**, v. 5, n. 2, p. 262–270, 6 jun. 2016.

ROSHAN, H. et al. Effects of green coffee extract supplementation on anthropometric indices, glycaemic control, blood pressure, lipid profile, insulin resistance and appetite in patients with the metabolic syndrome: a randomised clinical trial. **British Journal of Nutrition**, v. 119, n. 3, p. 250–258, 14 fev. 2018.

SAEEDI, P. et al. Global and regional diabetes prevalence estimates for 2019 and projections for 2030 and 2045: Results from the International Diabetes Federation Diabetes Atlas, 9th edition. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 157, p. 107843, nov. 2019.

SAIMAITI, A. et al. Dietary sources, health benefits, and risks of caffeine. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 63, n. 29, p. 9648–9666, 17 nov. 2023.

SALAMAT, S. et al. The effect of green coffee extract supplementation on serum oxidized LDL cholesterol and total antioxidant capacity in patients with dyslipidemia: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. **European Journal of Integrative Medicine**, v. 28, p. 109–113, jun. 2019.

SANLIER, N.; ATIK, A.; ATIK, I. Consumption of green coffee and the risk of chronic diseases. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 16, p. 2573–2585, 8 set. 2019.

SANZ-CÁNOVAS, J. et al. Management of Type 2 Diabetes Mellitus in Elderly Patients with Frailty and/or Sarcopenia. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 14, p. 8677, 16 jul. 2022.

SEID, H.; ROSENBAUM, M. Low Carbohydrate and Low-Fat Diets: What We Don't Know and Why We Should Know It. **Nutrients**, v. 11, n. 11, p. 2749, 12 nov. 2019.

SELIEM, E. M. et al. Green Coffee Bean Extract Normalize Obesity-Induced Alterations of Metabolic Parameters in Rats by Upregulating Adiponectin and GLUT4 Levels and Reducing RBP-4 and HOMA-IR. **Life**, v. 12, n. 5, 1 maio 2022.

ŞEMEN, S. et al. Elemental composition of green coffee and its contribution to dietary intake. **Food Chemistry**, v. 215, p. 92–100, jan. 2017.

SHAHMOHAMMADI, H. A. et al. Effects of green coffee bean extract supplementation on patients with non-alcoholic fatty liver disease: A randomized clinical trial. **Hepatitis Monthly**, v. 17, n. 4, 1 abr. 2017.

SILVA, C. W. et al. Green coffee extract (*Coffea canephora*) improved the intestinal barrier and slowed colorectal cancer progression and its associated inflammation in rats. **PharmaNutrition**, v. 22, p. 100314, dez. 2022.

SIROTKIN, A.; KOLESAROVA, A. The anti-obesity and health-promoting effects of tea and coffee. **Physiological Research**, p. 161–168, 30 abr. 2021.

SONG, T.; KUANG, S. Adipocyte dedifferentiation in health and diseases. **Clinical Science**, v. 133, n. 20, p. 2107–2119, 30 out. 2019.

SU, X.; CHEN, X.; WANG, B. Pathology of metabolically-related dyslipidemia. **Clinica Chimica Acta**, v. 521, p. 107–115, out. 2021.

SUALEH, A.; TOLESSA, K.; MOHAMMED, A. Biochemical composition of green and roasted coffee beans and their association with coffee quality from different districts of southwest Ethiopia. **Heliyon**, v. 6, n. 12, p. e05812, dez. 2020.

SZUKIEWICZ, D. Molecular Mechanisms for the Vicious Cycle between Insulin Resistance and the Inflammatory Response in Obesity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 12, p. 9818, 6 jun. 2023.

TACKE, F. et al. EASL–EASD–EASO Clinical Practice Guidelines on the management of metabolic dysfunction-associated steatotic liver disease (MASLD). **Journal of Hepatology**, jun. 2024.

TAJIK, N. et al. The potential effects of chlorogenic acid, the main phenolic components in coffee, on health: a comprehensive review of the literature. **European Journal of Nutrition**, v. 56, n. 7, p. 2215–2244, 8 out. 2017.

TANASE, D. M. et al. The Intricate Relationship between Type 2 Diabetes Mellitus (T2DM), Insulin Resistance (IR), and Nonalcoholic Fatty Liver Disease (NAFLD). **Journal of Diabetes Research**, v. 2020, p. 1–16, 4 ago. 2020.

TOMIC, D.; SHAW, J. E.; MAGLIANO, D. J. The burden and risks of emerging complications of diabetes mellitus. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 18, n. 9, p. 525–539, 6 set. 2022.

TSAI, K. et al. Chlorogenic Acid Protects Against oxLDL-Induced Oxidative Damage and Mitochondrial Dysfunction by Modulating SIRT1 in Endothelial Cells. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 62, n. 11, 10 jun. 2018.

UNAMUNO, X. et al. Adipokine dysregulation and adipose tissue inflammation in human obesity. **European Journal of Clinical Investigation**, v. 48, n. 9, 3 set. 2018.

VEKIC, J. et al. Obesity and dyslipidemia. **Metabolism**, v. 92, p. 71–81, mar. 2019.

VELÁZQUEZ, A. M. et al. Effects of a Low Dose of Caffeine Alone or as Part of a Green Coffee Extract, in a Rat Dietary Model of Lean Non-Alcoholic Fatty Liver Disease without Inflammation. **Nutrients**, v. 12, n. 11, p. 3240, 23 out. 2020.

VERMA, N. et al. Clinical Evaluation of a Novel, Patented Green Coffee Bean Extract (GCB70®), Enriched in 70% Chlorogenic Acid, in Overweight Individuals. **Journal of the American Nutrition Association**, p. 1–11, 16 jan. 2024.

WEIJIE., Z. et al. Obesity-induced chronic low-grade inflammation in adipose tissue: A pathway to Alzheimer's disease. **Ageing Research Reviews**, p. 102402, jul. 2024.

WONGSA, P. et al. Quality and bioactive compounds of blends of Arabica and Robusta spray-dried coffee. **Food Chemistry**, v. 283, p. 579–587, jun. 2019.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Diabetes** [Internet]. 5 April 2023 [acesso 8 abril 2024]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Obesity and overweight** [Internet]. [Geneva]: WHO; 1 Marc 2024 [acesso 2 abril 2024]. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>

WORLD OBESITY FEDERATION. **World Obesity Atlas 2024**. London: World Obesity Federation, 2024 [acesso 10 julho 2024]. Disponível em: <https://data.worldobesity.org/publications/?cat=22>

XU, D. et al. Tetrachlorobenzoquinone induces acute liver injury, up-regulates HO-1 and NQO1 expression in mice model: The protective role of chlorogenic acid. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 37, n. 3, p. 1212–1220, maio 2014.

XU, J. et al. Evidence for the anti-NAFLD effectiveness of chlorogenic acid as a HAT inhibitor using in vivo experiments supported by virtual molecular docking. **Phytomedicine Plus**, v. 1, n. 4, p. 100055, nov. 2021.

XUE, H.; WEI, M.; JI, L. Chlorogenic acids: A pharmacological systematic review on their hepatoprotective effects. **Phytomedicine**, v. 118, p. 154961, 1 set. 2023.

YAN, Y. et al. Use of Chlorogenic Acid against Diabetes Mellitus and Its Complications. **Journal of Immunology Research**, v. 2020, p. 1–6, 28 maio 2020.

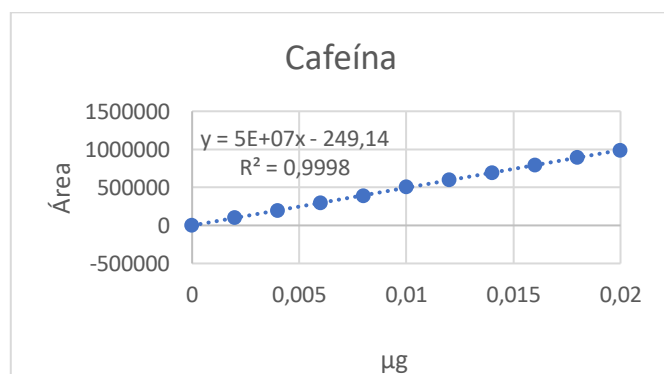
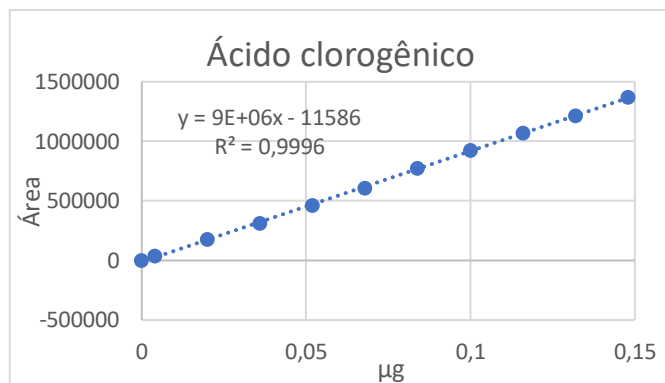
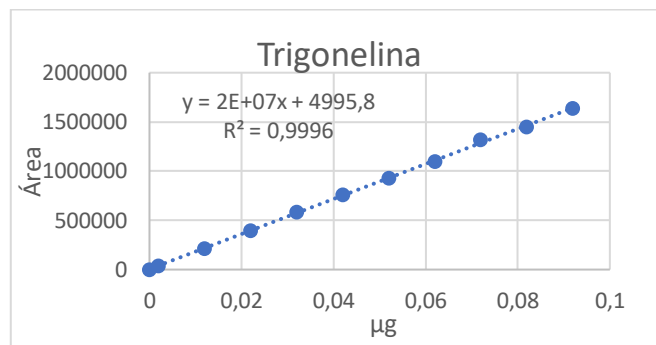
YE, X. et al. Chlorogenic Acid Inhibits Lipid Deposition by Regulating the Enterohepatic FXR-FGF15 Pathway. **BioMed Research International**, v. 2022, p. 1–11, 25 fev. 2022.

YU, Y. et al. Dietary chlorogenic acid alleviates high-fat diet-induced steatotic liver disease by regulating metabolites and gut microbiota. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, v. 75, n. 4, p. 369–384, 18 maio 2024.

ZHAO, X. et al. The crucial role and mechanism of insulin resistance in metabolic disease. **Frontiers in Endocrinology**, v. 14, 28 mar. 2023.

10. APÊNDICE

APÊNDICE A- Gráficos das curvas padrão dos teores de ácido clorogênico, cafeína e trigonelina.



11. ANEXO

ANEXO A- Aprovação do comitê de ética.



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada *"Efeito do extrato de café verde na microbiota, saúde intestinal e biomarcadores metabólicos de animais alimentados com dieta hiperlipídica e hiperclórica."*, registrada sob o n.º 001/2023, sob a responsabilidade de **André Gustavo Vasconcelos Costa**, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa, encontra-se de acordo com os preceitos da Lei 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n.167 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS – CAMPUS DE ALEGRE (CEUA-ALEGRE) do Centro de Ciências Exatas, Naturais e da Saúde da Universidade Federal do Espírito Santo (Ufes).

Vigência da autorização: 03/2023 a 06/2024

Finalidade: Pesquisa

Espécie(s): Ratos da raça Wistar

Peso: aproximadamente entre 150g e 160g

Idade: 3 semanas

Sexo: Machos

Número de animais: 48

Origem: Biotério Central da UFES, Centro de Ciências da Saúde, campus Maruípe, Vitória - ES..

Alegre-ES, 15/02/2023

Mashal Costa Leme - Coordenador da CEUA-ALEGRE

Cristiane dos Santos Vergílio – Vice-coordenadora a CEUA-ALEGRE

Comissão de Ética no Uso de Animais do Campus de Alegre – CEUA-ALEGRE
Alto Universitário, s/n – Guararema – Alegre, ES, Brasil – CEP 29500-000 - Telefone: 028 3552 8900 – ceua.alegre@gmail.com – www.alegre.ufes.br

Documento assinado digitalmente conforme descrito no(s) Protocolo(s) de Assinatura constante(s) neste arquivo, de onde é possível verificar a autenticidade do mesmo.



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO

PROTOCOLO DE ASSINATURA



O documento acima foi assinado digitalmente com senha eletrônica através do Protocolo Web, conforme Portaria UFES nº 1.269 de 30/08/2018, por MARSHAL COSTA LEME - SIAPE 1818683 Departamento de Medicina Veterinária - DMV/CAAE Em 24/02/2023 às 10:29

Para verificar as assinaturas e visualizar o documento original acesse o link:
<https://api.lepisma.ufes.br/arquivos-assinados/656795?tipoArquivo=O>