

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 21/02/2024.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA
FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

Gabriel Bacil Prata

***Estabelecimento de modelo murino de esteatohepatite não
alcoólica: tratamento com compostos bioativos de
alimentos***

Dissertação apresentada à Faculdade de Medicina,
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Ciências, com ênfase em Patologia, pelo Programa
de Pós-Graduação em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Barbisan

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Ribeiro Romualdo

Botucatu

2022

Gabriel Bacil Prata

Estabelecimento de modelo murino de esteatohepatite não
alcoólica: tratamento com compostos bioativos de alimentos

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Ciências, com ênfase em Patologia, pelo
Programa de Pós-Graduação em Patologia.

Orientador: Prof. Dr. Luis Fernando Barbisan

Coorientador: Prof. Dr. Guilherme Ribeiro Romualdo

Botucatu

2022

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE-CRB 8/5651

Prata, Gabriel Bacil.

Estabelecimento de modelo murino de esteatohepatite não alcoólica : tratamento com compostos bioativos de alimentos / Gabriel Bacil Prata. - Botucatu, 2022

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: Luís Fernando Barbisan

Coorientador: Guilherme Ribeiro Romualdo

Capes: 40105008

1. Esteatose hepática. 2. Hepatopatia gordurosa não alcoólica. 3. Polifenóis. 4. Brassica.

Palavras-chave: Esteatohepatite não alcoólica; Esteatose hepática; Isotiocianatos; Polifenóis; Vegetais Brassica.

Agradecimentos

Inicialmente, gostaria de agradecer ao Instituto de Biociências de Botucatu (IBB), pela construção e formação oferecida no período 2016-2020, e à Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), na qual finalizo a primeira etapa da minha Pós-Graduação. Dessa forma, gostaria também de agradecer à Universidade Estadual Paulista (UNESP), que por todos esses anos foi minha casa, nos melhores e piores momentos. Aos docentes e servidores que me acompanharam, aconselharam e foram companheiros durante esses anos, minha eterna gratidão. Gostaria também de agradecer à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP, #2020/01944-6) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES, #88887.481152/2020-00) pelo financiamento dos projetos vinculados à dissertação em questão.

Ressalto também a disponibilidade, apoio e dedicação brilhante dos membros e amigos do Laboratório de Carcinogênese Química e Experimental (LCQE), que desde 2017 é a minha casa, em especial aos meus quase irmãos Isadora Penedo de Souza, que me acompanhou até 2020, e Guilherme Ribeiro Romualdo, que continua sendo meu mentor, exemplo e companheiro diário, sem os quais não seria capaz de trilhar essa jornada. Por todos os momentos críticos e divertidos, discussões calorosas e construtivas e levezas da nossa rotina, saiba que sem elas eu não chegaria até esse ponto e, ironicamente, sou eternamente grato por todas elas. Sem dúvidas foram nos momentos difíceis em que pude aprender mais. Aos orientadores e Professores Luís Fernando Barbisan e Guilherme Ribeiro Romualdo, por me abrirem as portas do LCQE em 2017, para a realização da iniciação científica, em 2020, para a realização do meu Mestrado, e novamente em 2022, para a realização do Doutorado, a minha gratidão e admiração. Espero ser digno de levar adiante nossas discussões e contribuir para a formação de outros, tal qual fizeram comigo. Obrigado por acreditarem em mim quando eu mesmo não enxergava potencial. Sem vocês, eu jamais encontraria a rota certa nessa jornada.

Aos meus irmãos da República Põe na Mão de Deus, sem vocês, nada faria sentido. O primeiro passo para fora de casa é sempre o mais crítico, sem a leveza, amizade e carinho de todos (sim, mais velhos e novos) essa trajetória seria impossível. Agradeço em especial ao Renan Augusto Pereira, Marcel Rodrigues Ferreira, Matheus Naville, Luis Eduardo Taguchi, Gustavo Camargo, Thiago Cobra e Monteiro, Marcos Bottaro e Silva e Gabriel Gasparini por me abrirem as portas e me receberem em sua casa. Em especial, aos irmãos Ivan Rossi Moraes, Marcel Rodrigues Ferreira, Thiago Cobra e Monteiro, Renan Augusto Pereira dos Santos e Guilherme Gazolla Santana, que desde 2016/2017 são meus conselheiros, a que sempre estiveram ao meu lado nos momentos de conquista e batalha. Obrigado por todo o carinho, apoio e dedicação, sem vocês nada seria possível. Aos que sempre tentaram me levar para o “mal caminho” universitário, tenham certeza que sem essas festas, confraternizações, e momentos marcantes, a vida em Botucatu não seria a mesma. Espero que as nossas vidas estejam entrelaçadas até o fim.

Aos meus irmãos de longa data João Rafael Peres Prado, Alan Pontes Polverini e Vitor Tramontin Tornello, agradeço a sua amizade e carinho de sempre. Essa conquista não seria viável sem vocês. Espero que logo estejamos novamente juntos e próximos uns dos outros.

Finalmente, gostaria de agradecer aos meus pais Sérvulo do Sacramento Prata e Sandra Maria Bacil, por todos os esforços realizados durante todos estes anos. A sua dedicação incessante e irrestrita para que sejamos capazes de alcançar os nossos sonhos são o combustível que nos mantém nessa jornada. Esse título e todas as demais conquistas também são de vocês. Aos meus avós Roberto Bacil e Eunice de Oliveira Bacil, o ponto de partida da nossa família. Sem vocês, não haveria perspectiva, coragem e portas abertas. A minha eterna gratidão e carinho. O meu sonho seria ter ambos comemorando comigo essa conquista. Em especial, ao meu avô, conselheiro, pai, amigo, espero um dia chegar perto do que você representou para nós todos. Por fim, gostaria de agradecer às duas pessoas mais importantes da minha vida. Agradeço à Gabrielle Rodrigues Domingues, minha companheira e melhor amiga a 10 anos, a fortaleza dos meus

sentimentos e que sempre será o meu porto-seguro. Eu jamais teria conseguido ir além sem o seu carinho e apoio. Obrigado por se preocupar comigo mais do que eu mesmo. Amo você. Enfim, ao meu exemplo desde jovem. Ao meu irmão Raphael Bacil Prata, meu espelho, símbolo de dedicação e competência, companheiro nos melhores e piores momentos, e conselheiro nas demais horas. Por sua causa tive as portas de um laboratório abertas para mim. Sem o seu apoio, dedicação irrestrita, paciência e irmandade eu jamais teria escolhido seguir esse caminho e encontrado a minha paixão na área acadêmica. Amo todos vocês.

Resumo

Atualmente, estima-se que a doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD, do inglês Nonalcoholic Fatty Liver Disease) afeta cerca de 25% da população mundial, enquanto o seu grau mais severo, a esteatohepatite não alcoólica (NASH), afeta 5%. O aumento da prevalência da NAFLD/NASH, por sua vez, acontece em paralelo com o aumento do número de indivíduos com diabetes do tipo II e obesidade, associadas à adesão populacional à dieta ocidental (WD), rica em carboidratos simples e gorduras saturadas, e de hábitos sedentários. No entanto, não existem métodos terapêuticos aprovados pelas agências de saúde governamentais para os pacientes com NAFLD/NASH, assim como é urgente o estabelecimento de modelos experimentais translacionais que recapitule as características da doença correspondente em humanos. Então, foi estabelecido um modelo experimental híbrido de NASH em camundongos C57BL/6J e BALB/c, no qual observamos o aumento do grau *Nonalcoholic fatty liver activity score* (NAS), além de acúmulo de lipídios do parênquima hepático ($p < 0.0001$, em ambos) e fibras colágenas na região centro-lobular ($p < 0.0001$, em ambos), aumento da ativação de células estreladas hepáticas, infiltração de células CD68⁺ ($p < 0.0001$, em ambos) e do número de hepatócitos caspase-3 clivada⁺ ($p < 0.0001$, em ambos). Ademais, ambas as linhagens apresentaram a redução dos níveis proteicos de Nrf2 ($p < 0.0001$, em ambos), enquanto somente os animais C57BL/6J apresentaram o aumento dos níveis de NF- κ B (p65) ($p < 0.0001$), além de um perfil metabólico linhagem-dependente. Nesse contexto, os compostos bioativos dos vegetais da família *Brassicaceae* indol-3-carbinol (I3C) e ácido clorogênico (CGA) foram capazes de reduzir o grau NAS, a ativação de CEH e a infiltração de células CD68⁺ ($p < 0.0001$), além de uma tendência de redução no conteúdo lipídico e acúmulo hepático de fibras de colágeno ($p < 0.0001$).

Summary

Chapter 1 - Are isothiocyanates and polyphenols emerging preventive/therapeutic strategies for NAFLD? The landscape of recent preclinical findings.

Review article in peer-review analysis at the **Food & Function** (I.F.:5.396).

Abstract.....	1
NAFLD: A contemporary disease.....	2
Isothiocyanates and phenolic compounds are preventive/therapeutic options for NAFLD?.....	3
Estimated intake of <i>Brassicaceae</i> vegetables.....	3
Vegetable content and pharmacokinetics of ITC and polyphenols.....	3
Recent <i>in vivo</i> and <i>in vitro</i> findings.....	5
Conclusions.....	7
References.....	8
Figures and tables.....	11

Chapter 2 – Establishment of a murine model of NASH: outcomes in different mice strains.

Abstract.....	20
Introduction.....	21
Materials and methods.....	22
Results	29
Discussion.....	63
Conclusions.....	70
References.....	70

Chapter 3 – Effects of indole-3-carbinol and/or chlorogenic acid on a murine model of NASH: a new preclinical strategy?

Abstract.....	80
Introduction.....	81
Materials and methods.....	82
Results	88
Discussion.....	98
Conclusions.....	103
References.....	103