

**UNIVERSIDADE DO SAGRADO CORAÇÃO**

**AMANDA RINO CONCA**

**LAURA DE OLIVEIRA CARDOSO**

**ESTUDO SOBRE O POTENCIAL HEPATOTÓXICO  
CAUSADO PELO CONSUMO DE SUPLEMENTOS  
ALIMENTARES**

BAURU  
2015

**AMANDA RINO CONCA  
LAURA DE OLIVEIRA CARDOSO**

**ESTUDO SOBRE O POTENCIAL HEPATOTÓXICO  
CAUSADO PELO CONSUMO DE SUPLEMENTOS  
ALIMENTARES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Profa. Dra. Karla Panice Pedro.

BAURU  
2015

C7441e Conca, Amanda Rino

Estudo sobre o potencial hepatotóxico causado pelo consumo de suplementos alimentares / Amanda Rino Conca; Laura de Oliveira Cardoso. -- 2015.  
34f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Karla Panice Pedro.

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) – Universidade do Sagrado Coração – Bauru – SP.

1. Hepatotoxicidade. 2. Suplementos alimentares. 3. Fígado. 4. Herbalife. 5. Obesidade. I. Cardoso, Laura de Oliveira. II. Pedro, Karla Panice. III. Título.

**AMANDA RINO CONCA  
LAURA DE OLIVEIRA CARDOSO**

**ESTUDO SOBRE O POTENCIAL HEPATOTÓXICO CAUSADO PELO  
CONSUMO DE SUPLEMENTOS ALIMENTARES**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao Centro de Ciências da Saúde da Universidade do Sagrado Coração, como parte dos requisitos para obtenção do título de bacharel em Biomedicina, sob orientação da Profa. Dra. Karla Panice Pedro.

Banca Examinadora:

---

Profa. Dra. Karla Panice Pedro  
Universidade do Sagrado Coração

---

Profa. Ma. Marcia Clélia Leite Marcellino  
Universidade do Sagrado Coração

Bauru, 03 de dezembro de 2015.

## **AGRADECIMENTOS**

Primeiramente agradecemos a Deus pela vida e por nos manter com saúde para desenvolver o projeto.

Agradecemos também aos nossos pais Maria Susette Rino Conca, Humberto Conca Neto, Joselaine Aparecida de Oliveira Cardoso e Reinaldo Cardoso, ainda pela tia Regina Celi Rino Silva e avô André Conca da autora Amanda Rino Conca pelo apoio nos momentos mais complicados e por nunca ter nos deixado desistir, por nos fazer pessoas melhores a cada dia, pelo apoio financeiro nesta longa jornada, pela dedicação e todo o amor concedido.

Agradecemos a nossos irmãos Gabriel Rino Conca e Pedro de Oliveira Cardoso pela parceria e paciência.

Agradecemos a nossa excelentíssima e querida orientadora, Profa. Dra. Karla Panice Pedro pela paciência, dedicação e carinho que teve conosco, pela disponibilidade em sempre nos ajudar e por todo aprendizado adquirido nesse tempo de parceria.

Agradecemos aos Professores que de alguma forma colaboraram para que este estudo fosse possível e pela torcida para que tudo desse certo, em especial a Profa. Ma. Marcia Clélia Marcellino, que nos auxiliou no momento mais complicado deste, sempre com muito amor, carinho e paciência, nos acalmando e nos mantendo seguras para a realização dos procedimentos; A Profa. Dra. Eliane Maria Ravasi Stéfano Simionato pela confecção da análise do peso dos animais e apoio sempre; A Profa. Dra. Solange de Oliveira Braga Franzolin pela elaboração da análise estatística. A Profa. Dra. Patricia Pinto Saraiva pela análise histológica e disponibilidade instantânea.

Agradecemos ao pessoal do biotério que sempre nos apoiou e nos passou todo conhecimento sobre os animais.

Agradecemos aos nossos amigos e colegas de sala pelo apoio e incentivo, em especial a Maria Fernanda Silva de Almeida e Larissa Caroliny Bisserra que nos ajudou muito com os animais.

A Marcia Valério Rino e Maria Sarah Conca primas da autora Amanda Rino Conca, que auxiliaram no manejo dos animais.

## RESUMO

Cerca de 2,1 bilhões de pessoas do mundo são obesas, aproximadamente 30% da população mundial. Por esse motivo a organização mundial da saúde (OMS, 2013) já considera essa como a doença epidêmica do século XXI. A má alimentação associada à falta de exercício é o grande problema, causados muitas vezes pela falta de tempo. Então em busca do corpo perfeito, essas pessoas se submetem a dietas “milagrosas”, encontrando a solução dos seus problemas nos alimentos prontos, que fornecem uma refeição incompleta, então para isso acabam submetendo-se a dietas a base de suplementos alimentares que se dividem em vários subgrupos, sendo os mais utilizados para ganhar ou perder peso. Os suplementos alimentares quando indicados e consumidos adequadamente proporcionam resultados positivos para o corpo, mas é preciso ficar atento para que não tenha excessos, já que podem causar danos ao organismo, por exemplo, danos ao fígado. A hepatotoxicidade em alguns produtos naturais já foi provada como, por exemplo, o chá verde, que quando consumido em excesso causa danos. Baseado nisso, o presente projeto visa associar os danos ao fígado com o uso do suplemento alimentar do tipo Shake da marca Herbalife®. Foram utilizados, ratos heterogênicos da linhagem Wistar, com dois meses de vida, além de se alimentarem com ração, receberam uma vez ao dia o suplemento alimentar do tipo shake da marca Herbalife®. Foram realizados exames bioquímicos para marcadores renais (ureia e creatinina) e também enzimas hepáticas (TGO e TGP). Foi feito também biopsia de fígado para análise histológica de tecido hepático.

**Palavras-chave:** Obesidade. Suplementos alimentares. Herbalife®. Hepatotoxicidade. Fígado.

## ABSTRACT

About 2.1 billion people in the world are obese, approximately 30% of world population. For this reason the World Health Organization (WHO, 2013) already considers this as the epidemic disease of the XXI century. A poor diet associated with lack of exercise is the big problem, often caused by lack of time. So in search of the perfect body, these people submit themselves "miracle" diets, finding the solution of their problems in foods ready to eat, which provides an incomplete meal, then they do are submit themselves diets combined with food supplements that divide into several subgroups, it is frequently used to gain or lose weight. Food supplements when indicated and consumed properly provide positive results for the body, but we must be careful to don't exceed, because they can damage the body, such as injury liver. The hepatotoxicity in some natural products has been proved, for example, green tea, when consumed in excess can induce damage. Based in it, this project wish to connect the injury liver with use the food supplement Shake kind of Herbalife® brand. Were used, heterogenic rats Wistar, two months old, besides to feed with rats food, received once a day food supplement Shake kind of Herbalife® brand. Biochemical tests were realized for kidney markers (urea and creatinine) as well as liver enzymes (AST and ALT). It was also made liver biopsy for histological analysis of liver tissue.

**Keywords:** Obesity. Food supplements. Herbalife®. Hepatotoxicity. Liver.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ratos alojados nas gaiolas .....	14
Figura 2 - Cinco fêmeas alojadas.....	14
Figura 3 - Herbalife sendo.....	15
Figura 4 - Shake sendo pesado em .....	16
Figura 5 – Rato controle.....	16
Figura 6 – Soro dos animais já centrifugado e separado .....	17
Figura 7 - Fígado retirado colocado .....	18
Figura 8 – Evolução do peso médio dos animais.....	19
Figura 9 – Ureia do grupo controle e grupo teste .....	21
Figura 10 – Creatinina do grupo teste (1) e grupo controle (2) comparado com o valor de referência.....	22
Figura 11- Grupo controle (1) e grupo teste (2) comparado com o valor de referência para TGP.....	22
Figura 12 - Grupo controle (1) e grupo teste (2) comparado com o valor de referência para TGO .....	23
Figura 13 - Histologia de tecido hepático Controle. Coloração com HE em aumento de 4x.....	24
Figura 14 - Histologia de tecido hepático Controle. Coloração.....	25
Figura 15 - Histologia de tecido hepático Controle. Coloração.....	25
Figura 16 - Histologia de tecido hepático teste. Coloração HE em aumento de 4x teste fêmea (A) e teste macho (B).....	26
Figura 17 - Histologia de tecido hepático teste. Coloração HE, aumento de 20x.....	26



## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>13</b>
2.1 Objetivo Geral.....	13
2.2 Objetivo Específico .....	13
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>13</b>
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÕES.....</b>	<b>19</b>
<b>5 CONCLUSÃO .....</b>	<b>27</b>
<b>ANEXO.....</b>	<b>29</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>30</b>

## 1 INTRODUÇÃO

O estilo de vida moderno dificulta a ingestão de uma refeição completa, com todos os nutrientes necessários, o que pode causar problemas de saúde. (REBELLO et al., 2013).

Em um mundo totalmente modernizado e industrializado, fica cada vez mais difícil manter uma alimentação saudável, é possível observar alterações nos processos de produção alimentícia, o que gera um aumento no consumo de alimentos ricos em proteínas e gorduras e com falta de carboidratos, prova disso é o grande número de pessoas obesas. (PEREIRA et al., 2003).

A obesidade indica um excesso de gordura corporal, sendo estabelecida com base na idade, sexo, superfície corporal e altura. É causada normalmente por excesso de alimentação, ou como consequência de outras doenças, (SCHEMMEL, 1997), mas que também pode ser influenciada por familiares, devido aos hábitos culturais e alimentares. (NEGRÃO et al., 2000). Ela acontece quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto. (PEREIRA et al., 2003). Pela característica de doença multifatorial o controle de cada variável envolvida na etiologia dessa fica impossível. (PASTORE et al., 2010).

Segundo a OMS (2013), a obesidade é uma doença tão preocupante quanto à desnutrição, uma vez que aumenta em grande escala o risco de aparecimento e/ou desenvolvimento de outras doenças, tais como hipertensão, doenças cardiovasculares e diabetes tipo II. A cada dia percebe-se que os dados da OMS se confirmam, pois 2,1 bilhões de pessoas são obesas, o que representa quase 32% da população mundial com sobre peso, sendo 25% casos mais graves. (PORTAL DO DEPARTAMENTO DE ATENÇÃO BÁSICA, 1989).

Negrão et al. (2000), afirmam que a prática regular de exercício físico que como consequência evita o ganho de peso pode diminuir consideravelmente outros fatores de risco, e esta condição é melhorada se for associada com uma dieta hipocalórica. O aumento da obesidade acontece paralelamente com a redução na prática de atividade física e com o aumento no sedentarismo. (PEREIRA et al., 2003).

Uma justificativa para esse aumento no sedentarismo seria a diminuição no gasto de energia provocado pela modernização com transporte motorizado e equipamentos mecanizados, brincadeiras infantis que diminuem o esforço físico. Por este motivo, o sedentarismo e os hábitos nutricionais parecem representar o principal fator de risco no desenvolvimento da obesidade mundial. (PEREIRA et al., 2003).

Esse estilo de vida moderno acaba levando os consumidores a buscarem cada vez mais, alimentos prontos, ricos em gorduras saturadas e açúcares e pobres de fibras, minerais e vitaminas. (ANDRADE, 2007). Então, em busca de compensar a dieta inadequada, do corpo ideal, ou para aumentar imunidade e prevenir doenças, esses consumidores acabam consumindo suplementos alimentares. (ALVES; LIMA, 2008).

Suplementos alimentares são componentes dietéticos que normalmente encontramos na alimentação, são macro e micronutrientes, mas ao contrário da fonte alimentar, o suplemento oferece somente o nutriente desejado sem os adicionais inconvenientes. A suplementação pode ser dividida em alguns grupos principais que produzem efeitos específicos, como aumento de massa muscular, diminuição de massa gorda ou ambos. Os principais grupos são: suplementos vitamínicos e minerais, energizantes, reidratantes, proteicos, produtos com todos os aminoácidos, BCAA (aminoácido de cadeia ramificada), ornitina e arginina, hipercalóricos, metabolizadores de gordura, produtos à base de fibra e produtos à base de ervas e fitoterápicos. (FETT, 2002).

Estes suplementos são considerados inofensivos, mas com seu uso indiscriminado podem levar a reações adversas significativas. (ELINAV et al., 2007). Se utilizados em baixas quantidades, talvez não ocorram os resultados desejados, o que faz com que essas concentrações sejam aumentadas, podendo causar uma intoxicação. (RIGOTTI, 2010). Os efeitos de várias substâncias, fármacos ou não, são acumulados no fígado durante toda a vida de um organismo, podendo causar danos a sistemas biológicos, alterações deletérias em lipídios, proteínas e ácido desoxirribonucleico (DNA). (PAIS, 2012).

O fígado metaboliza grande número desses suplementos, estando assim sujeito à toxicidade induzida por eles. (MALLA et al., 2012). Essa ocorre por ação direta ou de forma idiossincrásica e inesperada, constituindo um problema clínico importante, podendo levar a falência hepática, com consequências fatais, ou requerer transplante de urgência. (AGOLLO et al., 2014).

O fígado é um órgão bastante vascularizado, por ele passa 70% do fluxo sanguíneo, pesa 1/50 do peso total do organismo adulto e 1/18 do peso do recém-nascido. (MENDES, 1975). É o principal órgão envolvido no metabolismo e na eliminação de substâncias, trabalhando em conjunto com a árvore biliar e a vesícula biliar. (COTRAN et al., 2000). A maioria das proteínas plasmáticas são sintetizada no fígado, um exemplo delas é a albumina, que compreende 60% das proteínas presentes no plasma humano e é exclusivamente sintetizada pelo mesmo. (MOTTA, 2010). É função também do fígado a desintoxicação que é feita separando-se as moléculas que estão ligadas as proteínas. O sangue penetra no fígado pela veia porta e flui para a veia central, já a bile é secretada dos hepatócitos e flui na direção oposta, criando assim um contra fluxo, semelhante à excreção da urina pelo rim. (DEMERS; SHAW, 1987).

Embora o metabolismo das gorduras e carboidratos ocorra em quase todas as células do organismo e grande parte no fígado, o organismo pode sobreviver sem muitas dessas funções, mas no metabolismo proteico isso não seria possível por mais de alguns dias, pois este tem funções básicas que incluem desaminação dos aminoácidos para serem utilizados na produção de energia ou para que possam ser convertidos em carboidratos; formação de uréia para a remoção da amônia dos líquidos corporais, com a ausência dessa função hepática resultaria em uma concentração plasmática de amônia rapidamente aumentada e como consequência levaria o indivíduo a coma hepático e morte; formação de praticamente todas as proteínas plasmáticas (exceto parte das gama globulinas) pelas células hepáticas e interconversões entre os diferentes aminoácidos e outros compostos importantes para os

processos metabólicos do organismo sendo essa a função mais importante. (GUYTON, 1973).

O volume parenquimatoso do fígado é composto 80% por hepatócitos que são as células funcionais, o citoplasma dessas apresenta-se ocupado por diferentes organelas tais como mitocôndrias, peroxissomos, complexo de Golgi, entre outras. As agressões exercidas sobre o fígado podem determinar problemas no conteúdo da água e no controle de volume das mitocôndrias, interferindo na participação iônica, bem como na fosforilação oxidativa, mecanismo que visa conservação da energia pela célula. (SILVA; D'ALBUQUERQUE, 1986).

Segundo Grattagliano et al. (2009), os hepatócitos reagem à agressão tóxica pela ativação de mecanismos de defesa que incluem hipertrofia do retículo endoplasmático; indução de sistemas de proteção de glutathione (GSH) e síntese de choque térmico de proteínas de fase aguda. Outra forma de reação pode ocorrer na sequência do dano vascular como consequência da obstrução da veia centro lobular. Quando o ferimento afeta a manutenção de células de programas funcionais, os hepatócitos sofrem apoptose, limitando deste modo a extensão da lesão.

Um dos principais fatores de risco para a hepatotoxicidade é a idade do paciente. O aumento da proporção de pessoas em idade avançada que apresentam lesões no fígado está relacionado ao uso frequente de anti-inflamatórios não esteroides, utilizadas principalmente para doenças músculo esqueléticas da velhice. Além disso, indica uma maior prevalência em mulheres, pessoas com doença hepática grave pré-existente e interações medicamentosas com outros fármacos. (ARAÚJO, 2012).

O diagnóstico das doenças hepáticas baseia-se na soma de vários dados obtidos através da análise da história clínica, exames físicos e avaliação dos exames laboratoriais. (SILVA; D'ALBUQUERQUE, 1986). A toxicidade hepática induzida por medicamentos pode ser dividida em três tipos: hepatocelular (indicada pelas taxas Transaminase Glutâmico pirúvica - TGP); colestática (indicada pela atividade sérica da fosfatase alcalina) e mista (envolvendo taxas de TGP e fosfatase alcalina). A toxicidade hepatocelular é a

mais frequente, pois se manifesta de forma aguda, enquanto que as do tipo colestática e mista desenvolvem com mais frequência doença crônica. (TAJIRI, 2008).

Agentes à base de plantas são conhecidos como seguros porque são supostamente "naturais" (SCHOEPFER et al., 2007), porém em uma pesquisa realizada na Islândia sobre reações adversas relacionadas aos medicamentos à base de plantas, os produtos da Herbalife® foram citados na maioria dos relatos de hepatotoxicidade. (JÓHANNSSON et al., 2010).

A empresa Herbalife® se identifica como uma empresa de nutrição atuante na área de comercialização de suplementos alimentares e cuidados pessoais para um estilo de vida saudável. Sendo um dos produtos mais utilizados, o suplemento alimentar do tipo Shake é um produto à base de vitaminas, minerais e aminoácidos e tem como principal objetivo o auxílio na perda de peso, atuando também na manutenção e aumento de massa magra. Segundo nutricionistas da empresa, o produto oferecido tem as proporções corretas de nutrientes de uma refeição ideal, porém com menos calorias, por isso é indicado para a substituição da mesma, além de ser uma fonte de energia para atividades físicas diárias. (SCHOEPFER et al., 2007).

Em 2004, dois relatos de doze e dez casos de doença hepática idiopática em Israel e Suíça, respectivamente, foram descritos em artigos de uma mesma revista, junto a um editorial de acompanhamento que demonstrou que os casos estavam relacionados ao consumo de produtos Herbalife®, solicitando assim melhores investigações. A idade média dos pacientes foi de 51 anos (variação 30-69) e o período de latência para início dos sintomas foi de 5 meses. A biópsia hepática mostrou necrose hepática, marcados linfocíticos, infiltração eosinofílica e colestase em cinco pacientes. (IGNARRO et al., 2008).

Segundo recentes estudos de Mengual-Moreno et al. (2015) baseados na escala de CIOMS/RUCAM, que classifica os casos de hepatotoxicidade como possíveis, prováveis ou altamente prováveis, mostrou que o consumo de produtos Herbalife® é associado como altamente provável, na causalidade e letalidade hepática em uma pesquisa entre dezembro de 2012 a dezembro de 2013 no Hospital Universitário do estado Zulia, Venezuela.

À primeira vista, esses poucos casos representam uma baixíssima incidência de suspeita de lesão hepática entre os milhões de consumidores em todo o mundo Herbalife® (SCHOEPFER et al., 2007), necessitando assim maiores estudos para possível correlação entre o produto e o dano causado.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

Investigar os efeitos hepatotóxicos do uso de suplementos alimentares do tipo Shake da marca Herbalife®, em ratos Wistar.

### **2.2 Objetivo Específico**

- a) analisar resultados dos testes séricos enzimas hepáticas (transaminase glutâmico oxalacética (TGO) e transaminase glutâmico pirúvica (TGP)) e marcadores renais (ureia e creatinina) dos ratos após uso de suplemento alimentar do tipo Shake da marca Herbalife®;
- b) realizar análise histológica descritiva do tecido hepático.

## **3 MATERIAL E MÉTODOS**

O estudo envolveu vinte e oito ratos adultos, heterogêneos da linhagem Wistar, uma linhagem albina da espécie *Rattus norvegicus*, com dois meses de vida e peso médio de 200 g a 300 g, fornecidos pelo biotério central da Universidade do Sagrado Coração. Os procedimentos realizados foram de acordo com os princípios éticos na experimentação animal adotado pelo colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), uma vez que o

projeto foi avaliado e aprovado pela Comissão de Ética para o uso de Animais (CEUA) da USC, com protocolo de aprovação número 05/15 (anexo).

Todos os animais foram alimentados com ração da marca Presence® para ratos e camundongos e água, disponibilizadas pelo biotério e que ficavam disponíveis vinte e quatro horas por dia, conforme descritos no protocolo de tratamento. Estes foram divididos em dois grupos: controle e teste.

O grupo teste foi composto por vinte ratos, sendo eles dez machos que ficaram alojados em quatro gaiolas com maravalha, sendo que duas delas ficavam com três animais e as outras duas acomodavam dois ratos cada, e dez fêmeas que eram acomodadas em duas gaiolas com maravalha, sendo que cada uma acomodava cinco animais (Figuras 1 e 2).

Figura 1 - Ratos alojados nas gaiolas



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Figura 2 - Cinco fêmeas alojadas



Fonte: Elaborada pelas autoras.



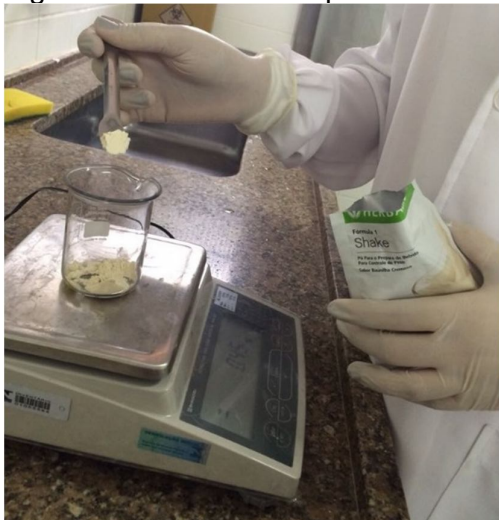
Este grupo foi alimentado durante quarenta e dois dias contínuos, incluindo finais de semana e feriados, com suplemento alimentar do tipo Shake da marca Herbalife® sabor baunilha (Figura 3), o que foi equivalente a 3,04 anos de uso do suplemento por um ser humano. (ANDREOLLO et al., 2012). Uma vez ao dia através de gavagem própria para tal procedimento e com seringa de três mL, cada animal recebia uma mistura contendo 0,074 g (Figura 4) do suplemento (pesados em balança semi-analítica da marca Marte AL500), diluídas em 0,711 mL de água (relação entre o peso médio dos ratos e um adulto de 70 kg que consome o produto de acordo com orientação do fabricante).

Figura 3 - Herbalife sendo administrado em rato teste



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Figura 4 - Shake sendo pesado em balança semi-analítica



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Já o grupo controle foi composto por cinco fêmeas e três machos, que também foram submetidos à gavagem uma vez ao dia, porém contendo apenas água para posterior comparação de efeitos adversos (Figura 5).

Figura 5 – Rato controle recebendo água por gavagem



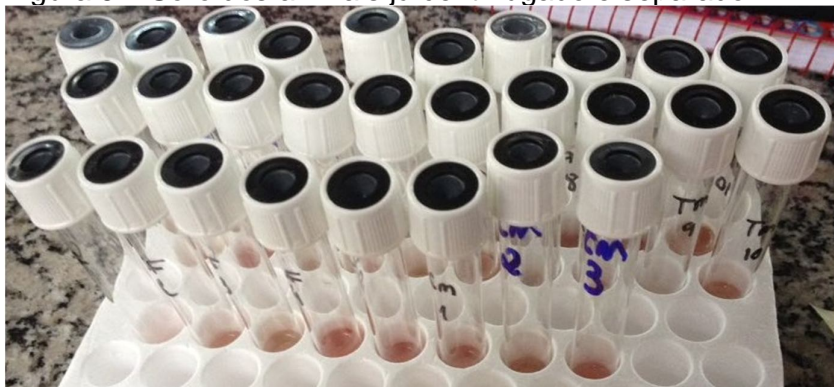
Fonte: Elaborada pelas autoras.

No decorrer de toda a pesquisa, os animais tanto do grupo controle como do grupo teste, foram pesados uma vez na semana em balança semi-analítica da marca BL3200H.

Após quarenta e dois dias do início da pesquisa, os animais foram eutanasiados. Primeiramente foram anestesiados com Cloridrato de Ketamina (75-100 mg/kg) juntamente com o relaxante muscular Cloridrato de Xilazina (5-10 mg/kg), em seguida, os animais foram colocados em placa de parafina em decúbito dorsal, onde foi feito um corte longitudinal com início na região caudal até a altura das costelas.

Realizou-se uma punção cardíaca com uma seringa de cinco mililitros e uma agulha 25x7 retirando assim a quantidade necessária de sangue do animal (Figura 6) para a realização dos testes bioquímicos para a análise das enzimas hepáticas (TGO e TGP) e análise funcional do rim (creatinina e ureia).

Figura 6 – Soro dos animais já centrifugado e separado



Fonte: Elaborada pelas autoras.

O lobo inferior do fígado foi retirado, colocado em um recipiente contendo mais ou menos 20 mL de formol a 10% (Figura 7) e encaminhados para o laboratório de histologia da Universidade do Sagrado Coração para a realização de lâminas e posterior análise da biópsia.

Figura 7 - Fígado retirado colocado no formol



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Para os testes bioquímicos de TGO e TGP foram utilizados respectivamente os kits comerciais de transaminase oxalacética e transaminase pirúvica, da marca Labtest que utiliza o método cinético de tempo fixo e medição de ponto final por Reitman e Frankel (aplicação manual).

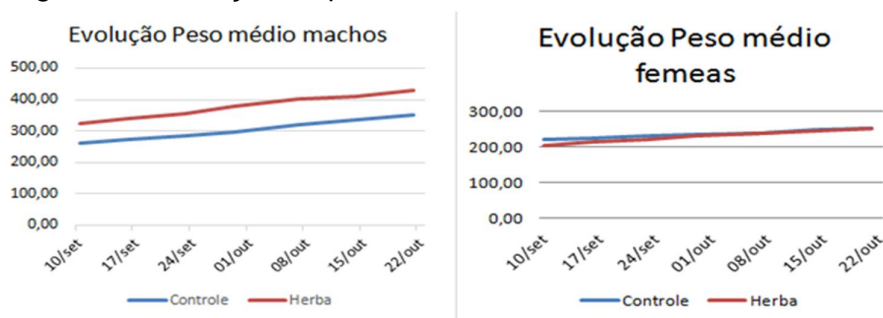
Para a análise de Ureia foi utilizado o kit comercial Ureia UV liquiform da marca Labtest que utiliza o método enzimático UV de fotometria em ultravioleta usando cinética de dois pontos tempo fixo (aplicação manual). Para a análise de Creatinina foi utilizado o kit comercial Creatinina da marca Labtest que utiliza o sistema colorimétrico para a determinação por reação de ponto final (aplicação manual).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

Foram utilizados quatro parâmetros bioquímicos para demonstrar os resultados séricos após a intervenção feita com o produto Shake da marca Herbalife®, sendo eles as enzimas hepáticas Transaminase Glutâmico-Oxalacética (TGO) e Transaminase Glutâmica Pirúvica (TGP) e dois parâmetros renais, ureia e creatinina. Os animais também foram pesados semanalmente para avaliar possível alteração significativa em seus pesos.

Os machos do grupo controle (CM) obtiveram ganho médio de peso de 87,87 gramas e as fêmeas do mesmo grupo (CF) o aumento médio foi de 32,23 gramas. Já os machos do grupo teste (TM) o ganho médio foi de 105,41 gramas e das fêmeas (TF) foi de 46,42 gramas durante os quarenta e dois dias de teste. Foi feita uma análise comparativa entre os grupos teste e controle e foi possível perceber uma diferença entre o ganho de peso, como mostrado nos gráficos a seguir (Figura 8).

Figura 8 – Evolução do peso médio dos animais



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Atualmente o complemento alimentar do tipo Shake da marca Herbalife® é utilizado no tratamento da obesidade e sobrepeso, mas segundo Garcia et al. (2010), a perda de peso não significa, necessariamente, que esse seja massa adiposa, possivelmente a redução do peso corpóreo está associada à degradação de proteínas musculares, que são indiretamente observadas pelos níveis de ureia séricos, já que a degradação de aminoácidos decorrentes da hidrólise de proteínas gera aumento de ureia pelo tecido hepático.

No presente estudo as cobaias não foram privadas de sua alimentação, sendo assim em conjunto com o suplemento eram ingeridas a mesma quantidade de calorias diárias. Segundo a indicação de uso do fabricante, o complemento alimentar do tipo Shake do Herbalife® em uso concomitante a uma dieta rica em calorias tem a função de ganho de massa magra, foi observado durante a eutanásia dos ratos do grupo teste (machos e fêmeas) que além do ganho de peso houve uma formação de gordura intra-abdominal ou gordura visceral ocupando toda região abdominal em todos os animais do grupo teste.

A gordura visceral é a quantidade de gordura localizada na região intra-abdominal e cada vez mais utilizada como um fator pré disponível ao risco metabólico e cardiovascular. (PITANGA et al., 2012). Estudos mostram também associação com alguns tipos de câncer. (VASQUES et al., 2010).

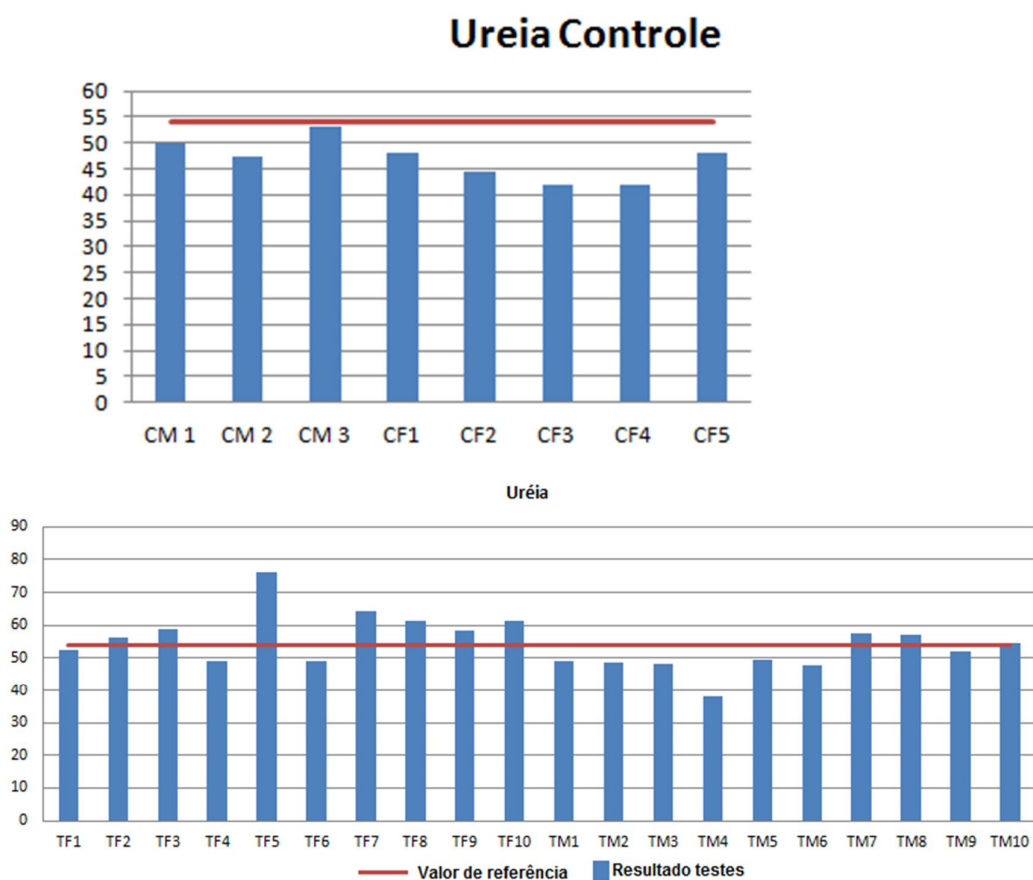
O tecido adiposo secreta fatores denominados adipocinas, na obesidade os depósitos de gordura estão aumentados, sendo assim a expressão e secreção das adipocinas também aumentam, de modo geral, o tecido adiposo visceral é o mais sensível à lipólise, (HERMSDORFF et al., 2004), ou seja as células de gordura visceral possuem taxas mais altas de lipólise do que as células de gordura subcutânea, (SINAIKO, 2007), além disso, secreta maiores concentrações de adipocinas ligadas a processos pró-inflamatórios. (HERMSDORFF et al., 2004). Exercícios físicos elevam as secreções hormonais, sendo assim, oxidam essa gordura, durante o movimento corporal ocorre o efeito lipolítico por conta da liberação de catecolaminas, então altas taxas de lipólise na região abdominal acontecem, ocorrendo perda significativa dessa gordura. (CESÁRIO; NAVARRO 2008).

A ureia e a creatinina sérica são dois marcadores que indicam, quando elevadas, lesão renal, mas a ureia vem do metabolismo hepático dos aminoácidos da ingesta alimentar, e é excretada pelo rim; já a creatinina é em sua maioria produzida pelo organismo, sendo derivada do metabolismo da creatina, filtrada e excretada pelos rins, desta forma a creatinina é um indicador mais fiel da função renal, (BRITO et al., 2005), mas essa não deve ser usada isoladamente para avaliação do ritmo de filtração glomerular ou para detectar a

presença de doença renal crônica, pois seu resultado tem interferência por fatores como idade, sexo, raça, dieta, massa muscular, drogas e métodos analíticos laboratoriais, desta forma a ureia auxilia para fechar o diagnóstico de doenças renais. (LABTEST DIAGNÓSTICA S.A. 2009).

No grupo teste a ureia sérica alterou-se em 7 das 10 fêmeas e em 2 dos 10 machos como mostrado no gráfico (Figura 9) e não se alterou em nenhum animal do grupo controle.

Figura 9 – Ureia do grupo controle e grupo teste



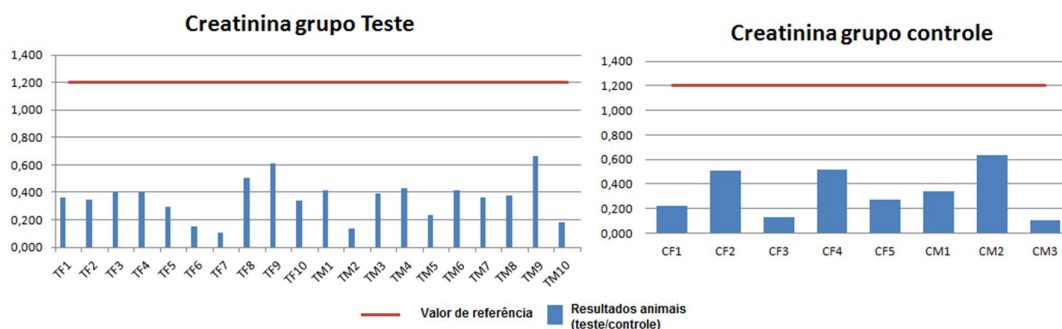
Fonte: Elaborado pelas autoras.

Nota: Valores baseado em LAPCHIK et al 2010.

Foi feito a creatinina sérica para confirmar, pois a alteração deste parâmetro seria indicativo de lesão renal, no entanto este parâmetro, tanto no

grupo teste quanto no grupo controle, manteve dentro do valor de referência 0,24 – 1,20 mg/dL (LIMA et al., 2014), conforme indicado na Figura 10.

Figura 10 – Creatinina do grupo teste (1) e grupo controle (2) comparado com o valor de referência

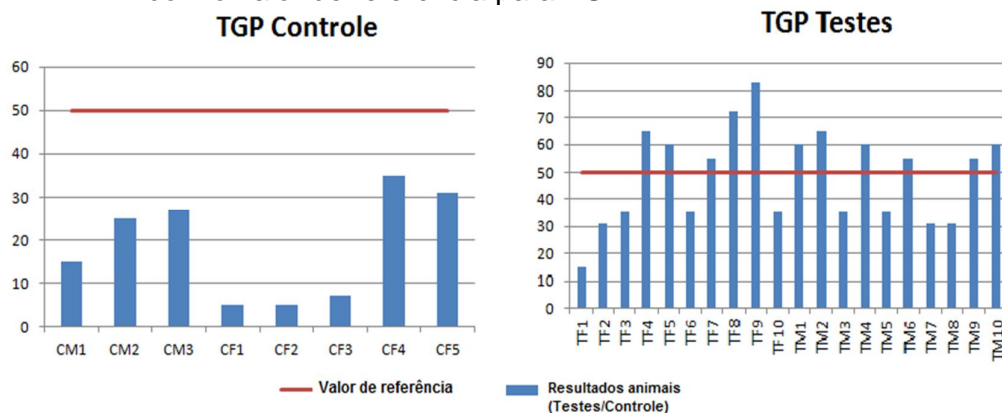


Fonte: Elaborado pelas autoras.

Os parâmetros renais mostraram então que embora há alteração da ureia em alguns animais, a creatinina não confirma os resultados para uma lesão renal, segundo Labtest Diagnóstica S.A., a ureia pode estar elevada por conta de dieta hiperprotéica.

Na avaliação da enzima hepática TGP observou-se a alteração em 5 das 10 fêmeas e 6 dos 10 machos do grupo teste, não houve alteração em nenhum dos animais do grupo controle, segundo os parâmetros de Lapchik et al. (2010), conforme demonstrado na Figura 11.

Figura 11- Grupo controle (1) e grupo teste (2) comparado com o valor de referência para TGP

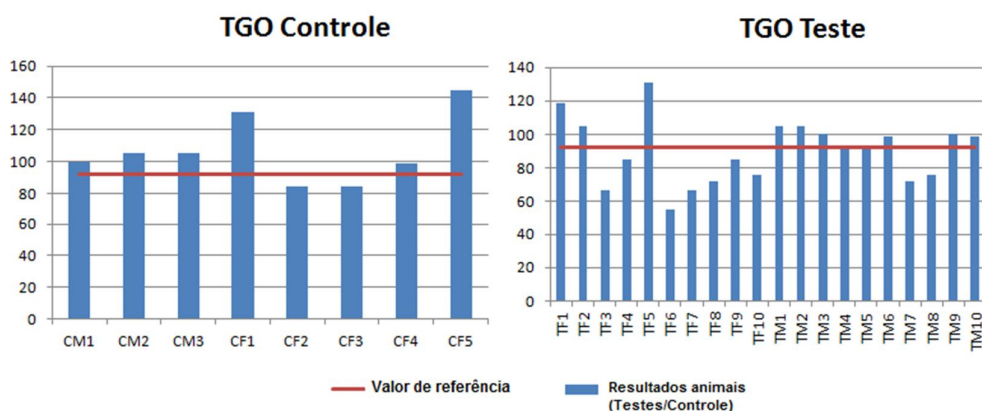


Fonte: Elaborado pelas autoras.



Na avaliação da enzima hepática TGO observou-se a alteração em 3 animais de TF e 6 animais de TM. Mas no grupo controle a enzima também alterou em todos os animais de CM e em 3 dos animais em CF, segundo os parâmetros de Lapchik et al. (2010) conforme demonstrado na Figura 12. Sendo assim essa alteração não pode ser associada com a ingestão do suplemento alimentar do tipo Shake da marca Herbalife®, já que mesmo não sendo administrado no grupo controle a enzima se alterou.

Figura 12 - Grupo controle (1) e grupo teste (2) comparado com o valor de referência para TGO



Fonte: Elaborado pelas autoras.

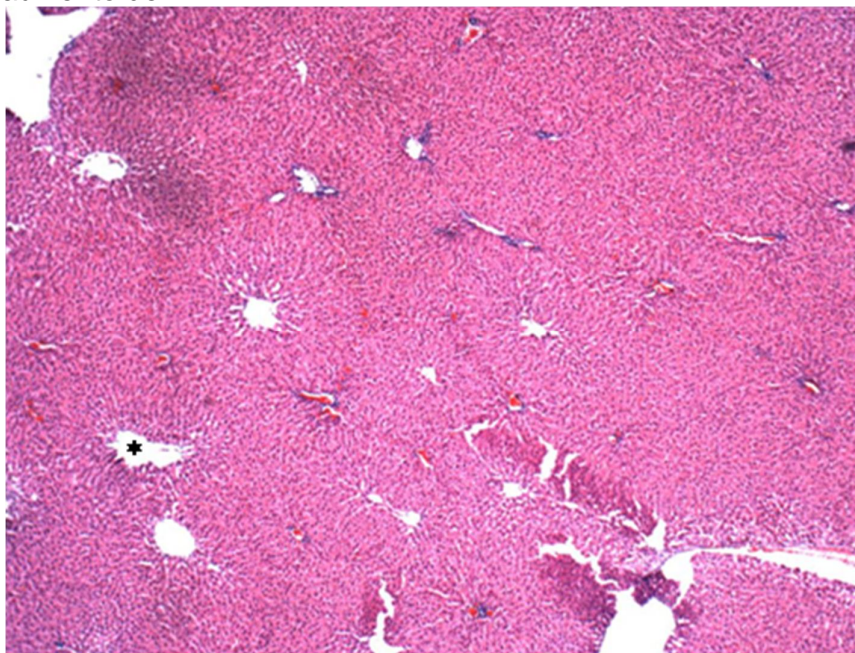
Segundo a empresa fabricante do kit utilizado para realização dos testes Labtest Diagnóstica S.A, (2009), as alterações das transaminases, tanto de TGO quanto de TGP, ocorrem nas hepatites virais e tóxicas, cirrose, colestase, carcinoma hepático primário ou metastático.

A TGO está presente no fígado, miocárdio, músculos esqueléticos, rins e pâncreas, caso qualquer dos tecidos mencionados tenha um dano celular este nível sérico se eleva. Quando relacionado ao fígado estão muito elevados independente da causa podendo ser agudo ou crônico.

O nível de TGP quando elevado é um marcador mais específico no caso de dano hepático como sugerido por MINCIS e MINCIS (2006),segundo QUARESMA et. al,(2007) as elevações dessa enzima acompanham o dano hepatocelular agudo,sendo o primeiro a se elevar nesse caso.

A histologia de tecido hepático confirmou que não houve nenhum dano ao fígado, os hepatócitos se mostraram íntegros com os núcleos inteiros e ausência de qualquer lesão, infiltração ou acúmulo de gordura (Figuras 13 a 17).

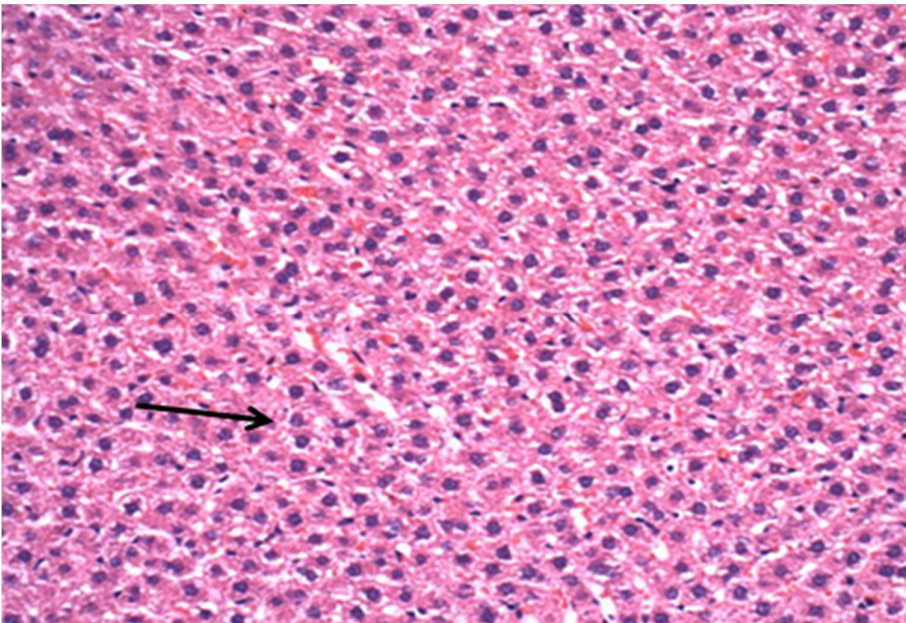
Figura 13 - Histologia de tecido hepático Controle. Coloração com HE em aumento de 4x



Fonte: Elaborada pelas autoras

Nota: Característica de normalidade da estrutura hepática, mostrando ausência de gordura e estrutura de veias entre as células (\*).

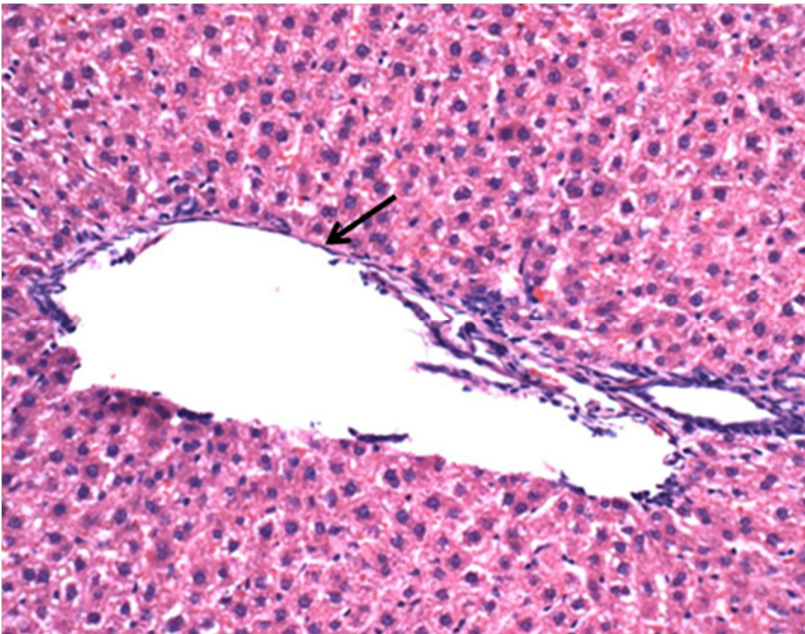
Figura 14 - Histologia de tecido hepático Controle. Coloração com HE em aumento de 20x



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Nota: Cordões de hepatócitos (seta) apresentando característica de normalidade.

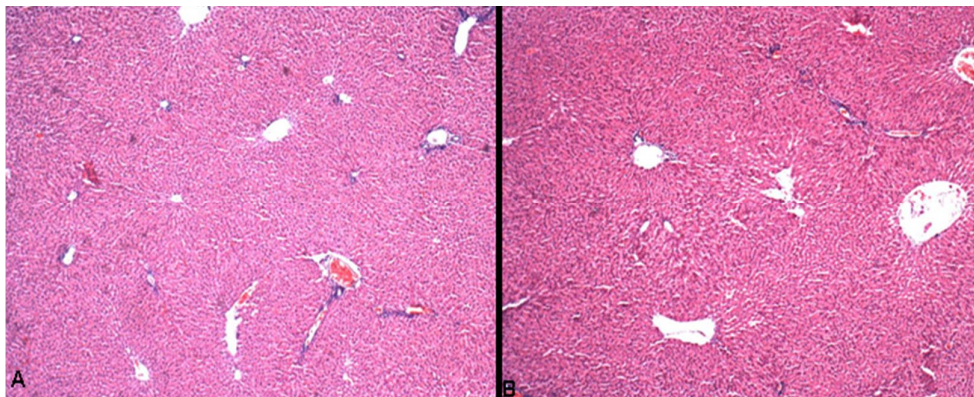
Figura 15 - Histologia de tecido hepático Controle. Coloração com HE em aumento de 20x



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Nota: Estrutura da veia hepática central a um dos hexágonos hepáticos, apresentando revestimento epitelial preservado (seta).

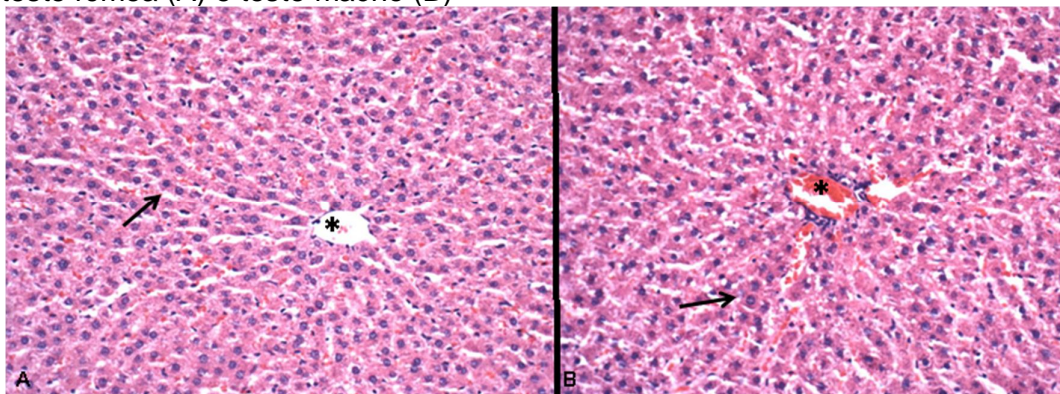
Figura 16 - Histologia de tecido hepático teste. Coloração HE em aumento de 4x teste fêmea (A) e teste macho (B)



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Nota: Manutenção das características de normalidade do fígado, com ausência de tecido gorduroso.

Figura 17 - Histologia de tecido hepático teste. Coloração HE, aumento de 20x teste fêmea (A) e teste macho (B)



Fonte: Elaborada pelas autoras.

Nota: Cordões de hepatócitos, com núcleo centralizado e manutenção do contorno celular (seta). Veia hepática (\*) com características de normalidade.

## 5 CONCLUSÃO

De forma geral, podemos concluir que administrado durante 42 dias consecutivos na concentração de 0,074 g diluídos em 0,711 mL de água, o suplemento alimentar do tipo Shake da marca Herbalife® sabor baunilha cremoso não mostrou relação com uma hepatopatia, embora as enzimas hepáticas estejam alteradas em alguns casos, não se alteraram em conjunto. A análise histológica do tecido hepático não mostrou nenhuma alteração quando comparadas com valores de normalidade e com os animais do grupo controle.

Observamos um acúmulo de gordura visceral abdominal nos animais do grupo teste e relacionamos essa gordura com a falta do exercício físico, esse teria como função a oxidação através das catecolaminas liberadas pelo movimento o que causa grande lipólise nessa região. Os animais do grupo controle não tiveram esse parâmetro alterado, desta forma relacionamos o acúmulo da gordura com o consumo do produto em conjunto com a falta do exercício físico.

Tanto os ratos teste quanto os controles não adquiriram uma disfunção renal, o que foi confirmado através dos exames de ureia e creatinina, com os resultados dentro dos valores estabelecidos como normalidade. Mas foi observada uma alteração na maioria das fêmeas do grupo teste e em alguns machos do mesmo grupo nos resultados dos exames de ureia, o que pode indicar um excesso de ingestão de proteínas. Mesmo com essas alterações, não podemos afirmar uma insuficiência renal, já que os valores da creatinina estavam todos de acordo com o padrão, sendo esse o parâmetro indicado para concluir o diagnóstico da mesma.

Como alguns parâmetros se alteraram, mas não a ponto de causar uma hepatotoxicidade, seria preciso estudos complementares com um período de administração do suplemento mais prolongado, alteração na quantidade de produto ao dia para causar um uso mais crônico com o objetivo de emagrecimento e até mesmo os deixando em restrição alimentar antes e depois do consumo do Shake, conforme indicado pelo fabricante do mesmo

com o intuito de confirmar as alterações que foram observadas no presente estudo.

O ideal seria dividi-los em três grupos, sendo: um grupo controle com administração de água apenas, e dois grupos testes, um deles apenas ingere o suplemento e o outro além de ingeri-lo associa a prática atividade física para observar a diminuição na diferença do peso e da gordura visceral abdominal, confirmando assim o que foi relatado neste estudo.

## ANEXO



**PRPPG**  
Pró-Reitoria  
de Pesquisa e  
Pós-Graduação

### COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS CEUA - USC

### CERTIFICADO

PROTOCOLO N° 05/15

A CEUA USC dentro de suas competências e seguindo normas vigentes no Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal - CONCEA analisou o projeto "Estudo sobre o potencial hepatológico causado pelo consumo excessivo de suplementos alimentares", sob a responsabilidade da pesquisadora Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Karla Panice Pedro e o considerou APROVADO com as seguintes recomendações.

- 1- Corrigir no formulário a dose do cloridato de ketamina, pois consta a dose de 100g e o recomendado é de 75 a 100mg/kg.
- 2- Corrigir no formulário e no projeto a dose do cloridato de xilazina, pois as doses mencionadas são de 100g (no formulário) e 5 a 10mg/kg (no projeto). A dose recomendada é de 100mg/kg.

Especie: Ratos Wistar

N: 30

Bauru, 15 de abril de 2015.



Dra. Dulce H. J. Constantino  
Presidente CEUA - USC



Francine Souza  
Secretária CEUA - USC

## REFERÊNCIAS

- AGOLLO, M. C. et al. Hypericum perforatum-induced hepatotoxicity with possible association with copaiba (*Copaifera langsdorffii* Desf): case report. **Einstein (São Paulo)**, São Paulo, v. 12, n. 3, p. 355-357, 2014. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/eins/v12n3/1679-4508-eins-12-3-1679-45082014RC2953.pdf>>. Acesso em: 20 mai. 2015.
- ALVES, C.; LIMA, R. V. B. Uso de suplementos alimentares por adolescentes. **Jornal de Pediatria**, Porto Alegre, v. 85, n. 4, p. 287-294, 2009. Disponível em: <<http://www.jped.com.br/conteudo/09-85-04-287/port.asp>>. Acesso em: 22 jun 2015
- ANDREOLLO, N. A. et al. Idade dos ratos versus idade humana: qual é a relação? **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, São Paulo, v. 25, n. 1, p. 49-51, jan./mar. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abcd/v25n1/11.pdf>>. Acesso em: 18 out. 2015
- APPELHANS, K. et al. Considerations regarding the alleged association between Herbalife products and cases of hepatotoxicity. **Internal and Emergency Medicine**, Milan, v. 9, n. 5, p. 599-600, 2014. Disponível em <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs11739-014-1048-9>>. Acesso em: 7 fev. 2015.
- ARAÚJO, M. A. R. Hepatotoxicidade associada à Nimesulida: uma revisão da literatura. **Revista Brasileira de Farmácia**, Rio de Janeiro, v. 93, n. 3, p. 283-289, 2012. Disponível em: <<http://www.rbfarma.org.br/files/rbf-2012-93-3-3.pdf>>. Acesso em: 18 out. 2015
- BERTOLAMI, M. C. Mecanismos de hepatotoxicidade. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 85, n. 5, p. 25-27, 2005. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abc/v85s5/v85s5a07.pdf>>. Acesso em: 18 out. 2015
- CESÁRIO, G. C. A; NAVARRO, A. C. Exercício físico em mulheres menopausadas promove a redução do volume da gordura visceral. **RBONE - Revista Brasileira de Obesidade, Nutrição e Emagrecimento**, São Paulo, v. 2, n. 7, p. 20-33, jan./fev. 2008. Disponível em: <<http://www.rbone.com.br/index.php/rbone/article/view/65/63>>. Acesso em: 5 nov. 2015.
- COSTA, J. V.; DUARTE, J. S. Tecido adiposo e adipocinas. **Acta Medica Portuguesa**, Lisboa, v. 19, p. 251-256, 2006. Disponível em: <<http://actamedicaportuguesa.com/revista/index.php/amp/article/viewFile/925/598>>. Acesso em: 3 nov. 2015.
- COTRAN, R. S. et al. **Patologia estrutural e funcional – Robbins**. 6 ed. [S.l.]: Guanabara, 2000.



DINIZ, M. F. F. M. et al. Padronização do parâmetros hematológicos e bioquímicos de camundongos Swiss e ratos Wistar. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde**, João Pessoa, v. 10, n. 2, p. 171-176, maio/ago. 2006. Disponível em: <<http://periodicos.ufpb.br/ojs2/index.php/rbcs/article/view/3462/2828>>. Acesso em: 1 nov. 2015

ELINAV, E. et al. Association between consumption of Herbalife® nutritional supplements and acute hepatotoxicity. **Journal of hepatology**, Amsterdam, v. 47 n. 4, p. 514-520, out. 2007. Disponível em: < [http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(07\)00367-4/pdf](http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(07)00367-4/pdf) >. Acesso em: 7 de fev. de 2015.

FETT, C. **Ciência da suplementação alimentar**. 2 ed. Rio de Janeiro: Sprint, 2002.

FILHO, F. F. R. et al. Gordura Visceral e Síndrome Metabólica: Mais Que Uma Simples Associação. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, Rio de Janeiro, v. 50 n. 2, p. 230-238, abr. 2006. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v50n2/29306.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2015

GARCIA, D. B. et al. Efeito da fluoxetina sobre o acúmulo de gordura Visceral em ratos wistar. In: MOSTRA INTERNA DE TRABALHOS DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA, 5. 2010, Maringá. **Anais...** Maringá: UniCesumar, 2010.

GRATTAGLIANO, I. et al. Biochemical mechanisms in drug-induced liver injury: Certainties and doubts. **World journal of gastroenterology**, Beijing, v. 15 n. 39, p. 4865–4876, out. 2009. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2764962/pdf/WJG-15-4865.pdf>>. Acesso em: 25 out. 2015

GUYTON, A. **Tratado de Fisiologia Médica**. 4 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1973.

**HERBALIFE**, [c2014]. Apresenta informações sobre os produtos da Herbalife. Disponível em: <<http://www.herbalife.com.br>>. Acesso em: 20 dez. 2014.

HERMSDORFF, H. H. M.; MONTEIRO, J. B. R. Gordura Visceral, Subcutânea ou Intramuscular: Onde Está o Problema? **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, Rio de Janeiro, v. 48 n. 6, p.803-811, dez. 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v48n6/a05v48n6.pdf>>. Acesso em: 4 nov. 2015.

QUARESMA, A. B. et al. Estudo bioquímico do sangue de ratos após ligadura do ducto hepático direito, **Acta Cir. Bras.**, São Paulo , v. 22, n. 1, p. 68-78, fev. 2007 .Disponível em:

< <http://www.acm.org.br/acm/revista/pdf/artigos/67.pdf> >. acessos em 07 dez. 2015. .

IGNARRO, L. et al. Herbalife nutritional products and liver injury revisited. **Journal of Hepatology**, Amsterdam, v. 49 n. 2, p. 291-293, 2008. Disponível em: < [http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(08\)00313-9/pdf](http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(08)00313-9/pdf)>. Acesso em: 20 dez. 2014

JÓHANNSSON, M. et al. Hepatotoxicity associated with the use of Herbalife. **Laeknabladid**, Reykjavik, v. 96 n. 3, p.167-172, mar. 2010. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20197595>>. Acesso em: 20 dez.2014

**LABTEST DIAGNÓSTICA S.A**, 2009. Apresenta informações sobre equipamentos e reagentes laboratoriais. Disponível em: <<http://www.labtest.com.br>>. Acesso em: 29 set. 2015.

LAPCHIK, V. B. V. et al. **Cuidados e Manejos de Animais de laboratório**. São Paulo: Atheneu, 2010.

LIMA, C. M. et al. Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério da Universidade Tiradentes. **Scientia Plena**, [S.l.], v. 10 n. 3, mar. 2014. Disponível em: <<http://www.scientiaplena.org.br/sp/article/view/1784/948>>. Acesso em: 20 out. 2015

MALLA, I. et al. Falla hepática secundaria a toxicidad por tuberculostáticos. Caso clínico. **Archivos argentinos de pediatría**, Buenos Aires, v. 110 n. 3, p. 35-38, maio/jun. 2012. Disponível em: <<http://www.scielo.org.ar/pdf/aap/v110n3/v110n3a11.pdf> >. Acesso em: 25 abr. 2015

MENDES, F. **O fígado**. Rio de Janeiro: Ufrj, 1975.

MENGUAL-MORENO, E. et al. Case reports of drug-induced liver injury in a reference hospital of Zulia state, Venezuela. **Investigación clínica**, Maracaibo, v. 56 n. 1, p. 3-12, mar. 2015. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25920181>>. Acesso em: 20 nov.2014

MINCIS, M.; MINCIS, R. Enzimas hepáticas: aspectos de interesse prático, **RBM Revista Brasileira de Medicina** São Paulo, p. 56-60, jan 2006. Disponível em: < [http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id\\_materia=3250](http://www.moreirajr.com.br/revistas.asp?fase=r003&id_materia=3250)> acesso em: 03 dez. 2015

MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório - Princípios e Interpretação**. 5 ed. São Paulo: Medbook, 2009.

NEGRÃO, C. E. et al. O papel do sedentarismo na obesidade, **Revista Brasileira de Hipertensão**, [S.l.], v. 7 n. 2, p. 149-155, 2000. Disponível em: <<http://departamentos.cardiol.br/dha/revista/7-2/009.pdf>>. Acesso em: 1 ago. 2015

PAIS, P. S. **Efeitos de Fármacos em Sistemas Biológicos: Stress Oxidativo e Metabolismo Antioxidante**. 2012. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) – Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2012. Disponível em: <[http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3557/3/T\\_PatriciaPais.pdf](http://bdigital.ufp.pt/bitstream/10284/3557/3/T_PatriciaPais.pdf)>. Acesso em: 14 abr. 2015

PASTORE, A. P. et al. Efeito da associação entre obesidade neuroendócrina e exócrina experimental sobre a pressão arterial de cauda e o metabolismo de glicose de ratos Wistar. **Jornal Brasileiro de nefrologia**, São Paulo, v. 32 n. 2, p. 195-200, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jbn/v32n2/v32n2a08.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2015

PEREIRA, O. et al. Obesidade: Hábitos Nutricionais, Sedentarismo e Resistência à Insulina. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, Rio de Janeiro, v. 47 n. 2, p. 111-127, abr. 2003. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/abem/v47n2/a03v47n2.pdf>>. Acesso em: 1 ago. 2015

REBELLO, F. F. P. et al. Qualidade de vida e a novas tendências do mercado de alimentos. **Acta tecnológica**, [S.l.], v. 8 n. 1, p. 71-77, 2013. Disponível em: <<http://portaldeperiodicos.ifma.edu.br/index.php/actatecnologica/article/view/111>>. Acesso em: 15 jan. 2015

SCHOEPFER, A. M. et al. Herbal does not mean innocuous: ten cases of severe hepatotoxicity associated with dietary supplements from Herbalife products. **Journal of hepatology**, Amsterdam, v. 47 n. 4, p. 521-526, out. 2007. Disponível em: <[http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278\(07\)00368-6/pdf](http://www.journal-of-hepatology.eu/article/S0168-8278(07)00368-6/pdf)>. Acesso em: 20 nov 2015

SILVA, A. O.; D'ALBUQUERQUE, L. A. C. **Hepatologia Clínica e Cirúrgica**. Editora Sarvier. São Paulo, 1986.

SINAIKO, A. Obesidade, resistência à insulina e síndrome metabólica. **Jornal de Pediatria**, Rio de Janeiro, v. 83 n. 1, p. 3-5, 2007. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/jped/v83n1/v83n1a02.pdf>>. Acesso em: 7 nov. 2015.

SPINREACT. **Determinação quantitativa da ureia IVD**. Espanha: 2015. 1 bula de kit.

TAJIRI, K.; SHIMIZU, Y. Practical guidelines for diagnosis and early management of drug-induced liver injury. **World journal of gastroenterology**, Beijing, v. 14 n. 44, p. 6774–6785, nov. 2008. Disponível em:

< <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2773872/pdf/WJG-14-6774.pdf>>. Acesso em: 15 jul. 2015

TESCHKE, R. et al. Herbalife hepatotoxicity: Evaluation of cases with positive reexposure tests. **World journal of hepatology**, Beijing, v. 5 n. 7, p. 353-363, jul. 2013. Disponível em:  
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3724963/pdf/WJH-5-353.pdf>>. Acesso em: 8 jan. 2015

VASQUES, A. C. J. et al. Utilização de medidas antropométricas para a avaliação do acúmulo de gordura visceral. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23 n. 1, p. 107-118, jan./fev. 2010. Disponível em:  
<<http://www.scielo.br/pdf/rn/v23n1/a12v23n1.pdf>>. Acesso em: 04 nov. 2015.

VOLTERA, A. F. et al. Efeito da indução de obesidade neuroendócrina sobre a hemodinâmica sistêmica e a função ventricular esquerda de ratos normotensos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, Rio de Janeiro, v. 52 n. 1, p. 47-54, 2008. Disponível em:  
<<http://www.scielo.br/pdf/abem/v52n1/a08v52n1.pdf>>. Acesso em: 26 out. 2015.