UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS MÉDICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

JACIANE DE ALMEIDA COSTA

EFEITO DO EXTRATO BRUTO DA FOLHA E CASCA DO CAULE DA CANELA (*CINNAMOMUM ZEYLANICUM*) SOBRE O PERFIL BIOQUÍMICO E ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS EM FÍGADOS DE RATOS OBESOS

Recife
2019

JACIANE DE ALMEIDA COSTA

EFEITO DO EXTRATO BRUTO DA FOLHA E CASCA DO CAULE DA CANELA (*CINNAMOMUM ZEYLANICUM*) SOBRE O PERFIL BIOQUÍMICO E ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS EM FÍGADOS DE RATOS OBESOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de mestre em Patologia.

Área de concentração: Patologia

Orientadora: Prof°. Dra. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

Coorientadores: Prof°. Dr. Arthur Tenorio Ribeiro Clark

Prof°. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

Recife
2019

Catalogação na fonte:
Bibliotecária: Elaine Freitas, CRB4:1790

C837e Costa, Jaciane de Almeida
Efeito do extrato bruto da folha e casca do caule da canela (cinnamomum zeylanicum) sobre o perfil bioquímico e aspectos histopatológicos e morfométricos em fígados de ratos obesos/ Jaciane de Almeida Costa. – 2019.
91 f.; il.

Orientadora: Manuela Figueiroa Lyra de Freitas.
Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde. Programa de pós-graduação em Patologia. Recife, 2019.
Inclui referências e anexos.

1. Obesidade. 2. Doença hepática gordurosa não alcoólica. 3. Cinnamomum zeylanicum. I. Freitas, Manuela Figueiroa Lyra de (orientadora). II. Título.

616.07 CDD (23.ed.) UFPE (CCS 2019 - 258)

JACIANE DE ALMEIDA COSTA

EFEITO DO EXTRATO BRUTO DA FOLHA E CASCA DO CAULE DA CANELA (*CINNAMOMUM ZEYLANICUM*) SOBRE O PERFIL BIOQUÍMICO E ASPECTOS HISTOPATOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS EM FÍGADOS DE RATOS OBESOS

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco como parte dos requisitos exigidos para obtenção do título de mestre em Patologia.

Aprovada em: 28/08/2019

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas (Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho
Universidade Federal de Pernambuco

Profa. Dra. Lisiane dos Santos Oliveira
Universidade Federal de Pernambuco

Prof. Dr. Arthur Tenorio Ribeiro Clark
Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus pais, a minha avó (in memoriam), ao meu irmão e ao meu esposo que sempre me apoiaram e me incentivaram nos estudos.

AGRADECIMENTOS

À Deus sobre todas as coisas...

Aos meus pais Jacira Tenório e Arlindo Alves pelos ensinamentos e valores, por todo amor, carinho, dedicação e força durante essa jornada.

Ao meu irmão, sobrinho e cunhada, pelo apoio e incentivo em todos os momentos.

Ao meu esposo, Gustavo, por toda paciência e bondade e por estar sempre ao meu lado me apoiando e incentivando.

À minha sogra e minha cunhada pela ajuda e incentivo durantes esses anos.

À minha avó Anailde (*in memoriam*), uma das pessoas mais sábias e irreverentes com quem tive o prazer de conviver por breves 21 anos.

Aos demais familiares e amigos, que sempre me apoiaram e incentivaram a buscar meus sonhos e desejos. O apoio e carinho de vocês são essenciais em minha vida. Amo vocês!

À Universidade Federal de Pernambuco e ao Programa de Pós-graduação em Patologia pela contribuição na minha formação e por todo o suporte ao longo desses anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo. A FACEPE por acreditar e apoiar financeiramente esse trabalho.

A todos os professores pelos ensinamentos, assistência e confiança.

Aos meus queridos amigos do mestrado (Patologia-UFPE 2017) pelos momentos compartilhados e por toda ajuda nos experimentos. Foram dois anos de muito companheirismo e amizade.

Ao meu coorientador Prof. Dr Arthur Tenorio Ribeiro Clark, pela contribuição no desenvolvimento desse trabalho.

Ao meu coorientador Prof. Dr Nicodemos Teles de Pontes Filho, pela sua disponibilidade e gentileza para ajudar na construção desse trabalho.

À minha orientadora Dra. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas, não saberia como agradecer por toda sua disponibilidade, orientações e cobranças durante o desenvolvimento desse trabalho.

À professora Dra. Ivone Antônia de Souza, por ter me recebido tão bem no Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental.

A todos os integrantes do programa de Pós-Graduação em Patologia-UFPE. Em especial à Silvana Paz, por quem tenho um grande carinho e a quem sou muito grata por toda ajuda. À Margarete Valdevino, uma pessoa sempre muito gentil comigo e com todos.

Às meninas (Joicy, Mariana, Ana, Alessandra e Miriam) que estiveram comigo na etapa mais trabalhosa dessa pesquisa. Muito obrigada pelo incentivo, pela ajuda e pelo aprendizado.

Enfim, agradeço a todos, que de alguma forma estiverem envolvidos para que eu chegasse até aqui. Muito obrigada por fazerem parte da minha trajetória!

RESUMO

Cinnamomum zeylanicum, conhecida popularmente como canela tem sido utilizada no tratamento de variadas doenças que podem ser ocasionadas pela obesidade, devido a suas propriedades terapêuticas, destacando-se as atividades anti-hiperglicemiante, antioxidantes, anti-hipertensiva, anti-inflamatória e protetora hepática. O presente estudo teve como objetivo avaliar a ação do extrato bruto da folha e do extrato bruto da casca do caule da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre os aspectos histopatológicos, morfométricos e estereológicos do fígado de ratos obesos e sobre parâmetros bioquímicos. O estudo foi realizado através de método experimental, desenvolvido no Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Foram utilizados 30 ratos machos, que foram divididos, inicialmente, em dois grandes grupos: normonutridos (15 ratos) e obesos (15 ratos). Os animais dos grupos normonutridos receberam dieta padrão para roedores da marca Presence® e os animais dos grupos obesos foram alimentados com a dieta hipercalórica (dieta ocidentalizada), do 21º ao 120º dia de vida. Após 99 dias, já estabelecido o quadro de obesidade, os ratos foram divididos em 6 subgrupos e e receberam tratamento com os extratos por gavagem durante 21 dias na dose de 200 mg/kg. Ao final do tratamento, os animais foram anestesiados e eutanasiados. Foi feito uma análise do perfil bioquímico dos animais e uma análise morfológica e histomorfométrica do tecido hepático. O tratamento com os extratos da canela melhorou o perfil de triglicerídeos plasmáticos, reduziu os níveis de glicose sanguínea, reduziu os níveis de AST e promoveu diminuição do volume do lobo médio do fígado de ratos *wistar* obesos. Além disso, através na análise histológica qualitativa foi observado que os extratos atuaram promovendo uma redução no quadro de esteatose hepática, porém através de análises quantitativas por estereologia observou-se que não houve diferença significativa na diminuição da densidade de volume de esteatose nos animais obesos que receberam os extratos. O estudo mostrou que os extratos da canela atuam melhorando o quadro de lesões hepáticas desencadeadas pela obesidade. Entretanto, estudos complementares com isolamento de substâncias específicas dos extratos, doses diversificadas e por um tempo maior, são necessários para uma melhor avaliação dos extratos brutos da canela na prevenção e desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA).

Palavras-chaves: Obesidade. Doença hepática gordurosa não alcoólica. *Cinnamomum zeylanicum.*

ABSTRACT

Cinnamomum zeylanicum, popularly known as cinnamon, has been used to treat various diseases that may be caused by obesity due to its therapeutic properties, especially antihyperglycemic, antioxidant, antihypertensive, anti-inflammatory and liver protective activities. The aim of this study was to evaluate the action of crude leaf extract and crude cinnamon stem extract (*Cinnamomum zeylanicum*) on the histopathological, morphometric and stereological aspects of the liver of obese rats and on biochemical parameters. The study was conducted through an experimental method, developed at the Laboratory of Experimental Pharmacology and Cancerology, Department of Antibiotics, Federal University of Pernambuco. Thirty male rats were used, which were initially divided into two large groups: normonutruded (15 rats) and obese (15 rats). The animals from the normonutruded groups received standard Presence® rodent diets and the animals from the obese groups were fed the hypercaloric diet (westernized diet) from the 21st to the 120th day of life. After 99 days of obesity, the rats were divided into 6 subgroups and received treatment with extracts by gavage for 21 days at a dose of 200 mg / kg. At the end of treatment, the animals were anesthetized and euthanized. An analysis of the biochemical profile of the animals and a morphological and histomorphometric analysis of the liver tissue were performed. Treatment with cinnamon extracts improved the plasma triglyceride profile, reduced blood glucose levels, reduced AST levels, and decreased liver lobe volume in obese wistar rats. Furthermore, through the qualitative histological analysis it was observed that the extracts acted promoting a reduction in the hepatic steatosis, but through quantitative stereological analysis it was observed that there was no significant difference in the decrease of the steatosis volume density in the obese animals received the extracts. The study showed that cinnamon extracts act to improve the picture of liver damage triggered by obesity. However, complementary studies with isolation of specific substances from the extracts, diversified doses and for a longer time, are necessary for a better evaluation of the raw cinnamon extracts in the prevention and development of nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD).

Keywords: Obesity. Nonalcoholic fatty liver disease. *Cinnamomum zeylanicum*.

LISTA DE FIGURAS

Referêncial Teórico

Figura 1- Características gerais das cascas e folhas de *Cinnamomum zeylanicum*..... 30
Figura 2- Estrutura molecular do cinamaldeído..... 31
Figura 3- Estrutura molecular do eugenol 31
Figura 4- Esquema demonstrando a divisão dos animais experimentais nos seguintes grupos: normonutridos (n=15) que receberam ração comercial padrão de biotério Presence® e obesos (n=15) que receberam ração hipercalórica (ocidentalizada)..... 36
Figura 5- Esquema demonstrando a obtenção e amostragem dos fragmentos de tecido hepático de ratos para análise histológica até a escolha dos campos histológicos para fotografia e análise..... 40
Figura 6- Área do núcleo mensurada..... 41
Figura 7- Número de hepatócitos binucleados quantificados..... 42
Figura 8- Mensuração da Vv de núcleo dos hepatócitos, sinusóide e esteatose..... 43

Manuscrito - Efeito do extrato de *cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre o fígado de ratos obesos: uma análise histopatológica e morfométrica

Figura 1- Esquema demonstrando a obtenção e amostragem dos fragmentos de tecido hepático de ratos para análise histológica até a escolha dos campos histológicos para fotografia e análise..... 50
Figura 2- Fígado de ratos normonutridos e obesos tratados durante 21 dias com dose de 200 mg/kg de extrato bruto de folhas e cascas de *Cinnamomum zeylanicum*. Coloração hematoxilina-eosina..... 55
Figura 3- Hepatócitos binucleados, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias..... 56
Figura 4- Volume do lobo médio do fígado ou volume referência (Vref) estimado pelo método de Cavalieri, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias..... 57

Figura 5- Densidade de volume de núcleo Vv [núcleo do hepatócito] em µm^3, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias..... 58

Figura 6- Densidade de volume de sinusóides Vv [sinusóide] em µm^3, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias..... 59

Figura 7- Densidade de volume de hepatócitos com gordura Vv [esteatose] em µm^3, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias..... 60

Figura 8- Área de núcleo dos hepatócitos em µm^2, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias..... 60

LISTA DE TABELAS

Material e métodos

Tabela 1- Sistemas, reveladores e padrões utilizados na prospecção fitoquímica por CCD..... 34

Manuscrito - Efeito do extrato de *Cinnamomum zeylanicum* (canela) sobre o fígado de ratos obesos: uma análise histopatológica e morfométrica.

Tabela 1-Valores bioquímicos de ratos normonutridos e obesos após 21 dias consecutivos de tratamento com extratos de folhas e cascas da canela na dose de 200 mg/kg/dia..... 53

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

a. C	ANTES DE CRISTO
ACH	ATROFIA DOS CORDÕES DOS HEPATÓCITOS
ALT	ALANINA AMINOTRANSFERASE
AST	ASPARTATO AMINOTRANSFERASE
CAPES	COORDENAÇÃO DE APERFEIÇOAMENTO DE PESSOAL DE NÍVEL SUPERIOR
CCB	CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
CCD	CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA
CEUA	COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
CH	CORDÕES DOS HEPATÓCITOS
COBEA	COLÉGIO BRASILEIRO PARA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
CONCEA	CONSELHO NACIONAL DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
CS	CAPILARES SINUSÓIDES
CVCL	CONGESTÃO DE VEIA CENTROLOBULAR
DP	DESVIO PADRÃO
EHNA	ESTEATO-HEPATITE NÃO ALCOÓLICA
FACEPE	FUNDAÇÃO DE AMPARO À CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE PERNAMBUCO
FDA	FOOD AND DRUG ADMINISTRATION
GLP-1	RECEPTOR DE PÉPTIDO-1
HB	HEPATÓCITOS BINUCLEADOS
HDL	LIPOPROTEÍNA DE ALTA DENSIDADE
DHGNA	DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA
HH	HEPATÓCITOS HIPERPLÁSICOS E HIPERTRÓFICOS
IHS	ÍNDICE HEPATOSSOMÁTICO
IMC	ÍNDICE DE MASSA CORPORAL
K	CÉLULAS DE KUPFFER
LDL	LIPOPROTEÍNA DE BAIXA DENSIDADE
ME	MICROESTEATOSE
NAFLD	NONALCOHOLIC FATTY LIVER DISEASE

NC	NECROSE DE COAGULAÇÃO
OECD	ORAGNIZATION FOR ECONOMIC COOPERATION AND DEVELOPMENT
OMS	ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE
POSPAT	PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA
ROS	ESPÉCIES REATIVAS DE OXIGÊNIO
SNC	SISTEMA NERVOSO CENTRAL
UFPE	UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
UFRPE	UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
V. v	DENSIDADE DE VOLUME
Vref	VOLUME DE REFERÊNCIA

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO..... 16
2 OBJETIVOS..... 19
2.1 OBJETIVO GERAL..... 19
2.2 OBJETIVO ESPÉCIFICO..... 19
3 JUSTIFICATIVA 20
4 REFERENCIAL TEÓRICO..... 21
4.1 OBESIDADE..... 21
4.1.1 Definição e Epidemiologia..... 21
4.1.2 Etiologia e Fisiopatologia..... 22
4.1.3 Diagnóstico da obesidade..... 23
4.1.4 Doenças associadas à obesidade..... 24
4.1.5 Obesidade e Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA)……..... 24
4.1.6 Tratamento farmacológico da obesidade ……..... 26
4.1.7 Plantas medicinais no tratamento da obesidade ……..... 28
4.1.8 *Cinnamomum zeylanicum* ……..... 29
4.1.8.1 Origem e importância ……..... 29
4.1.8.2 Composição química ……..... 30
4.1.8.3 Propriedades terapêuticas..... 31
4.1.8.4 Efeitos adversos atribuídos ao *Cinnamomum zeylanicum*..... 32
5 MATERIAIS E MÉTODOS..... 33
5.1 LOCAL DO ESTUDO..... 33
5.2 PERÍODO DE REALIZAÇÃO..... 33
5.3 DESENHO E TIPO DE ESTUDO..... 33
5.4 OBTENÇÃO E TRATAMENTO DO MATERIAL VEGETAL ……..... 33
5.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS..... 33
5.6 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)..... 34
5.7 ENSAIOS "*IN VIVO*"..... 35
5.7.1 Animais experimentais..... 35
5.7.2 Dietas experimentais..... 35
5.7.3 Obtenção dos grupos experimentais..... 36

5.7.4 Tratamento antiobesidade com extratos de Canela (*C. zeylanicum*)..... 37
5.8 COLETA DE AMOSTRAS PARA REALIZAÇÃO DE ESTUDOS BIOQUÍMICOS E MATERIAL BIOLÓGICO (FÍGADO)..... 37
5.9 ANÁLISE DO PERFIL BIOQUÍMICO..... 38
5.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA, MORFOMÉTRICA E ESTEREOLÓGICA DOS FÍGADOS..... 38
5.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA..... 43
6 EFEITO DO EXTRATO DE *CINNAMOMUM ZEYLANICUM* (CANELA) SOBRE O FÍGADO DE RATOS OBESOS: UMA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA E MORFOMÉTRICA..... 44
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS..... 73
REFERÊNCIAS..... 74
ANEXO A - FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA..... 86
ANEXO B - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE..... 87
ANEXO C - DIETA PRESENCE®: TABELA NUTRICIONAL..... 88
ANEXO D - DIETAS OCIDENTALIZADAS DE CRESCIMENTO E MANUTENÇÃO ELABORADAS PELO DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO DA UFPE..... 89
ANEXO E - PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE RATOS WISTAR DE AMBOS OS SEXOS. VALORES EXPRESSOS EM MÉDIA E DESVIO PADRÃO POR FAIXA DE VALORES..... 91

1 INTRODUÇÃO

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define obesidade como acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode se tornar um agravante para a saúde do indivíduo. Nas três últimas décadas a prevalência mundial da obesidade (índice de massa corporal maior ou igual a 30 kg / m^2) mais do que duplicou, em 2016, 39% dos adultos maiores de 18 anos apresentavam excesso de peso e 13% eram obesos, em decorrência deste aumento de casos e de suas consequências para a saúde do indivíduo a obesidade tem sido considerada como um grave problema de saúde pública. É uma doença que acomete as diversas faixas etárias, e está presente na população de países desenvolvidos e em desenvolvimento, principalmente nas áreas urbanas (MIGUEL, 2014; WHO, 2016).

A etiologia da obesidade é considerada multifatorial, não sendo explicada facilmente, pois um conjunto de fatores biológicos, psicológicos, econômicos, sociais, comportamentais e ambientais se inter-relacionam, causando níveis elevados de gordura corporal. A obesidade repercute de maneira negativa na qualidade de vida e na longevidade da população, a mesma é considerada fator de risco para o desenvolvimento de várias doenças crônicas, como síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2, doenças do aparelho cardiovascular, doenças cerebrovasculares e alguns tipos de câncer (SOUSA, 2016; HEYMSFIELD e WADDEN, 2017).

As alterações metabólicas desencadeadas pela obesidade são denominadas síndrome metabólica estando inclusas: obesidade central somada a mais duas das seguintes condições, alterações do colesterol total e suas frações, altos níveis de triglicerídeos, baixos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL) e altos níveis de lipoproteínas de baixa densidade (LDL), hipertensão arterial sistêmica e elevados índices de glicemia de jejum ou se tiver sido diagnosticado com diabetes tipo 2 (REUTER, 2017).

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é considerada a manifestação hepática da síndrome metabólica, referindo-se a um amplo espectro de doença do fígado gorduroso não relacionada ao consumo de álcool, variando desde uma leve esteatose hepática até a sua forma mais grave esteato-hepatite podendo evoluir para doença crônica do fígado (cirrose) e carcinoma hepatocelular (ANDRADE et al., 2016).

A DHGNA é cada vez mais reconhecida como a principal causa de doença hepática em todo o mundo, sendo mais prevalente em países cujo padrão dietético inclui alimentação rica em carboidratos e gorduras saturadas, chega a afetar de 10% a 24% da população em geral em vários países. Pode acometer qualquer faixa etária, tendo sua prevalência aumentada

para 57,5% a 74% em pessoas obesas. A distribuição do excesso de gordura é importante, uma vez que o aumento da gordura visceral aumenta o risco de esteatose hepática tanto em indivíduos magros quanto com sobrepeso (SOUSA et al, 2014).

Obesidade, diabetes mellitus, dislipidemia são os fatores de risco mais frequentes da DHGNA (ANGULO, 2002). Os mecanismos fisiopatológicos atualmente relacionados ao desenvolvimento da DHGNA em indivíduos obesos são bastante complexos, envolvendo múltiplos fatores, dentre esses fatores, destacam-se à resistência insulínica, acúmulo de lipídos nos hepatócitos, resposta inflamatória e o estresse oxidativo (CARR et al, 2016; LAU et al, 2017).

Dessa forma, é de suma importância à identificação e determinação de estratégias eficazes voltadas para o tratamento da obesidade e de doenças associadas como a DHGNA. Existe uma grande variedade de tratamentos direcionados para a obesidade, porém não existe um tratamento padrão aprovado para a DHGNA, todas as drogas disponíveis estão voltadas para os mecanismos fisiopatológicos da esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), levando sempre em consideração a presença de uma doença associada (SCHERER, 2016).

Dentre os tratamentos voltados para a obesidade, os mais utilizados são mudança no estilo de vida, melhora dos hábitos alimentares, realização de atividade física, acompanhamento psicológico, uso de fitoterápicos, uso de fármacos antiobesidade, e em última caso, quando o tratamento clínico não mostra resultado significativo, opta-se pelo tratamento cirúrgico através da cirurgia bariátrica. A escolha do tratamento deve levar em consideração a gravidade do problema e a presença de complicações associadas (ABESO, 2016).

São disponibilizados poucos tratamentos farmacológicos e fitoterápicos seguros e eficazes para o controle da obesidade e de doenças associadas. Estudos sobre processos reguladores de homeostase energética têm colaborado para o desenvolvimento de novos fármacos contra a fisiopatologia da obesidade (GREENWAY et al, 2010; WADDEN et al, 2011; CLAPPER et al, 2013.

Outros estudos relatam que uma variedade de produtos naturais, incluindo extratos e compostos isolados de plantas, estão sendo utilizados para a redução do peso corporal e prevenção da obesidade induzida por dieta hipercalórica (SIMÃO et al, 2012; VIEIRA e MEDEIROS, 2019).

Devido aos efeitos colaterais e o elevado custo das drogas tradicionalmente utilizadas no tratamento da obesidade, o potencial de produtos naturais para o tratamento da doença está cada vez mais sendo explorado. Podendo ser uma alternativa viável para o desenvolvimento

futuro de drogas antiobesidade eficazes e seguras. O interesse em estudar os fitoterápicos tem sido focado sobre os potenciais efeitos biológicos dos polifenóis, presentes nesses compostos, sobre a prevenção da obesidade e de manifestações clínicas associadas. Neste sentido, tem sido demonstrado que a suplementação de polifenóis reduz o ganho de peso corporal e tecido adiposo em roedores alimentados com uma dieta hipercalórica (MORO e BASILE, 2000; MAYER et al, 2009).

Recentemente, estudos sugerem que a canela pode ser eficaz no tratamento de vários problemas de saúde, assim como, também tem efeitos benéficos no controle da glicemia, proteção hepática e favorece a perda de peso. Rica em compostos biologicamente ativo, solúvel em água, do tipo polímero de um polifenol, a canela potencializa a ação da insulina na corrente sanguínea aumentando a captação e metabolização de glicose pelas células e tecidos, ao invés de guardá-la na forma de gordura. Como resultado do nível normal da glicose no sangue, o corpo acumula menos gordura e consequentemente há uma diminuição no peso (SARTORIUS et al, 2014; COSTELLO et al, 2016).

Nesse contexto, diante da necessidade de opções alternativas para o tratamento das alterações hepáticas desenvolvidas pela obesidade, o presente trabalho propõe-se a analisar a ação dos extratos brutos da canela (*Cinnamomum zeylanicum)* em fígados de ratos obesos. Podendo esta planta ser uma alternativa viável para o desenvolvimento futuro de um fitoterápico eficaz e seguro.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

- Avaliar a ação do extrato bruto da folha e do extrato bruto da casca do caule da canela (*Cinnamomum zeylanicum*), administrado durante 21 dias, sobre ratos obesos e normonutridos.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito dos extratos brutos da canela *(Cinnamomum zeylanicum)*, sobre os parâmetros bioquímicos (ALT, AST, colesterol total, triglicerídeos e glicose).
- Avaliar o efeito dos extratos brutos da canela *(Cinnamomum zeylanicum)*, nas alterações histológicas e morfométricas do tecido hepático (área nuclear, número de hepatócitos binucleados, peso e comprimento).
- Analisar o efeito dos extratos brutos da canela *(Cinnamomum zeylanicum)*, sobre os parâmetros estereológicos do tecido hepático (volume do lobo médio, densidade de volume de núcleos dos hepatócitos, capilares sinusóides e hepatócitos com microesteatose).

3 JUSTIFICATIVA

A obesidade é considerada um grave problema de saúde pública, o aumento da sua incidência nas últimas décadas favoreceu o surgimento de doenças que acometem o fígado, principalmente a Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA). Dessa forma, faz-se necessário a investigação minuciosa de alternativas para tratamentos farmacológicos e fitoterápicos seguros e eficazes voltados para a doença gordurosa do fígado. Recentemente, vem sendo demonstrado o papel de fitoterápicos na redução do peso corporal e prevenção da obesidade induzida por dieta hipercalórica.

Neste contexto, a canela (*Cinnamomum zeylanicum)*, destaca-se como fonte rica em compostos biologicamente ativos, podendo ser eficaz no tratamento de vários problemas de saúde e também é considerado efetivo para controlar o açúcar no sangue e promover a perda de peso. Pela facilidade do acesso e seu baixo custo, o seu uso poderia ser difundido e o consumo poderia fazer parte do dia a dia das pessoas. No entanto, não se pode descartar que ela pode apresentar efeitos adversos à saúde e deve ser estudado com cautela.

Diante do exposto, para verificar a ação da canela nas alterações hepáticas induzidas pela obesidade, este estudo com os extratos brutos da casca e da folha da canela foi realizado, a fim de comprovar a eficácia dessa planta em atenuar ou tratar as repercussões trazidas por essa doença.

Até o momento, nenhum estudo tinha sido realizado avaliando os efeitos da canela *(Cinnamomum zeylanicum)* sobre as alterações hepáticas que podem ser desencadeadas pela obesidade.

4 REFERENCIAL TEÓRICO

4.1 OBESIDADE

4.1.1 Definição e epidemiologia

A obesidade é definida pela Organização Mundial da Saúde (OMS) como sendo uma doença complexa decorrente do acúmulo anormal e excesso de gordura corporal, de forma que possa atingir graus capazes de afetar a saúde do indivíduo. Esse acúmulo de gordura corporal, normalmente tende a ser progressivo, levando a uma série de alterações a saúde física e também a saúde mental. Sua prevalência vem crescendo acentuadamente nos últimos anos, transformando-se no mais grave problema de saúde pública do mundo, atingindo proporções epidêmicas, superando até mesmo a desnutrição e as doenças infecciosas. Ainda segundo a definição da OMS, considera-se obesidade quando o índice de massa corporal (IMC) se encontra igual ou acima de 30kg/m² (FERREIRA e BENICIO, 2015; WHO, 2016).

A mesma integra o grupo de doenças crônicas não transmissíveis (DCNT). As DCNTs podem ser caracterizadas pela sua história natural prolongada, múltiplos fatores de risco, longo curso assintomático e em geral lento e permanente, com períodos de remissão e de exacerbação, lesões celulares irreversíveis e evolução para diferentes graus de incapacidade ou para a morte (TAVARES et al, 2010).

De acordo com dados epidemiológicos publicados pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em relação ao sobrepeso e à obesidade, no ano de 2016, mais de 1,9 milhões de adultos com 18 anos ou mais apresentavam excesso de peso, dos quais 650 milhões eram considerados obesos. Esses mesmos dados demonstram que a prevalência da obesidade no mundo mais do que duplicou nas últimas três décadas. De maneira geral, aproximadamente 13% da população adulta mundial apresenta obesidade em 2016. Sendo que 39% dos homens apresentavam sobrepeso e 11% obesidade, com relação às mulheres, 40% apresentavam sobrepeso e 15% obesidade. Enquanto o excesso de peso e a obesidade há muito tempo são considerados problemas de países desenvolvidos, atualmente, ambos os transtornos estão atingindo altos índices em países em desenvolvimento, principalmente em áreas urbanas (WHO, 2016)

No Brasil, a obesidade vem crescendo cada vez mais. Alguns levantamentos apontam que mais da metade (52%) da população está com sobrepeso ou obesidade. O estudo também revelou que o sobrepeso é maior entre os homens, onde 52,6% deles está acima do peso ideal.

Entre as mulheres, esse valor é de 49,1%. A pesquisa também diz que a obesidade permaneceu estável (17,9%) em 2014 em relação a 2013 (17,5%), com prevalência de 17,6% em homens e 18,2% em mulheres. É uma doença que não está presente somente na população adulta, ela afeta diversas faixas etárias (BRASIL, 2014).

Nos últimos anos, a população brasileira vem experimentando importantes mudanças em seus hábitos alimentares e estilo de vida nas últimas décadas. Em que o consumo de alimentos refinados, industrializados com alto valor calórico, falta de atividade física são fortes contribuintes para o aumento na prevalência da obesidade (MENDES et al, 2016).

4.1.2 Etiologia e fisiopatologia

Até pouco tempo, a principal causa da obesidade era tida como sendo causada pelo excesso de alimentação. Porém, estudos relataram que a causa vai além da relação entre a ingestão de alimentos e gasto energético. É uma doença crônica de causa multifatorial. Sendo resultante da complexa interação entre diversos fatores, atuantes, na maioria dos casos, de forma combinada, sejam eles genéticos, metabólicos, fisiológicos, sociais, comportamentais e culturais, que podem contribuir para o acúmulo de gordura corporal (BARBIERE e MELLO, 2012).

Os fatores genéticos desempenham papel importante na determinação da suscetibilidade do indivíduo para o ganho de peso, porém são os fatores ambientais e de estilo de vida, tais como hábitos alimentares inadequados e sedentarismo, que geralmente levam a um balanço energético positivo, favorecendo o surgimento da obesidade (LUSYANNY et al, 2016).

Diversos mecanismos atuam e interagem na regulação da ingestão de alimentos e de armazenamento de energia, contribuindo para o surgimento e manutenção da obesidade, sendo estes mecanismos controlados ou modulados por estruturas neurais e por sistemas neuroquímicos e neuroendócrinos específicos. Alterações nestes sistemas neurais podem estar associadas às mudanças no comportamento alimentar. No controle neuroendócrino do metabolismo energético os peptídeos leptina e insulina são os dois principais sinalizadores de adiposidade que informam ao cérebro a quantidade de energia corporal armazenada como excessiva (HALLSCHMID et al., 2008).

Fatores neuroendócrinos são diagnosticados como sendo os mais relevantes para a manutenção do balanço energético do organismo. Diversos sinais são capazes de aumentar a termogênese e estimular a saciedade em momentos de muita oferta energética. Esses sinais

são capazes também de promover o contrário, estimulando a fome e inibindo a termogênese em momentos de privação. Entre esses mediadores, os mais importantes são a leptina, a grelina e a insulina (CUI et al, 2017)

A leptina e a insulina são hormônios secretados em proporção à massa adiposa e atuam perifericamente, estimulando o catabolismo. No sistema nervoso central (SNC), a insulina e a leptina interagem com receptores hipotalâmicos, favorecendo a saciedade. Indivíduos obesos têm maiores concentrações séricas destes hormônios e apresentam resistência à sua ação. Os peptídeos intestinais, combinados a outros sinais, podem estimular (grelina e orexina) ou inibir (colecistocinina, leptina e oximodulina) a ingestão alimentar. Todos atuam nos centros hipotalâmicos, que são os grandes responsáveis pelo comportamento alimentar (LANDEIRO e QUARANTIN, 2011).

A grelina é secretada pela mucosa gástrica e é um importante regulador da ingestão alimentar, uma vez que aumenta o apetite, estimula as secreções digestivas e a motilidade gástrica. A concentração de grelina permanece elevada nos períodos de jejum e pré-prandiais, diminuindo imediatamente após a alimentação, sugerindo um controle neuronal. O aumento da concentração de grelina diminui a ação da leptina e vice-versa (KONTUREK et al, 2004).

4.1.3 Diagnóstico da obesidade

O diagnóstico da obesidade pode ser feito através da aferição da massa corporal do indivíduo, o método mais utilizado é o Índice de Massa Corporal (IMC). Ele não mede diretamente a proporção de gordura no corpo, mas é o recurso mais utilizado para estimar a prevalência de obesidade por ser um método de fácil execução, simples, prático e também por ser aceito pela comunidade científica. O IMC é estimado pela relação entre as seguintes variáveis peso e altura, em que o peso é dividido pela sua altura ao quadrado (kg/m2). Em adultos (20 a 60 anos), um IMC igual ou superior a 25 é caracterizado como sobrepeso, e igual ou superior a 30 configura obesidade (HERNANDES e PEREIRA, 2010; BRASIL,2014).

A classificação do estado nutricional segundo o valor do Índice de Massa Corporal do adulto é feita com base nos seguintes valores, indivíduo é considerado baixo peso quando o IMC é menor que 18,5 kg/m^2; eutrófico quando o IMC situa-se entre 18,5 e 24,9 kg/m^2; sobrepeso quando o IMC encontra-se entre 25 e 29,9 kg/m^2; obesidade grau I (moderado excesso de peso) quando o IMC situa-se entre 30 e 34,9 kg/m^2; a obesidade grau II (obesidade

leve ou moderada) com IMC entre 35 e 39,9 kg/m^2 e, por fim, obesidade grau III (obesidade mórbida) na qual IMC ultrapassa 40 kg/m² (BRASIL,2014).

Além do IMC outras medidas devem ser levadas em conta para o diagnóstico da obesidade, tais como: o perímetro da cintura, a razão cintura-estatura, o índice de conicidade, radiografia, ultra-sonografia, ressonância magnética, condutividade elétrica total, análise de bioimpedância elétrica e espessura das dobras cutâneas (PELEGRINI et al, 2015).

4.1.4 Doenças associadas à obesidade

Muitos distúrbios fisiopatológicos são diretamente causados ou agravados pela obesidade, com consequente aumento da morbidade e da redução da expectativa e qualidade de vida, principalmente quando o IMC se encontra acima de 30 kg/m² (TAVARES et al, 2010).

Os processos fisiopatológicos envolvidos incluem os distúrbios cardiovasculares (como hipertensão arterial sistêmica, doença arterial coronariana, doença cerebrovascular), distúrbios endócrino metabólicos (por exemplo, diabetes mellitus tipo II, dislipidemia, hipotireoidismo), distúrbios respiratórios (por exemplo, apneia obstrutiva do sono, síndrome da hipoventilação), alterações gastrointestinais (como colecistite, hérnia de hiato, doença hepática gordurosa não alcoólica) (MELDRUM et al, 2017).

A obesidade ainda pode ser a causa de alguns tipos de cânceres (por exemplo, câncer de endométrio, fígado e rim), alterações musculoesqueléticas (maior predisposição a artrose, osteoartrite), doença renal, alterações dermatológicas (como estrias, papilomas, dermatites), problemas reprodutivos (esterilidade, alterações menstruais) e distúrbios psicossociais (mudança de humor, isolamento social, depressão) (GONZÁLEZ-MUNIESA et al, 2017).

4.1.5 Obesidade e Doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA)

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é um termo amplo que inclui doenças hepáticas caracterizadas por acúmulo de lipídios no citoplasma de hepatócitos, sobretudo de triacilgliceróis, e que não pode ser relacionado ao consumo abusivo de álcool, compreendendo desde esteatose simples, esteato-hepatite não alcoólica, até um quadro irreversível de fibrose, cirrose ou hepatocarcinoma (FOTBOLCU e ZORLU, 2016).

A DHGNA é cada vez mais reconhecida como a principal causa de doença hepática em todo o mundo, sendo mais prevalente em países cujo padrão dietético inclui alimentação

rica em carboidratos e gorduras saturadas, chega a afetar de 10% a 24% da população em geral em vários países. Pode acometer qualquer faixa etária, tendo sua prevalência aumentada para 57,5% a 74% em pessoas obesas. A distribuição do excesso de gordura é importante, uma vez que o aumento da gordura visceral aumenta o risco de esteatose hepática tanto em indivíduos magros quanto com sobrepeso (SOUSA et al, 2014).

Obesidade, diabetes mellitus, dislipidemia são os fatores de risco mais frequentes da DHGNA. Esses se associam à hipertensão arterial e a síndrome metabólica, sendo a DHGNA considerada um componente hepático da síndrome metabólica. A prevalência relatada de obesidade em várias séries de pacientes com DHGNA variou entre 30% e 100%, a prevalência de diabetes tipo 2 variou entre 10% e 75% e a prevalência de hiperlipidemia variou entre 20% e 92% (ANGULO, 2002).

Os mecanismos fisiopatológicos atualmente relacionados ao desenvolvimento da DHGNA em indivíduos obesos são bastante complexos, envolvendo múltiplos fatores, dentre esses fatores, destacam-se à resistência insulínica, acúmulo de lipídos nos hepatócitos, resposta inflamatória e o estresse oxidativo (CARR et al, 2016; LAU et al, 2017).

A resistência à insulina, frequentemente associada à obesidade, leva ao aumento dos ácidos graxos livres circulantes, que são captados e depositados dentro do hepatócito. Esse depósito ativa a cascata inflamatória, modulada por uma série de citocinas, incluindo as adipocitocinas, e resulta em exacerbação do estresse oxidativo, que pode ter um papel crucial na progressão da esteatose hepática para a esteato-hepatite, fibrose e cirrose (SCHULZ, 2013; NEUSCHWANDER, 2017).

A maioria dos pacientes com DHGNA não apresenta sintomas ou sinais clínicos de doença hepática durante o diagnóstico, embora muitos pacientes relatem fadiga e sensação de plenitude no hipocôndrio direito. A hepatomegalia torna-se a única descoberta do exame físico na maioria pacientes. A DHGNA é considerada uma explicação comum para os casos de elevação assintomática de aminotransferases, uma vez que outras causas de doença hepática são excluídas (PORTELA et al, 2013).

O diagnóstico de DHGNA, classificação e estadiamento é histológico, porém a biópsia do fígado é um procedimento invasivo normalmente não realizado inicialmente, pois ainda está associado a maiores riscos de complicações e dificuldade de execução. Dessa forma, marcadores são comumente usados, como as transaminases (alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST)), além de técnicas de imagem, como ultrassonografia, tomografia e ressonância (OH et al, 2016).

A ultrassonografia abdominal é um dos mais utilizados para demonstrar esteatose hepática na prática clínica. Apresenta uma sensibilidade de 93%, alta o suficiente para diagnosticar um fígado com mais de 33% de esteatose. Tomografia também pode ser usada para diagnóstico de DHGNA demonstrando 82% de sensibilidade e 100% de especificidade para detectar esteatose acima de 30%. Com relação as transaminases, a ALT tem uma relação causal mais forte com DHGNA do que a AST (OH et al, 2016).

Para a classificação da DHGNA é considerada para análise a esteatose, inflamação, balonização, corpúsculos de Mallory e fibrose, sendo sub-dividida em quatro graus. Grau I: esteatose hepática simples. Grau II: esteatose hepática mais inflamação. Grau III: esteatose hepática mais balonização celular. Grau IV: esteatose hepática mais balonização mais alteração hialina do corpúsculo de Mallory e/ou fibrose (CARRUEGO, 2012).

Atualmente não existe um tratamento farmacológico padrão aprovado para a DHGNA, todas as drogas disponíveis estão voltadas para os mecanismos fisiopatológicos da esteato-hepatite não alcoólica (EHNA), levando sempre em consideração a presença de uma doença associada. A maioria dos estudos permanece em estágios experimentais com respostas não consolidadas baseadas em evidências de apoio. Até a data, as terapias de gestão para a DHGNA estão voltadas para modificações de estilo de vida com dieta e atividade física, drogas usadas para doenças associadas, agentes protetores do tecido hepático e realização de cirurgia bariátrica por promover a perda de peso. Sendo assim, observa-se a necessidade da elaboração de uma terapia farmacológica eficaz, baseada em evidências para o tratamento da DHGNA (SCHERER, 2016).

4.1.6 Tratamento farmacológico da obesidade

O tratamento para pessoas com obesidade consiste em abordagens comportamentais, farmacológicas e cirúrgicas. Dietas e exercícios são considerados muitas vezes em combinação (GOBEL, 2017).

Quando existe uma eficácia limitada das abordagens comportamentais, surge a possibilidade de tratamento por meio de opções farmacológicas. A terapêutica farmacológica pode ser recomendada nos indivíduos com um IMC maior ou igual 30 kg/m^2 ou quando o IMC é maior ou igual 27 kg/m^2, quando o excesso de peso apresenta comorbidades associadas, e, de forma adjuvante, juntamente com a modificação da dieta e a realização de atividade física (RODRÍGUEZ e CAMPBELL, 2015; ABESO, 2016).

No Brasil, há três medicamentos aprovados para o tratamento da obesidade: sibutramina, orlistate e liraglutida 3,0 mg (LIMA, 2017). A sibutramina é uma amina terciária que age diminuindo a recaptação de noradrenalina e de serotonina nas terminações nervosas do sistema nervoso central, e essa ação tem efeitos sacietógenos e anorexígenos. É usualmente utilizada em doses de 10 a 15 mg/dia. O orlistate é um análogo da lipstatina inibidor de lipases gastrintestinais que funciona pela inibição da lipase pancreática que reduz a absorção de gordura dietética do intestino, limitando assim a ingestão calórica. Não possui atividade sistêmica, tendo absorção desprezível. Seu uso está associado a reduções significativas da pressão arterial, além de reduções da insulinemia e da glicemia. A dose diária de orlistate é de 360 mg. Já a liraglutida é um agonista do receptor de péptido-1 (GLP-1) de ação prolongada, que retarda o esvaziamento gástrico e promove saciedade sendo a dose diária recomendada de 3 mg (ABESO,2016).

Outros medicamentos também são usados para o tratamento da obesidade como por exemplo, a associação de naltrexona e bupropiona, que influenciam o sistema hipotalâmico de melanocortina e atuam nos mecanismos cerebrais de prazer e recompensa diminuindo a ingestão de alimentos; fentermina, é uma amina simpaticomimética que promove o aumento da atividade da dopamina, noradrenalina e serotonina no sistema nervoso central, dessa forma contribui para perda de peso através do aumento do gasto energético, usada a curto prazo, pode ser prescrita sozinha ou em associação com o topiramato um anticonvulsivante que pode reduzir o desejo de comer de forma compulsiva, essa associação leva a redução do peso através da redução do apetite e aumento do gasto de energia; benzfetamina e fendimetrazina, são derivados de anfetamina que também são psicoestimulantes e têm efeitos semelhantes à fentermina; dietilpropiona, outro estimulante que aumenta os níveis do neurotransmissor noradrenalina; lorcaserina, um agonista de receptores de serotonina que provavelmente interfere com o sistema de recompensa relacionada ao apetite; (KHERA et al, 2016; SALTIEL, 2016; NUFFER et al, 2016).

Alguns inibidores seletivos da recaptação de serotonina como a fluoxetina e sertralina, usados para o tratamento da depressão, podem proporcionar efeito de perda de peso, embora não tenham indicação formal no tratamento de obesidade (ABESO, 2016).

Essas terapias farmacológicas devem ser utilizadas com precaução, pois apresentam efeitos colaterais potenciais que limitam a sua utilidade, incluindo taquicardia e hipertensão, náuseas e vômitos, diarreia, pancreatite, doença da vesícula biliar, esteatorreia, incontinência fecal e flatulência (SALTIEL, 2016).

Devido ao sucesso limitado do tratamento comportamental e farmacológico, principalmente para pacientes com obesidade mórbida, a cirurgia é o tratamento de eleição para a perda de peso e manutenção em longo prazo. Esse tipo de cirurgia refere-se a uma série de procedimentos, principalmente bandagem gástrica e by-pass gástrico (GOBEL, 2017).

4.1.7 Plantas medicinais no tratamento da obesidade

Desde os primórdios, o homem faz uso de plantas medicinais como tratamento alternativo para a cura de diversas doenças. As antigas civilizações já conheciam o poder medicinal de algumas plantas e as cultivavam, repassando os saberes para as outras gerações (ROSA e MACHADO, 2016).

A Fitoterapia em sua etiologia da palavra significa tratamento de doenças por meio do uso de plantas. É uma terapêutica caracterizada pelo uso de plantas em suas diferentes formas farmacêuticas, dependendo da estrutura da planta a ser utilizada. As matérias-primas dos fitoterápicos são as composições das plantas medicinais como folhas, caules, flores, raízes e frutos (FERREIRA, 2013).

A fitoterapia tem se tornado cada vez mais popular, sendo reconhecida a importância dos produtos derivados de plantas, no desenvolvimento de modernas drogas terapêuticas. Sendo hoje considerada uma ciência respeitada. Estima-se que pelo menos 25% de todos os medicamentos modernos são derivados diretamente ou indiretamente de plantas medicinais (BRASIL, 2012).

Essa terapia tem apresentado efeitos positivos no tratamento e prevenção de uma grande gama de patologias dentre elas a obesidade. Nos últimos anos, tem se investido em estudos para o entendimento mais profundo dos mecanismos fisiológicos que estão envolvidos no controle do apetite, da fome e da saciedade (MANENTI, 2010).

Nesse contexto, diversas plantas medicinais que possuem substâncias em sua composição com atividade antiobesidade têm sido estudadas, principalmente aquelas com ação inibidora de lipases, com propriedades termogênicas, supressoras de apetite, laxativas e ainda as que auxiliam na digestão, diuréticos e calmantes. Dentre essas substâncias estão os polifenóis, que têm recebido grande atenção por estarem amplamente distribuídos nos vegetais e por apresentarem propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e hipolipidêmicas (KURIYAN et al, 2007).

Devido à grande diversidade de efeitos colaterais resultantes do tratamento medicamentoso atualmente utilizado na obesidade e em doenças associadas, a utilização de fitoterápicos teve alto crescimento nos últimos anos, principalmente pelo fato de apresentar baixo custo, não necessitar de receita médica para a aquisição e também porque a população acredita que os efeitos colaterais são mínimos (SIMÃO, 2013).

4.1.8 *Cinnamomum zeylanicum*

4.1.8.1 Origem e importância

A canela é considerada como uma das especiarias mais antigas conhecidas pela humanidade. Seu nome científico *cinnamomum* possui origem da Indonésia, *kayu manis*, que significa “madeira doce”. Conhecida desde 2.500 anos a.C. pelos chineses, possuía mais valor do que o ouro. Na Arábia, era considerada uma mercadoria preciosa; os egípcios utilizavam-na para embalsamar seus mortos, junto com outros condimentos. Em 1498, com a descoberta do caminho para as Índias, os portugueses alcançaram o Ceilão (atual Sri Lanka), onde a canela era produzida em abundância. Os mesmos tiveram o monopólio do condimento até serem suplantados, no século XVII, pelos espanhóis que a comercializaram exclusivamente por um longo tempo; no século XVIII, por volta de 1776, o cultivo da canela começou a se espalhar pelo mundo. A canela era utilizada para aromatizar molhos e vinhos brancos, sendo também utilizada para perfumes (NEGRAES, 2003).

É uma planta pertencente à família Lauraceae. *Cinnamomum zeylanicum (Cinnamomum verum)* conhecida como “canela-da-índia” e “canela-do-ceilão” (Figura 1). É uma família que apresenta ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais do planeta, existindo aproximadamente 250 espécies distribuídas entre China, Índia e Austrália. A árvore da caneleira é perene, alcança de 8 a 17 metros e suas cascas e folhas são fortemente aromáticas. As flores são amarelas e pequenas, transformando-se posteriormente em bagas de cor púrpura-escura. A casca e as folhas são utilizadas como especiarias em cozinhas domésticas e seus óleos essenciais, destilados ou análogos sintéticos, são utilizados como agente aromatizante na indústria alimentar e de bebidas (SANTO, 2016).

Figura 1- Características gerais das cascas (A) e folhas (B) de *Cinnamomum zeylanicum*.

Fonte: próprio autor

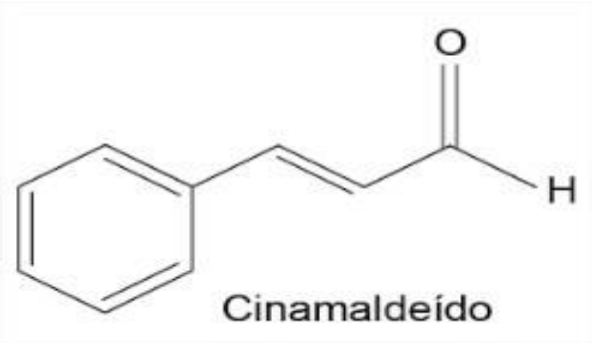
4.1.8.2 Composição química

De acordo com a literatura o óleo essencial da *Cinnamomum zeylanicum* possui em sua composição química as seguintes substâncias: ácido cinâmico, açúcares, aldeído benzênico, aldeído cumínico, benzoato de benzil, cimeno, cineol, elegeno, eugenol, felandreno, furol, linalol, metilacetona, mucilagem, oxalato de cálcio, pineno, resina, tanino e vanilina. (DIAS, 2009; SANTO, 2016;).

O óleo essencial da canela pode ser obtido tanto da casca quanto da folha, porém a composição química dos dois é diferente. No óleo essencial proveniente da casca seca de *Cinnamomum zeylanicum* os componentes marjoritários são cinamaldeído (77,72%) (Figura 2), acetato de (E)-cinamila (5,99%) e o monoterpenóide 1,8-cineol (4,66%). Já no óleo essencial obtido de folhas foram identificados 23 constituintes, sendo o eugenol (Figura 3) o composto que apresentou maior percentual (60%) (Figura 2) (ANDRADE et al, 2012).

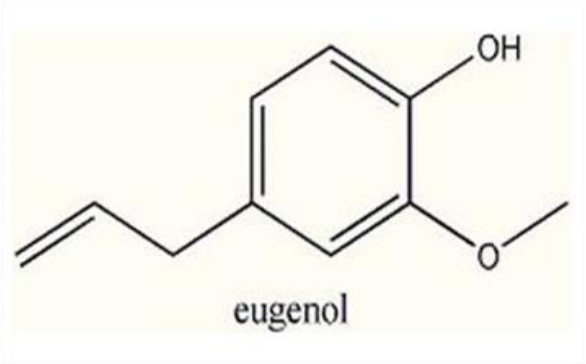
Existe uma diferença entre a utilização dos óleos essenciais da canela, o óleo obtido da casca é utilizado na aromatização de alimentos e o das folhas, na cosmética e na aromaterapia. O óleo essencial proveniente da casca é comumente utilizado devido sua ação antiespasmódica, anti-inflamatória, antibacteriano, antisséptico, anti-hipertensivo e inseticida (GROSSMAN, 2005).

Figura 2-Estrutura molecular do cinamaldeído.



Fonte: DUARTE RC. Estudo dos compostos bioativos em especiarias (*Syzygium aromaticum L, Cinnamomum zeylanicum Blume e Myristica fragans Houtt*) processadas por radiação ionizante. Fonte: São Paulo, 2014. Tese de Doutorado. Autarquia associada a universidade de São Paulo.

Figura 3-Estrutura molecular do eugenol.



Fonte: DUARTE RC. Estudo dos compostos bioativos em especiarias (Syzygium aromaticum L, Cinnamomum zeylanicum Blume e Myristica fragans Houtt) processadas por radiação ionizante. Fonte: São Paulo, 2014. Tese de Doutorado. Autarquia associada a universidade de São Paulo.

4.1.8.3 Propriedades terapêuticas

Estudos de diferentes partes do mundo têm demonstrado as inúmeras propriedades biológicas presentes nos óleos essenciais extraídos das folhas e cascas de algumas espécies de *Cinnamomum.* Tem sido estudado e atribuído à canela efeitos benéficos a saúde como: atividade antimicrobiana e antiparasitária (QUALE et al, 1996; YANG et al, 2005; ROSTIL et al, 2008) propriedades antioxidantes (JAYAPRAKASHA et al, 2007); atividade anti-inflamatória (GANAPATY e BEKNAL, 2005); redução dos níveis de glicose sanguínea, pressão arterial e colesterol sérico (NYADJEU et al, 2011; BANDARA et al, 2012; JAVED et al, 2012); efeitos protetores hepáticos e propriedades cicatrizantes (EIDI et al, 2012; FARAHPOUR e HABIBI et al, 2012). Além disso, a canela também pode apresentar

atividades contra distúrbios neurológicos, como doenças de Parkinson e Alzheimer (PETERSON et al, 2009; RANASINGHE et al, 2013).

Os extratos da canela por ter um teor elevado de polifenóis melhoram a função dos receptores da insulina levando ao aumento do reconhecimento da insulina pelo receptor, assim como também, melhoram a função dos transportadores de glicose no músculo esquelético e no tecido adiposo. Reduzindo significativamente os níveis séricos de glicose e o perfil lipídico (MEDAGAMA, 2015).

As propriedades terapêuticas da *Cinnamomum zeylanicum* descritas na literatura são indicativas de alto potencial para ser explorado como terapia alternativa no tratamento da obesidade e de doenças associadas a obesidade, principalmente por conta da sua atuação na diminuição dos níveis de glicose sanguínea e na perda do peso corporal (RANASINGHE et al, 2013).

4.1.8.4 Efeitos adversos atribuídos ao *Cinnamomum zeylanicum*

A literatura aponta que a ingestão de canela é segura quando ingerida por via oral em quantidades de até seis gramas por dia durante seis semanas ou menos (ULBRICHT et al., 2011). O Food and Drug Administration (FDA) reconheceu esta especiaria como um aditivo alimentar seguro (ULBRICHT et al., 2011).

No entanto, existem alguns cuidados a ter com a ingestão de canela, especialmente no caso de indivíduos que estejam tomando anticoagulantes dado que, segundo um estudo *in vitro*, a canela pode contribuir para a redução do número de plaquetas e aumentar o risco de hemorragias (ONDEROGLU et al., 1999; ULBRICHT et al., 2011). A ingestão de canela em concomitância com anti-lipidémicos deve ser ponderada uma vez que pode interferir com os níveis totais de colesterol e triglicerídeos, segundo estudos in vitro (SUBASH BABUA, 2007). A ingestão de canela deve também ser evitada em indivíduos que apresentem alergia ou hipersensibilidade a esta especiaria. As cumarinas, compostos presentes na componente lipídica da canela, podem conduzir a uma toxicidade hepática (LUNGARINI, 2008).

No que diz respeito às aplicações tópicas de canela, deve-se lembrar que a canela também é usada como constituinte de produtos de higiene pessoal, como sabonetes, pasta de dente e como aromatizantes de gengivas. Portanto, dermatite de contato, dermatite peri oral, gengivite, glossite, inflamação submucosa e alteração da epiderme superficial podem ocorrer após o contato com produtos que contenham canela, caso o indivíduo apresente alergia ou hipersensibilidade a qualquer componente desta especiaria (NABAVI et al, 2015).

5 MATERIAIS E MÉTODOS

5.1 LOCAL DO ESTUDO

A pesquisa foi realizada no Biotério do departamento de Antibióticos, no Laboratório de Histotecnologia e Microscopia do Programa de Pós-Graduação em Patologia e no Laboratório de Farmacognosia, todos localizados na Universidade Federal de Pernambuco.

5.2 PERÍODO DE REALIZAÇÃO

O estudo foi realizado no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2018. O tempo proposto foi de cinco meses para obtenção do modelo de obesidade acrescido do tempo de uso da substância testada, coleta e processamento do material e análises.

5.3 DESENHO E TIPO DE ESTUDO

Estudo do tipo experimental em ratos da linhagem *Wistar*.

5.4 OBTENÇÃO E TRATAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal constituído das folhas e das cascas do caule de *Cinnamomum zeylanicum* foi coletado no departamento de Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal de Pernambuco e os espécimes foram depositados no herbário Dárdaro de Andrade-Lima no instituto agronômico de Pernambuco com o número de Tombo 91609 (Anexo A). O material foi submetido à secagem em estufa de ar circulante durante 7 dias sob temperatura de 45 °C (LUCA-82-480, Lucadema®). Posteriormente, os materiais secos foram pulverizados usando um moinho de faca (TE-680, Tecnal®).

5.5 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS

Os extratos das folhas e cascas de canela foram obtidos por turbólise com o auxílio de um liquidificador industrial (Metvisa®) durante 20 minutos, com intervalos de 30 segundos cada ciclo extrativo de 5 minutos. Para cada 40 g de droga vegetal, seca e moída, foram empregados 400 mL da mistura acetona: água (7:3, v/v) líquido extrator, com proporção

droga vegetal/solvente de 10% (p/v). Os extratos foram filtrados em algodão com auxílio de vácuo e posteriormente foram concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida (40 ºC) para eliminação do solvente orgânico. Por fim, os extratos foram congelados em freezer (T = -80 ºC), durante 3 dias e liofilizados (L101, Liotop®), obtendo-se assim os extratos brutos (EB).

5.6 PROSPECÇÃO FITOQUÍMICA POR CROMATOGRAFIA EM CAMADA DELGADA (CCD)

Os perfis fitoquímicos (impressões digitais) qualitativos e/ou quantitativos, foram estabelecidos com o auxílio de cromatografia delgada. As amostras e os padrões foram aplicados de forma manual em placas cromatográficas de sílica gel 60 - F254 (MachereyNagel®). As bandas foram aplicadas com largura de 0,5 cm e com uma distância entre elas e das bordas das placas de 0,5 cm. O tamanho da largura e do comprimento das placas cromatográficas foi de 5 cm. As amostras foram aplicadas a 0,5 cm da origem e com término 0,5 cm do final da placa. As placas foram desenvolvidas em cubas após saturação durante 15 minutos com a fase móvel (Tabela 1), à temperatura ambiente. Após a eluição das placas, as mesmas foram secas à temperatura ambiente, observadas sob luz ultravioleta de 254 e 365 nm e luz visível, e em seguida foram digitalizadas. Na sequência foram reveladas com reagentes específicos para cada metabólito (Tabela 1). Ao final, os dados observados foram documentados quanto ao número, posição e coloração das bandas e estas foram comparadas às bandas dos padrões correspondentes.

Tabela 1 - Sistemas, reveladores e padrões utilizados na prospecção fitoquímica por CCD.
90:5:5 – Acetato de etila: ácido fórmico: água; 70:30 – Tolueno: acetato; 50:50:50 – Éter etílico: acetato de etila: ácido acético 10% (saturação); 100:11:11:26 - Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:20:10:10 - Acetato de etila: ácido acético: ácido fórmico: água; 50:6,75:5 - Acetato de etila: metanol: água; NEU: Neu’s reagent. PEG: polyethyleneglycol; KOH - Hidróxido de potássio; Δ – aquecimento; H_2SO_4: ácido sulfúrico; HNO_3: ácido nítrico.

Classe de Metabólito	Sistema	Revelador	Padrão
Polifenois (Taninos Hidrolisáveis)	90:5:5	NEU + PEG	**Ác. gálico e Ác. elágico**
Flavonoides			**Quercetina e Rutina**

Derivados Cinâmicos			**Ác. Cafeico e Ác. Clorogênico**
Taninos condensados		Vanilina clorídrica	**Catequina**
Terpenos e Esteroides	70:30	Lieberman-Burchard + Δ	**β-Sitosterol**
Saponinas	100:11:11:26		**Escina**
Cumarinas	50:50:50	KOH 10%+ Δ	**Cumarina**
Açúcares redutores	50:20:10:10	Timol + H_2SO_4 10% + Δ	**D-frutose**
Alcaloides	50:6,75:5	Dragendorf	**Nitrato de Pilocarpina**
Antraquinonas		**HNO_3 + KOH 10%**	**Antraquinona**

Fonte: Silva, 2018

5.7 ENSAIOS *"IN VIVO"*

5.7.1 Animais experimentais

O uso dos animais do presente trabalho foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA/CCB/UFPE) através do processo: 23076.041253/2016-21 (Anexo B), de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal (COBEA) e Conselho Nacional de Experimentação Animal (CONCEA). Foram utilizados 30 ratos albinos machos da linhagem *Wistar* (*Rattus norvegicus*) procedentes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

5.7.2 Dietas experimentais

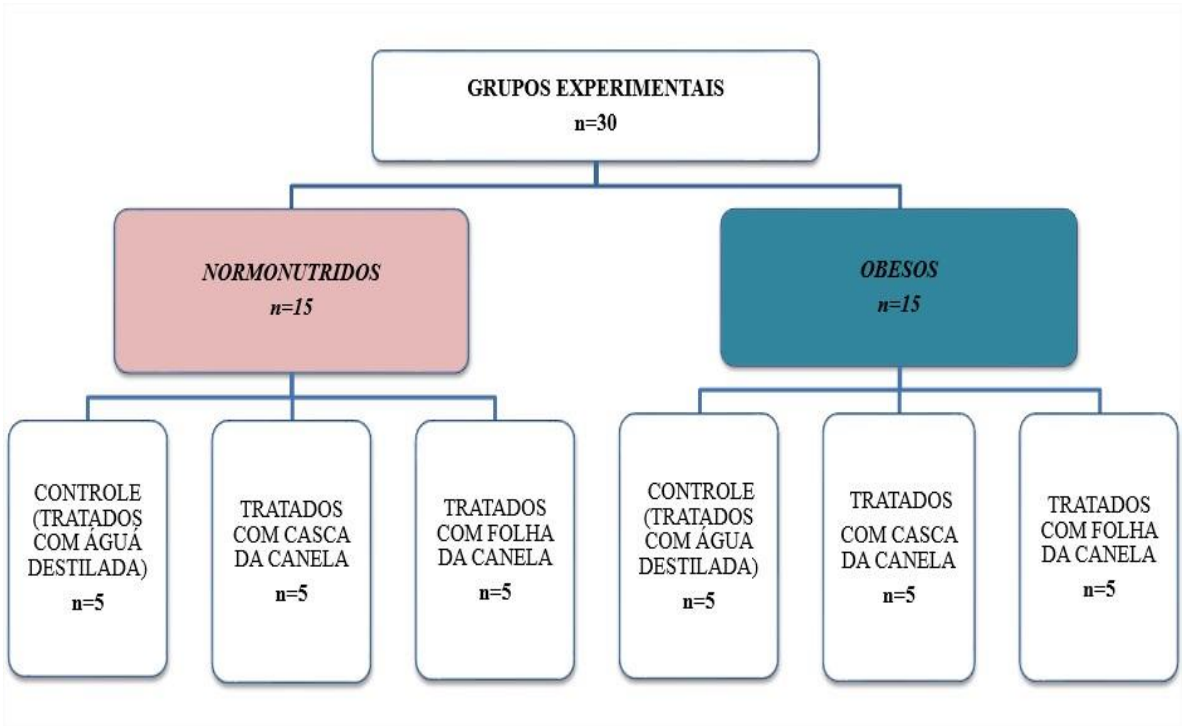
A dieta padrão utilizada no experimento, consistia de ração comercial desenvolvida para roedores da marca Presence®, composta de: farelo de milho, farelo de trigo, farelo de soja, carbonato de cálcio, fosfato, bicálcico, cloreto de sódio, aminoácido e premix mineral vitamínico. Possui em média 24,3g% de proteína, 56g% de carboidrato, 3,2g% de lipídios e 5,0g% de fibras com fornecimento calórico de 3,3kcal/g (Anexo C). A dieta hipercalórica (dieta ocidentalizada) utilizada possui ingredientes purificados/semipurificados industrializados (Laboratório Rhoster Indústria e Comércio) e alimentos naturais. Foi preparada no Departamento de Nutrição da UFPE, produzida para as fases de crescimento e

manutenção do rato com uso conforme a idade do animal, apresentando variações de seus componentes palatáveis para cada uma delas, mas com preservação dos teores nutricionais. As versões da dieta ocidentalizada, crescimento e manutenção foram baseadas em estudos anteriores (CAVALCANTE et al, 2013). Na fase de crescimento, esta teve seus valores de proteínas em torno de 18g%, lipídios 17g%, carboidratos 44g% e fibras 5,2% com fornecimento médio de 4,0Kcal/g; A dieta de manutenção situou-se em torno de 14% de proteínas, 18% de lipídios e 47% de carboidratos e 5,2% de fibras com fornecimento médio de 4,0Kcal/g (Anexo D).

5.7.3 Obtenção dos grupos experimentais

Os grupos experimentais foram formados por 30 ratos albinos da linhagem *Wistar*, machos, com 21 dias de idade (pós-desmame) divididos nos seguintes grupos: normonutridos (n=15) que receberam ração comercial padrão de biotério Presence® do 21° ao 120° dia de vida e obesos (n=15) que receberam ração hipercalórica (ocidentalizada) do 21° ao 120° dia de vida.

Figura 4- Esquema demonstrando a divisão dos animais experimentais nos seguintes grupos: normonutridos (n=15) que receberam ração comercial padrão de biotério Presence® e obesos (n=15) que receberam ração hipercalórica (ocidentalizada).



Fonte: Próprios autores

5.7.4 Tratamento antiobesidade com extratos de Canela (*C. zeylanicum*)

Após 99 dias de vida, já estabelecido o quadro de obesidade (animais entre 15-20% a mais de peso do que os animais controles normonutridos), os ratos foram divididos em subgrupos e receberam adição de tratamento por gavagem durante 21 dias, da seguinte forma: os animais dos grupos Normonutridos (n=15) e Obesos (n=15) foram divididos em seis subgrupos: Normonutridos Controle (n=05) que receberam ração comercial padrão de biotério Presence® e administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de água filtrada; Normonutridos Extrato Bruto Folha da Canela (n=05) que receberam ração comercial padrão de biotério Presence® e administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de dose do extrato bruto da folha da canela (*C. zeylanicum*); Normonutridos Extrato Bruto Casca da Canela (n=05) que receberam ração comercial padrão de biotério Presence® e administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de dose do extrato bruto da casca da canela (*C. zeylanicum*); Obesos Controle (n=05) que receberam ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) e administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de água filtrada; Obesos Extrato Bruto Folha da Canela (n=05) que receberam ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) e administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de dose do extrato bruto da folha da canela (*C. zeylanicum*); Obesos Extrato Bruto Casca da Canela (n=05) que receberam ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) e administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de dose do extrato bruto da casca da canela (*C. zeylanicum*);

As doses terapêuticas de segurança utilizadas para o tratamento antiobesidade pelos extratos de Canela (*C. zeylanicum*) foram determinadas de acordo com o guia para testes químicos da OECD-423 (OECD, 2001).

5.8 COLETA DE AMOSTRAS PARA REALIZAÇÃO DE ESTUDOS BIOQUÍMICOS E MATERIAL BIOLÓGICO (FÍGADO)

Aos 120° dia de vida, os animais dos respectivos grupos experimentais, foram submetidos a um jejum de 12 horas e anestesiados com Ketamina (45 mg/kg) e Xilazina (5 mg/kg) intramuscular. Os animais foram perfundidos transcardiacamente após serem anestesiados. Para a perfusão, foi aberta a cavidade torácica para obter acesso ao coração. Em seguida, antes do início da perfusão foi feita a coleta de amostra de sangue por punção cardíaca e o sangue foi acondicionado em tubos Vacutainer® sem anticoagulante, para

obtenção do soro para avaliação dos parâmetros bioquímicos. Posteriormente, no ventrículo esquerdo, foi introduzida uma cânula acoplada a uma bomba peristáltica (Milan® BR-600, Colombo, Paraná-PR, Brasil). A bomba peristáltica foi acionada em velocidade compatível com a manutenção da integridade dos vasos sanguíneos. Inicialmente com infusão 150ml de solução salina (NaCl, 0,9%) a temperatura ambiente para a remoção do sangue de dentro dos vasos. Posteriormente ocorreu a infusão da solução fixadora (4% de paraformaldeído em 4% de PBS, Ph 7,4, a 4°C). Ao final da passagem do fixador, os fígados foram retirados e adicionados em potes identificados contendo solução de formol a 10%.

5.9 ANÁLISE DO PERFIL BIOQUÍMICO

Para análise do perfil bioquímico, o material coletado foi centrifugado a 3500 rpm durante 10 minutos e, em seguida, foram determinados os parâmetros de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), colesterol total, triglicerídeos e glicose. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Doenças Carenciais e Metabólicas - UFRPE, através do aparelho AU680 Chemistry Analyzer, analisador de dosagens bioquímicas que utiliza sistema analítico químico totalmente automatizado. Todos os kits foram utilizados de acordo com as especificações do fabricante (LABTEST®).

5.10 ANÁLISE HISTOLÓGICA, MORFOMÉTRICA E ESTEREOLÓGICA DOS FÍGADOS

Após a fixação em solução de formol a 10% por 24 horas alguns parâmetros morfométricos foram analisados, os fígados foram pesados, sendo utilizado para essa medida balança digital da marca Kmach®, com capacidade máxima 700g e mínima 1g. A mensuração do índice hepatossomático (IHS) foi obtido pela relação entre o peso do fígado e o peso corporal no dia da eutanásia (IHS= peso do fígado/peso corporal X 100), além da relação entre o peso do lobo médio do fígado e o peso corporal no dia da eutanásia. O lobo médio foi separado dos demais e selecionado para aferição do peso e comprimento, para medir o comprimento foi utilizado um paquímetro da marca Lee Tools® (Figura 4B). Após a seleção das medidas, o lobo foi seccionado transversalmente em várias fatias de 2mm cada (Figura 4C). Sendo desprezado sempre a primeira fatia de cada lobo, após esta etapa foi aplicado uma fração de $\frac{1}{2}$ para seleção das fatias a serem estudadas (Figura 4D). Em seguida as fatias

selecionadas foram fotografadas e as fotos foram adicionadas ao programa imageJ (versão 1.3.4.67) para a quantificação estereológica do volume do lobo médio do fígado, através do princípio de Cavalieri, que consiste em um sistema de teste quadrático para calcular áreas e volumes. Esse Princípio foi empregado nos cortes macroscópicos, dispostos em fatias transversais utilizando-se a seguinte fórmula: $V = \Sigma P \; x \; (a / p) \; x \; t.$ Onde, $\sum P$ corresponde ao somatório de pontos do sistema teste que tocam a estrutura desejada (área seccional de qualquer órgão), *(a/p)* é a área associada a cada ponto do sistema teste, e *t* é a espessura de cada fatia (GARAVELLO, 2013).

Em seguida cada fatia foi seccionada em 6 fragmentos (Figura 4E) e todos os fragmentos foram distribuídos em uma superfície plana do menor para o maior fragmento e deste para o menor novamente em formato de "U"(Figuras 4F E 4G), onde foi aplicado uma fração de $\frac{1}{3}$ e após foram selecionados os fragmentos que foram analisados (Figuras 4H E 4I).

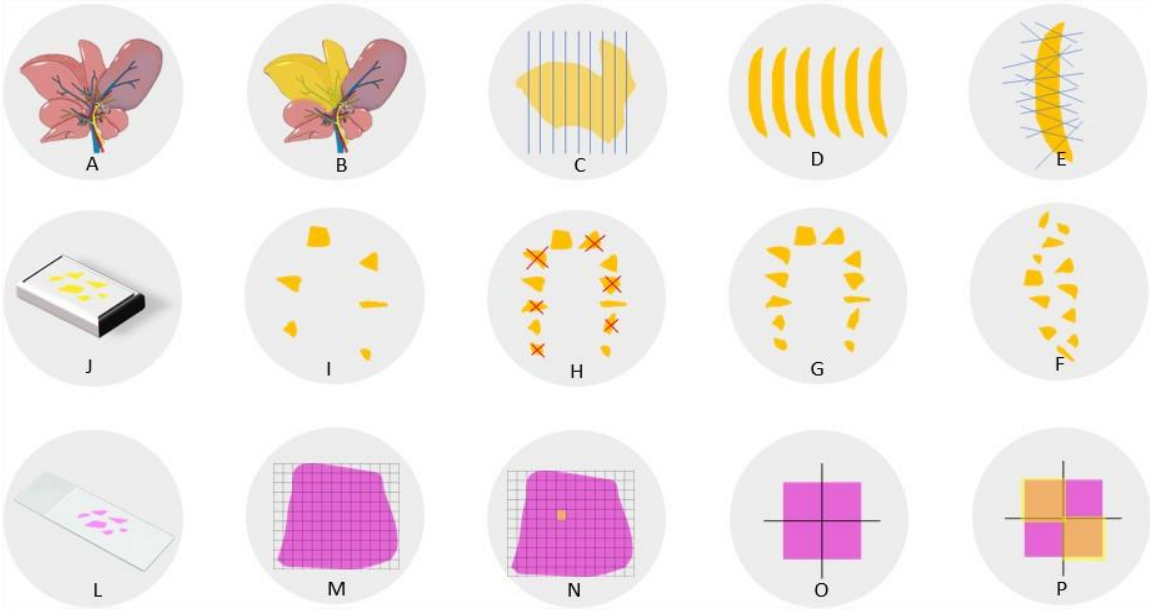
Em média de 10 a 12 fragmentos foram amostrados para serem inseridos nos cassetes histológicos e dispostos para processamento em um aparelho Histotécnico automatizado OMA modelo CM 69 (Figura 4J), onde o material foi submetido a uma serie de graduação de etanol à 70%, 85%, 95% e três sequências de etanol a 100%, por sessenta minutos, duas sequências de xilol por sessenta minutos em cada, e duas sequências de parafina aquecida a 56°C por sessenta minutos cada. Após este processo, o material foi emblocado em parafina.

Para a realização dos cortes na espessura de 5μm foi utilizado o micrótomo marca Leitz modelo 1512. Todos os fígados foram corados usando a técnica de hematoxilina-eosina para observação dos aspectos histomorfológicos do tecido (Figura 4L). O preparo das lâminas obedeceu aos seguintes passos: os cortes foram desparafinizados em duas passagens pelo xilol (5 minutos cada), hidratados em duas passagens por álcool 100%, seguidos por álcool 90% por 3 minutos cada, lavados em água por 5 minutos e corados por 2 minutos com hematoxilina de Harris (responsável pela coloração do núcleo da célula). Em seguida foram lavados novamente com água corrente por 5 minutos e corados pela eosina (responsável pela coloração do citoplasma e tecido conjuntivo) por 1 minuto; na sequência desidratados na bateria de desidratação por duas vezes de 3 minutos cada, passando por sequência de álcool sendo 70%, 95%, 100%, após foram lavados com xilol 2 vezes de 3 minutos cada, secados e fixados com lamínula de vidro.

Após este procedimento, as amostras foram encaminhadas para a leitura histológica por um pesquisador experiente em patologia animal para análise qualitativa. Das lâminas de cada animal foram selecionados cinco campos através de uma randomização para serem

fotografados pela câmera (Moticam 1000 1.3 MP) acoplada ao microscópio da marca Labomed por meio de um software Motic Image Plus 2.0, disponível no Laboratório de Microscopia do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco. Cada campo estava sobreposto a uma grade transparente com quadrados de $1mm^2$ (Figura 4M). Através de uma nova randomização foi selecionado apenas um quadrado por cada campo (Figura 4N). Esse quadrado foi dividido em quatro quadrantes que foram fotografados na objetiva de 400x através do software Motic Image Plus 2.0 (Figura 4O). Posteriormente foi aplicado uma nova fração de $\frac{1}{2}$ para a seleção de duas fotos por quadrado (Figura 4P). No total foram analisadas 300 fotos, 10 fotos de cada animal, dos 150 campos selecionados.

Figura 5- Esquema demonstrando a obtenção e amostragem dos fragmentos de tecido hepático de ratos para análise histológica até a escolha dos campos histológicos para fotografia e análise. A. ilustração de fígado de rato inteiro. B. Lobo médio do fígado de rato. C. Lobo médio do fígado de rato seccionado transversalmente em várias fatias de 2mm cada. D. Fatias selecionadas do lobo médio do fígado de rato. E. Seleção de 6 fragmentos de cada fatia do lobo médio do fígado de rato. F. Todos os fragmentos das fatias. G. Distribuição dos fragmentos de tecido hepático em uma superfície plana do menor para o maior fragmento e deste para o menor novamente em formato de "U". H. Aplicação de uma fração de $\frac{1}{3}$ para amostragem dos fragmentos. I. Fragmentos selecionados. J. Fragmentos nos cassetes histológicos. L. Lâmina corada através da técnica de hematoxilina-eosina. M. Campo sobreposto por uma grade transparente com quadrados de $1mm^2$ observados na objetiva de 100x. N. Seleção de um quadrado por cada campo. O. Quadrado dividido em quatro quadrantes que foram fotografados na objetiva de 400x. P. Seleção de duas fotos por quadrado para análise.



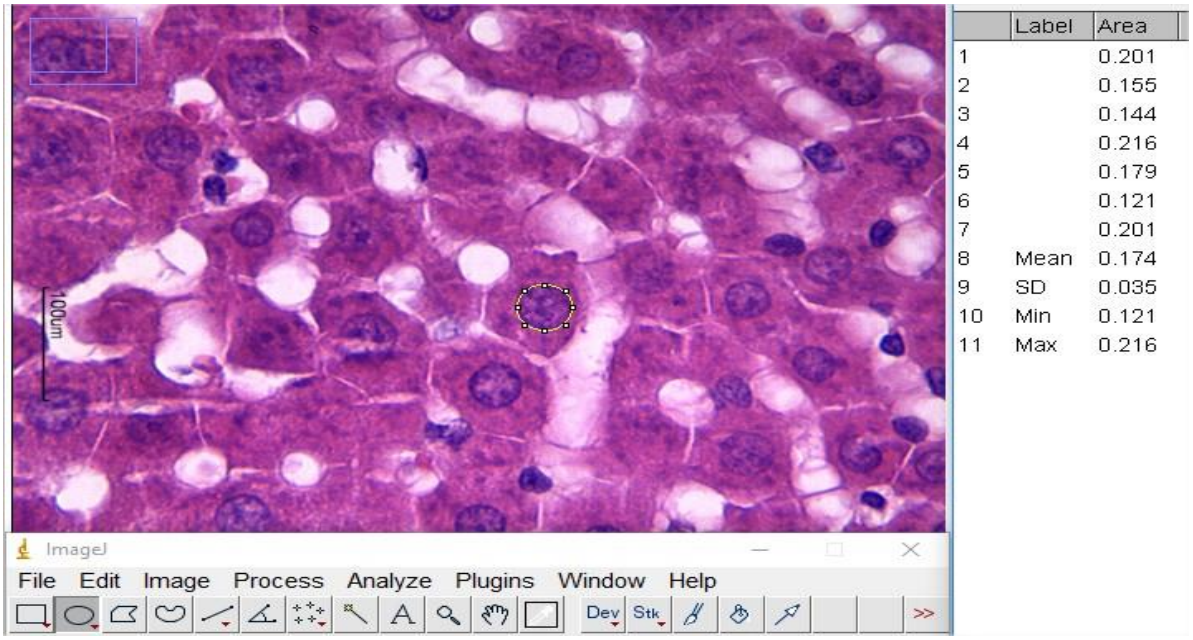
Fonte: Próprio autor

Através de parâmetros morfométricos foi quantificado a Área do núcleo dos hepatócitos e o número de hepatócitos binucleados. Das lâminas de cada animal foram realizadas fotomicrografias de 5 campos como descrito anteriormente. No total foram fotomicrografados 25 campos de cada grupo.

Para a mensuração da área dos núcleos dos hepatócitos utilizou-se o programa ImageJ (versão 1.3.4.67) que possibilita por meio de contorno da estrutura estudada através da ferramenta elipse, ou seja, o núcleo dos hepatócitos, a verificação da área, neste caso em μm^2 (Figura 5).

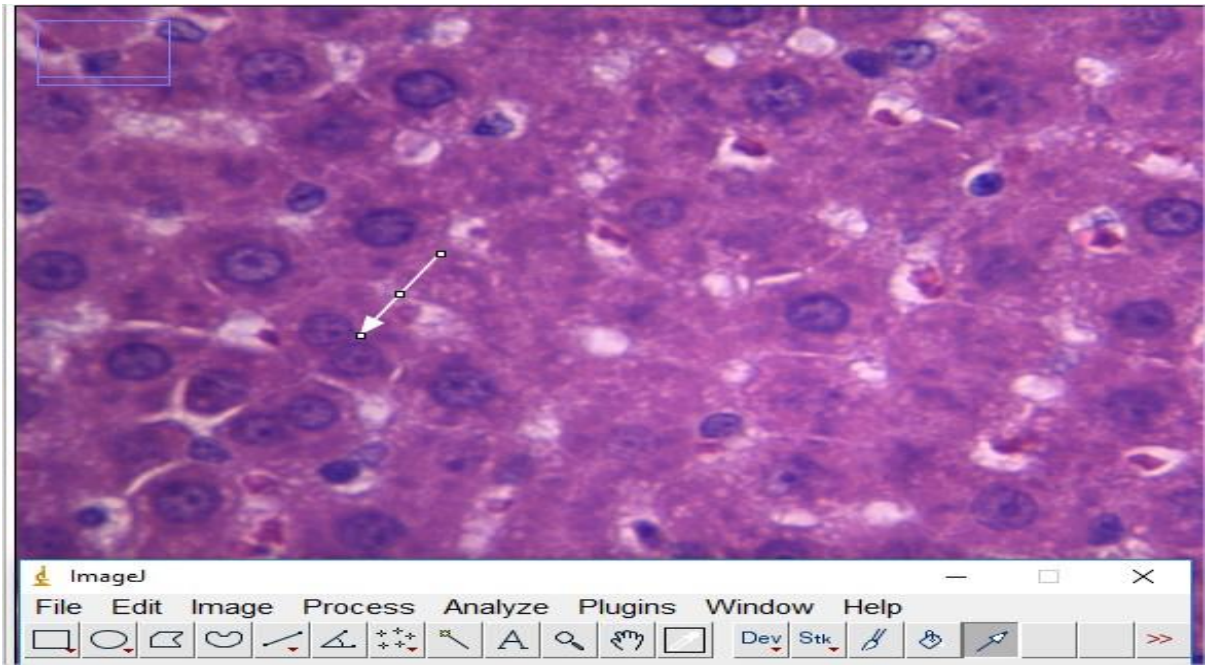
O mesmo programa foi utilizado para a quantificação numérica dos hepatócitos binucleados, foram quantificados os hepatócitos binucleados por grupo de forma semi-automática, utilizando o plugin para contagem do programa (Figura 6).

Figura 6- Área do núcleo do hepatócito mensurada através do programa ImageJ, através da ferramenta elipse após a seleção dos campos a serem analisados.



Fonte: Próprio autor

Figura 7- Número de hepatócitos binucleados quantificados de forma semi-automática, utilizando o plungin cell counter através do programa ImageJ após a seleção dos campos a serem analisados.



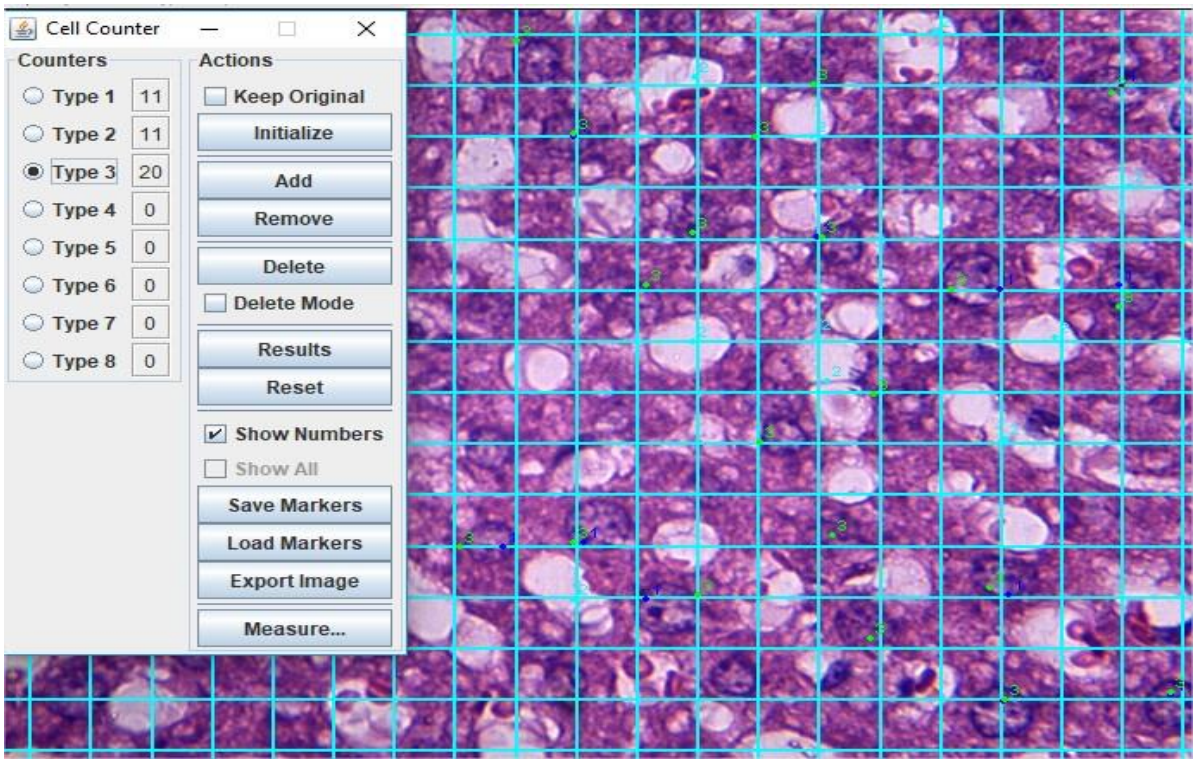
Fonte: Próprio autor

Foi investigado por meio dos parâmetros estereológicos a Densidade de Volume (Vv) dos seguintes componentes hepáticos: núcleo dos hepatócitos, capilares sinusóides, hepatócito com microesteatose. Assim, determinou-se a ocupação relativa da área-teste pela área de imagens da estrutura estudada já que a lei básica da estereologia é de que a quantidade relativa de pontos que tocam a estrutura é comparável a quantidade de volume desta estrutura na área-teste (LACERDA, 2000). A Densidade de Volume (Vv) foi calculada de acordo com a fórmula: $Vv[\text{estrutura}] = \frac{P[\text{estrutura}]}{P_T}$, em que $P[\text{estrutura}]$ é o número de pontos que cruzam a estrutura testada e P_T o número total de pontos-teste do sistema-teste. O $Vv[\text{estrutura}]$ pode ser multiplicado por 100 para expressar o resultado em percentagem (LACERDA,2000).

Das lâminas de cada animal também foram realizadas fotomicrografias de 5 campos com aumento de 400x como descrito anteriormente, foram fotomicrografados 25 campos de cada grupo.

Para a análise foi utilizado um sistema-teste de 352 pontos disponível no programa ImageJ (versão 1.3.4.67). Os pontos foram sobrepostos às imagens (Figura 7) e pela contagem de pontos foi possível determinar a Densidade de volume (Vv) das estruturas. Os dados foram organizados em planilhas e depois submetidos à análise estatística.

Figura 8- Mensuração da Vv de núcleo dos hepatócitos, sinusóide e esteatose através de um sistema de pontos sobrepostos aos campos selecionados, a grade foi instalada com uma área por ponto de 100µm^2, e a mensuração das estruturas foi feita por meio do plugin cell conter.



Fonte: Próprio autor

5.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram registrados em planilhas do Excel para análise dos dados paramétricos: média e desvio padrão. Para verificar diferenças nos valores médios e entre os grupos, foi utilizado o teste estatístico one-way ANOVA), complementado pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni. Para processamento de dados, foi utilizado o programa estatístico Graphpad Prism 6.0 (GraphPad Software inc., La Jolla, CA, USA). A maioria dos resultados foram considerados significantes com $p < 0.05$.

6 EFEITO DO EXTRATO DE *Cinnamomum zeylanicum* (CANELA) SOBRE O FÍGADO DE RATOS OBESOS: UMA ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA, MORFOMÉTRICA E ESTEREOLÓGICA

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença complexa, caracterizada pelo acúmulo anormal ou excessivo de gordura que pode se tornar um agravante para a saúde do indivíduo e provocar a morte, é um grave problema de saúde pública que afeta países em desenvolvimento e países desenvolvidos. Sua etiologia é multifatorial, acredita-se que fatores biológicos, psicológicos, econômicos, sociais, comportamentais e ambientais se inter-relacionam, ocasionando o surgimento de níveis elevados de gordura corporal [1,2].

A obesidade é considerada fator de risco para o desenvolvimento de várias doenças crônicas, como síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2, doenças do aparelho cardiovascular, doenças cerebrovasculares, câncer e doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) [3,4].

A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) tem sua prevalência particularmente associada a obesidade e sua patogênese é baseada no acúmulo de lipídios nos hepatócitos de indivíduos que não consomem álcool, desencadeado pelo desequilíbrio entre absorção, síntese hepática e excreção, acredita-se que este seja o primeiro passo para o desenvolvimento da doença [5]. O segundo passo está fundamentando na deposição lipídica que contribui para uma produção aumentada de espécies reativas de oxigênio e dá origem ao estresse oxidativo que juntamente com o processo inflamatório se torna responsável pelo surgimento e evolução das lesões hepáticas [6]. Tendo como base essas afirmações, o bloqueio do acúmulo de lipídios e do surgimento do estresse oxidativo é uma alternativa eficiente para prevenir o desenvolvimento da DHGNA.

Um crescente número de estudos sugere que o consumo de alimentos ricos em compostos fenólicos pode ter efeito hepatoprotetor, prevenindo a progressão de lesões relacionadas a DHGNA, principalmente devido a capacidade de neutralizar radicais livres, limitando o dano oxidativo e inflamatório [7,8,9]. Além disso, esses compostos atuam na redução das concentrações séricas de insulina [10], triacilglicerol [11] e colesterol [12].

Nesse contexto, a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) tem despertado atenção nos últimos anos devido aos efeitos benéficos vinculados à sua ingestão, relacionados,

principalmente, ao seu conteúdo de compostos fenólicos presentes em suas cascas [8,9,13,14,15,16,17,18,19,20].

A ingestão da canela tem sido vinculada à redução do estresse oxidativo [21], melhoria do perfil lipídico plasmático [22], dos níveis pressóricos [18] e diminuição dos níveis de glicose sanguínea [23]. No entanto, até essa data, nenhum trabalho sobre os efeitos do consumo dos compostos fenólicos presentes na casca e na folha da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) na progressão da DHGNA foi divulgado.

Considerando os benefícios do consumo de polifenois na DHGNA e do potencial da casca e da folha da canela, o objetivo deste estudo foi avaliar a ação do extrato bruto da folha e do extrato bruto da casca do caule da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) sobre os aspectos histopatológicos, morfométricos e estereológicos do fígado de ratos obesos e sobre parâmetros bioquímicos

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO E TRATAMENTO DO MATERIAL VEGETAL

O material vegetal constituído das folhas e das cascas do caule de *Cinnamomum zeylanicum* foi coletado no departamento de Farmácia da Universidade Federal de Pernambuco e os espécimes foram depositados no herbário Dárdaro de Andrade-Lima no instituto agronômico de Pernambuco com o n. de Tombo 91609. O material foi submetido à secagem em estufa de ar circulante durante 7 dias sob temperatura de 45 °C (LUCA-82-480, Lucadema®). Posteriormente, os materiais secos foram pulverizados, separadamente, usando um moinho de faca (TE-680, Tecnal®).

2.2 PRODUÇÃO DOS EXTRATOS BRUTOS DA CANELA

Os extratos das folhas e cascas de canela foram obtidos, separadamente, por turbólise com o auxílio de um liquidificador industrial (Metvisa®) durante 20 minutos, com intervalos de 30 segundos cada ciclo extrativo de 5 minutos. Para cada 40 g de droga vegetal, seca e moída, foram empregados 400 mL da mistura acetona: água (7:3, v/v) líquido extrator, com proporção droga vegetal/solvente de 10% (p/v). Os extratos foram filtrados em algodão com auxílio de vácuo e posteriormente foram concentrados em evaporador rotatório sob pressão reduzida (40ºC) para eliminação do solvente orgânico. Por fim, os dois tipos extratos brutos

foram congelados em freezer (T = -80 ºC), durante 3 dias e liofilizados (L101, Liotop®), obtendo-se assim os extratos brutos (EB) das folhas e das cascas do caule da canela.

2.3 ENSAIO BIOLÓGICO

2.3.1 Animais e desenho experimental

Foram utilizados 30 ratos albinos da linhagem *Wista*r, machos, com 21 dias de idade (pós desmame) e peso variável entre (60 - 75g), todos procedentes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, obtidos após aprovação pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA/CCB/UFPE) através do processo: 23076.041253/2016-21. Durante todo experimento, os animais foram mantidos em condições padrão de biotério (temperatura de 22 ± 2ºC) recebendo suas dietas sem restrição e água *ad libitum*, segundo recomendação ética do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).

Os animais foram separados em gaiolas formando dois grandes grupos, assim estabelecidos: Grupos Normonutridos (15 animais) e Grupos Obesos (15 animais). Os animais dos grupos normonutridos após o desmame receberam a dieta padrão para roedores da marca Presence®, do 21º ao 120º dia de vida. Os animais dos grupos obesos após o desmamem foram alimentados com a dieta hipercalórica (dieta ocidentalizada), do 21º ao 120º dia de vida.

Após 99 dias de vida, já estabelecido o quadro de obesidade (animais entre 15-20% a mais de peso do que os animais controles normonutridos), os ratos foram divididos em subgrupos e receberam adição de tratamento por gavagem durante 21 dias, da seguinte forma: Grupo Normonutrido Controle (n=05) - administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de água filtrada; Normonutridos Extrato Bruto Folha da Canela (n=05) - administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de dose do extrato bruto da folha da canela (*C. zeylanicum*); Normonutridos Extrato Bruto Casca da Canela (n=05) - administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de dose do extrato bruto da casca da canela (*C. zeylanicum*); Obesos Controle (n=05) - administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de água filtrada; Obesos Extrato Bruto Folha da Canela (n=05) - administração diária por via intra- gástrica (gavagem) de dose do extrato bruto da folha da canela (*C. zeylanicum*); Obesos Extrato Bruto Casca da Canela (n=05) - administração diária por via intra-gástrica (gavagem) de dose do

extrato bruto da casca da canela (*C. zeylanicum*); A dose utilizada no estudo foi de 200mg/kg/dia estabelecida após o teste de toxicidade aguda oral em ratos com os extratos brutos das folhas e das cascas da canela de acordo com o guia da OECD 423.

2.3.2 Dietas utilizadas

A dieta padrão utilizada no experimento, consistia de ração comercial desenvolvida para ratos de laboratório da marca Presence®, composta de: farelo de milho, farelo de trigo, farelo de soja, carbonato de cálcio, fosfato, bicálcico, cloreto de sódio, aminoácido e premix mineral vitamínico. Possui em média 24,3g% de proteína, 56,0g% de carboidrato, 3,2g% de lipídios e 5,0g% de fibras com fornecimento calórico de 3,3 kcal/g.

A dieta hipercalórica (dieta ocidentalizada) utilizada possui ingredientes purificados/semipurificados industrializados (laboratório Rhoster Indústria e Comércio) e alimentos naturais. Foi preparada no Departamento de Nutrição da UFPE, produzida para as fases de crescimento e manutenção dos ratos com uso conforme a idade do animal, apresentando variações de seus componentes palatáveis para cada uma delas, mas com preservação dos teores nutricionais. As versões da dieta ocidentalizada, crescimento e manutenção foram baseadas em Cavalcante et al., (2013). Na fase de crescimento, a dieta teve seus valores de proteínas em torno de 18g%, lipídios 17g%, carboidratos 44g% e fibras 5,2g% com fornecimento médio de 4,0 Kcal/g; A dieta de manutenção apresentou composição em torno de 14% de proteínas, 18% de lipídios, 47% de carboidratos e 5,2% de fibras com fornecimento médio de 4,0 Kcal/g.

Análises foram realizadas no Laboratório de Experimentação e Análises de Alimentos/Universidade Federal de Pernambuco (LEAAL/UFPE) com base nas informações fornecidas pelo fabricante dos ingredientes da dieta Ocidentalizada para crescimento/manutenção (Rhoster indústria e Comércio) e da dieta padrão de biotério (Presence® Ratos e Camundongos - Purina do Brasil S/A).

2.3.3 Coleta de sangue e tecidos

Aos 120° dia de vida, os animais dos respectivos grupos experimentais, foram submetidos a um jejum de 12 horas e anestesiados com Ketamina (45mg/kg) e Xilazina (5 mg/kg) intramuscular. Os animais foram perfundidos transcardiacamente após serem anestesiados. Para a perfusão, foi aberta a cavidade torácica para obter acesso ao coração. Em

seguida, antes do início da perfusão, foi feita a coleta de amostra de sangue por punção cardíaca e o sangue foi acondicionado em tubos Vacutainer® sem anticoagulante, para obtenção do soro para avaliação dos parâmetros bioquímicos. Posteriormente, no ventrículo esquerdo, foi introduzida uma cânula acoplada a uma bomba peristáltica (Milan® BR-600, Colombo, Paraná-PR, Brasil). A bomba peristáltica foi acionada em velocidade compatível com a manutenção da integridade dos vasos sanguíneos. Inicialmente com infusão 150ml de solução salina (NaCl, 0,9%) a temperatura ambiente para a remoção do sangue de dentro dos vasos. Posteriormente ocorreu a infusão da solução fixadora (4% de paraformaldeído em 4% de PBS, Ph 7,4, a 4°C). Ao final da passagem do fixador, os fígados foram dissecados e pesados em balança analítica e adicionados em potes identificados em solução fixadora de formol tamponado a 10% para as análises histopatológicas.

2.3.4 Análise dos parâmetros bioquímicos

As concentrações de aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), colesterol total, triglicerídeos e glicose, foram determinadas no plasma, utilizando-se kits comerciais (LABTEST®), em analisador bioquímico AU680 Chemistry Analyzer. Os ensaios foram realizados no Laboratório de Doenças Carenciais e Metabólicas – UFRPE.

2.3.5 Avaliação histológica, morfométrica e estereológica dos fígados

Após a fixação em solução de formol a 10% por 24 horas alguns parâmetros morfométricos foram analisados, os fígados foram pesados, sendo utilizado para essa medida balança digital da marca Kmach®, com capacidade máxima 700g e mínima 1g. A mensuração do índice hepatossomático (IHS) foi obtido pela relação entre o peso do fígado e o peso corporal no dia da eutanásia (IHS= peso do fígado/peso corporal X 100), além da relação entre o peso do lobo médio do fígado e o peso corporal no dia da eutanásia. O lobo médio foi separado dos demais e selecionado para aferição do peso e comprimento, para medir o comprimento foi utilizado um paquímetro da marca Lee Tools® (Figura 4B). Após a seleção das medidas, o lobo foi seccionado transversalmente em várias fatias de 2mm cada (Figura 4C). Sendo desprezado sempre a primeira fatia de cada lobo, após esta etapa foi aplicado uma fração de $\frac{1}{2}$ para seleção das fatias a serem estudadas (Figura 4D). Em seguida as fatias selecionadas foram fotografadas e as fotos foram adicionadas ao programa imageJ (versão

1.3.4.67) para a quantificação estereológica do volume do lobo médio do fígado, através do princípio de Cavalieri, que consiste em um sistema de teste quadrático para calcular áreas e volumes. Esse Princípio foi empregado nos cortes macroscópicos, dispostos em fatias transversais utilizando-se a seguinte fórmula: $V = \Sigma P \; x \; (a / p) \; x \; t.$ Onde, $\sum P$ corresponde ao somatório de pontos do sistema teste que tocam a estrutura desejada (área seccional de qualquer órgão), *(a/p)* é a área associada a cada ponto do sistema teste, e *t* é a espessura de cada fatia [24].

Em seguida cada fatia foi seccionada em 6 fragmentos (Figura 4E) e todos os fragmentos foram distribuídos em uma superfície plana do menor para o maior fragmento e deste para o menor novamente em formato de "U"(Figuras 4F E 4G), onde foi aplicado uma fração de $\frac{1}{3}$ e após foram selecionados os fragmentos que foram analisados (Figuras 4H E 4I).

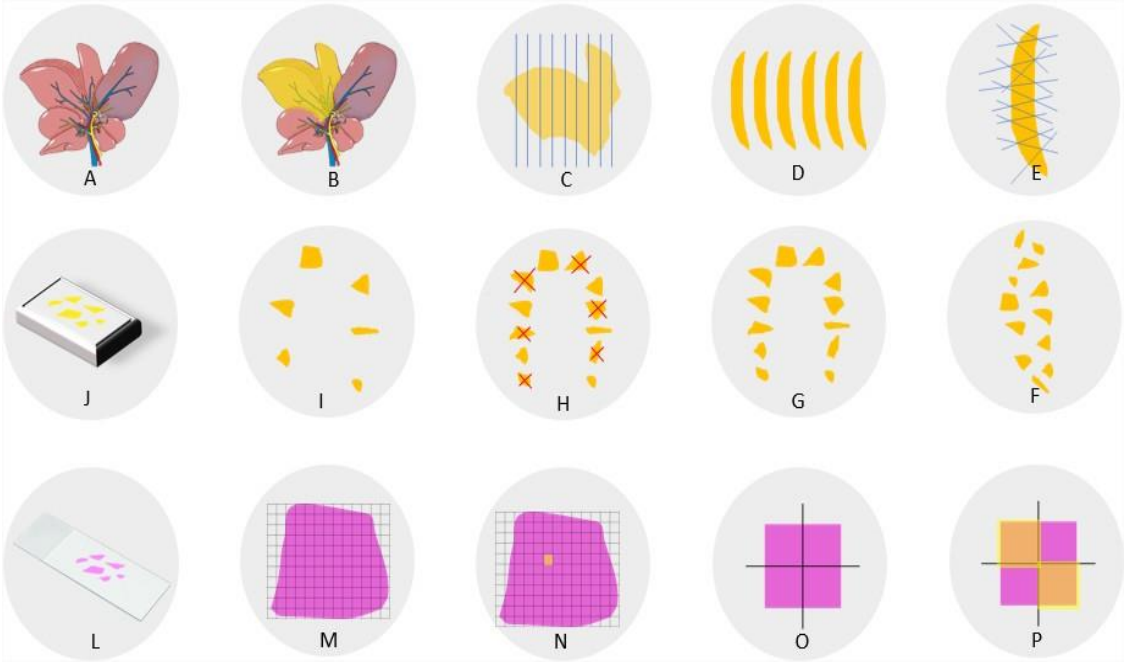
Em média de 10 a 12 fragmentos foram amostrados para serem inseridos nos cassetes histológicos e dispostos para processamento em um aparelho Histotécnico automatizado OMA modelo CM 69 (Figura 4J), onde o material foi submetido a uma serie de graduação de etanol à 70%, 85%, 95% e três sequências de etanol a 100%, por sessenta minutos, duas sequências de xilol por sessenta minutos em cada, e duas sequências de parafina aquecida a 56°C por sessenta minutos cada. Após este processo, o material foi emblocado em parafina.

Para a realização dos cortes na espessura de 5µm foi utilizado o micrótomo marca Leitz modelo 1512. Todos os fígados foram corados usando a técnica de hematoxilina-eosina para observação dos aspectos histomorfológicos do tecido (Figura 4L). O preparo das lâminas obedeceu aos seguintes passos: os cortes foram desparafinizados em duas passagens pelo xilol (5 minutos cada), hidratados em duas passagens por álcool 100%, seguidos por álcool 90% por 3 minutos cada, lavados em água por 5 minutos e corados por 2 minutos com hematoxilina de Harris (responsável pela coloração do núcleo da célula). Em seguida foram lavados novamente com água corrente por 5 minutos e corados pela eosina (responsável pela coloração do citoplasma e tecido conjuntivo) por 1 minuto; na sequência desidratados na bateria de desidratação por duas vezes de 3 minutos cada, passando por sequência de álcool sendo 70%, 95%, 100%, após foram lavados com xilol 2 vezes de 3 minutos cada, secados e fixados com lamínula de vidro.

Após este procedimento, as amostras foram encaminhadas para a leitura histológica por um pesquisador experiente em patologia animal para análise qualitativa. Das lâminas de cada animal foram selecionados cinco campos através de uma randomização para serem fotografados pela câmera (Moticam 1000 1.3 MP) acoplada ao microscópio da marca

Labomed por meio de um software Motic Image Plus 2.0, disponível no Laboratório de Microscopia do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Pernambuco. Cada campo estava sobreposto a uma grade transparente com quadrados de 1mm^2 (Figura 4M). Através de uma nova randomização foi selecionado apenas um quadrado por cada campo (Figura 4N). Esse quadrado foi dividido em quatro quadrantes que foram fotografados na objetiva de 400x através do software Motic Image Plus 2.0 (Figura 4O). Posteriormente foi aplicado uma nova fração de $\frac{1}{2}$ para a seleção de duas fotos por quadrado (Figura 4P). No total foram analisadas 300 fotos, 10 fotos de cada animal, dos 150 campos selecionados.

Figura 1- Esquema demonstrando a obtenção e amostragem dos fragmentos de tecido hepático de ratos para análise histológica até a escolha dos campos histológicos para fotografia e análise. A. ilustração de fígado de rato inteiro. B. Lobo médio do fígado de rato. C. Lobo médio do fígado de rato seccionado transversalmente em várias fatias de 2mm cada. D. Fatias selecionadas do lobo médio do fígado de rato. E. Seleção de 6 fragmentos de cada fatia do lobo médio do fígado de rato. F. Todos os fragmentos das fatias. G. Distribuição dos fragmentos de tecido hepático em uma superfície plana do menor para o maior fragmento e deste para o menor novamente em formato de "U". H. Aplicação de uma fração de $\frac{1}{3}$ para amostragem dos fragmentos. I. Fragmentos selecionados. J. Fragmentos nos cassetes histológicos. L. Lâmina corada través da técnica de hematoxilina-eosina. M. Campo sobreposto por uma grade transparente com quadrados de 1mm^2 observados na objetiva de 100x. N. Seleção de um quadrado por cada campo. O. Quadrado dividido em quatro quadrantes que foram fotografados na objetiva de 400x. P. Seleção de duas fotos por quadrado para análise.



Fonte: Elaboração dos autores.

Através de parâmetros morfométricos foi quantificado a Área do núcleo dos hepatócitos e o número de hepatócitos binucleados. Das lâminas de cada animal foram realizadas fotomicrografias de 5 campos como descrito anteriormente. No total foram fotomicrografados 25 campos de cada grupo.

Para a mensuração da área dos núcleos dos hepatócitos utilizou-se o programa ImageJ (versão 1.3.4.67) que possibilita por meio de contorno da estrutura estudada através da ferramenta elipse, ou seja, o núcleo dos hepatócitos, a verificação da área, neste caso em μm^2.

O mesmo programa foi utilizado para a quantificação numérica dos hepatócitos binucleados, foram quantificados os hepatócitos binucleados por grupo de forma semi-automática, utilizando o plugin para contagem do programa.

Foi verificado por meio dos parâmetros estereológicos a Densidade de Volume (Vv) dos seguintes componentes hepáticos: núcleo dos hepatócitos, capilares sinusóides, hepatócito com microesteatose. Assim, determinou-se a ocupação relativa da área-teste pela área de imagens da estrutura estudada já que a lei básica da estereologia é de que a quantidade relativa de pontos que tocam a estrutura é comparável a quantidade de volume desta estrutura na área-teste. A Densidade de Volume (Vv) foi calculada de acordo com a fórmula: $Vv[estrutura] = \frac{P[estrutura]}{P_T}$, em que P[estrutura] é o número de pontos que cruzam a estrutura testada e P_T o número total de pontos-teste do sistema-teste. O Vv[estrutura] pode ser multiplicado por 100 para expressar o resultado em percentagem [25].

Das lâminas de cada animal também foram realizadas fotomicrografias de 5 campos com aumento de 400x como descrito anteriormente, foram fotomicrografados 25 campos de cada grupo.

Para a análise foi utilizado um sistema-teste de 352 pontos disponível no programa ImageJ (versão 1.3.4.67). Os pontos foram sobrepostos às imagens e pela contagem de pontos foi possível determinar a Densidade de volume (Vv) das estruturas.

2.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram registrados em planilhas do Excel para análise dos dados paramétricos: média e desvio padrão. Para verificar diferenças nos valores médios e entre os grupos, foi utilizado o teste estatístico one-way (ANOVA), complementado pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni. Para processamento de dados, foi utilizado o programa estatístico Graphpad Prism 6.0 (GraphPad Software inc., La Jolla, CA, USA). A maioria dos resultados foram considerados significantes com $p < 0.05$.

3. RESULTADOS

3.1 EFEITO DO USO DOS EXTRATOS BRUTOS DA FOLHA DA CANELA E DA CASCA DA CANELA NOS INDICADORES BIOQUÍMICOS

Após a análise do perfil bioquímico dos animais, os parâmetros foram expressos na Tabela 1. No que se refere a função hepática, notou-se aumento dos níveis de aspartato aminotransferase (AST) nos animais do grupo obeso controle, assim como também foi observado uma melhora nos níveis de AST nos animais obesos tratados com extratos brutos da folha e da casca da canela. Nos animais normonutridos controle e tratados com os extratos os valores de AST permaneceram dentro da normalidade (61-210 U/L), não foi notado diferença estatística entre os grupos. Além disso, foi identificado uma diminuição da alanina aminotransferase (ALT) nos animais do grupo obeso casca, enquanto que os animais dos demais grupos apresentaram níveis de ALT dentro dos parâmetros desejáveis (38-82 U/L), havendo diferença estatística entre os grupos normonutrido controle e normonutrido folha *versus* obeso casca (58.61±11.41, 55.15±6.31, 37.41±4.48, p:0.0039, respectivamente) e entre os grupos obeso controle *versus* obeso casca (55.17±8.994; 37.41±4.48, p:0.0039).

Quanto ao perfil lipídico, não houve diferença estatística entre os grupos com relação ao colesterol, assim como também, os níveis de colesterol permaneceram dentro dos parâmetros normais (45 – 76mg/dL) tanto nos animais normonutridos quanto nos animais obesos tratados e não tratados com os extratos brutos da canela. Quanto aos níveis de triglicerídeos, notou-se valores elevados nos animais do grupo obeso controle, assim como também foi observado uma diminuição dos níveis triglicerídeos para valores desejáveis nos animais dos grupos obesos tratados com os extratos brutos da canela. Os animais dos grupos normonutridos controle e tratados permaneceram com valores de triglicerídeos normais. A diferença estatística esteve presente entre os grupos normonutrido controle *versus* obeso controle (82.09±13.68, 157.23±42.09, $p<0.0001$), normonutrido folha, normonutrido casca *versus* obeso controle (81.10±10.56, 65.23±16.14, 157.23±42.09, $p<0.0001$, respectivamente), obeso controle *versus* obeso folha (157.23±42.09, 57.10±10.25, $p<0.0001$) e obeso controle *versus* obeso casca (157.23±42.09, 93.08±41.08, $p<0.0001$).

Em se tratando do perfil glicêmico, apenas os animais do grupo obeso controle apresentaram níveis glicêmicos elevados, já os animais obesos tratados com os extratos brutos da canela apresentaram diminuição dos níveis glicêmicos para valores normais. Nos grupos dos animais normonutridos, a glicemia permaneceu dentro dos parâmetros desejáveis (72-193mg/dL). Não sendo observado diferença estatísticas entre os grupos.

Tabela 1- Valores bioquímicos de ratos normonutridos e obesos após 21 dias consecutivos de tratamento com extratos bruto de folhas e extrato bruto de cascas da canela na dose de 200 mg/kg/dia por gavagem.

	Grupos						
Parâmetros avaliados	**Normo**			**Obeso**			**VR**
	Controle	**Folha**	**Casca**	**Controle**	**Folha**	**Casca**	
AST (U/L)	162.69±32.5	170.10±30.99	147.42±16.3	225.22±97.38	158.22±21.42	203.15±537	61-210
ALT (U/L)	58.61±11.4[a]	55.15±6.31[b]	50.30±5.71	55.17±8.99[c]	43.18±10.93	37.41±4.48[abc]	38-82
CT (mg/dL)	57.81±9.93	68.21±8.47	62.72±5.29	75.76±14.94	60.19±5.37	70.32±9.81	45-76
TG (mg/dL)	82.09±13.68[d]	81.10±10.56[e]	65.23±16.14[f]	157.23±42.09[defgh]	57.10±10.25[g]	93.08±41.08[h]	22-100
Glicose (mg/dL)	149.37±23.58	161.68±38.51	168.12±38.08	197.78±57.17	170.92±47.07	162.14±45.28	72-193

Os valores representam a média ± DP (n= grupos de 5 animais). Letras minúsculas na mesma linha indicam diferenças estatísticas entre os grupos ($p<0.05$) (one-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni, $p< 0.05$) a- normonutrido controle *versus* obeso casca / b- normonutrido folha *versus* obeso casca/ c- obeso controle *versus* obeso casca/ d- normonutrido controle *versus* obeso controle/ e- normonutrido folha *versus* obeso controle/ f- normonutrido casca *versus* obeso controle/ g- obeso controle *versus* obeso casca/ h- obeso controle *versus* obeso casca. VR- Valor de referência; AST- aspartato aminotransferase; ALT- alanina aminotransferase; CT-Colesterol total; TG-Triglicerídeo.

Fonte: Elaboração dos autores.

3.2 EFEITO DO USO DOS EXTRATOS BRUTOS DA FOLHA DA CANELA E DA CASCA DA CANELA NOS PARÂMETROS HISTOPATOLÓGICOS E MORFOMÉTRICOS E ESTEREOLÓGICOS.

Com relação ao estudo histopatológico do tecido hepático dos ratos normonutridos controle (que não tomaram o extrato) observou-se: hepatócitos hiperplásicos e hipertróficos com núcleo único ou binucleado, atrofia dos cordões dos hepatócitos, presença de microesteatose discreta, necrose de coagulação e presença de células de Kupffer ativadas (Figura 2A). No grupo normonutrido tratado com extrato das folhas da canela notou- se: hepatócitos hipertróficos com núcleo único ou binucleado, atrofia dos cordões dos hepatócitos, necrose de coagulação, calcificação distrófica, congestão de veia centrolobular, microesteatose discreta e presença de células de Kupffer ativadas (Figura 2B). Nos animais do grupo normonutrido tratado com extrato das cascas da canela foi observado no fígado: hepatócitos hiperplásicos e hipertróficos com núcleo único ou binucleado, atrofia dos cordões dos hepatócitos, necrose de coagulação, dilatação dos capilares sinusóides, células de Kupffer ativadas e presença de microesteatose discreta a moderada (Figura 2C). Nos animais do grupo obeso controle observou- se: macroesteatose e microesteatose moderada/intensa, hepatócitos hipertróficos e hiperplásicos com núcleo único ou binucleado, presença de células de Kupffer ativadas, necrose de coagulação difusa e moderada e dilatação dos capilares sinusóides (Figura 2D). No grupo obeso tratado com extrato das folhas da canela constatou-se: macroesteatose e microesteatose difusa leve a moderada quando comparada aos fígados dos animais obesos controle, presença de células de Kupffer ativadas, atrofia dos cordões dos hepatócitos, dilatação dos capilares sinusóides, congestão de veia centrolobular, hepatócitos hipertróficos e hiperplásicos com núcleo único ou binucleado e necrose de coagulação focal (Figura 2E). No grupo obeso tratado com extrato das cascas da canela observou-se:

Macroesteatose e microesteatose difusa leve a moderada quando comparado aos animais obesos que não receberam tratamento, necrose de coagulação focal, dilatação dos capilares sinusóides, atrofia dos cordões dos hepatócitos presença de células de Kupffer ativadas e hepatócitos hipertróficos e hiperplásicos com núcleo único ou binucleado (Figura 2F).

Figura 2 - Fígado de ratos normonutridos e obesos tratados durante 21 dias com dose de 200 mg/kg de extrato bruto de folhas e cascas de *Cinnamomum zeylanicum*. Coloração hematoxilina-eosina.

Figura A - Fígado de ratos normonutridos controle. Notar: hepatócitos hiperplásicos e hipertróficos com núcleo único ou binucleado (HH, HB), atrofia dos cordões dos hepatócitos (CH), presença de microesteatose discreta (ME), necrose de coagulação (NC) e discreta e presença de células de Kupffer ativadas (K).

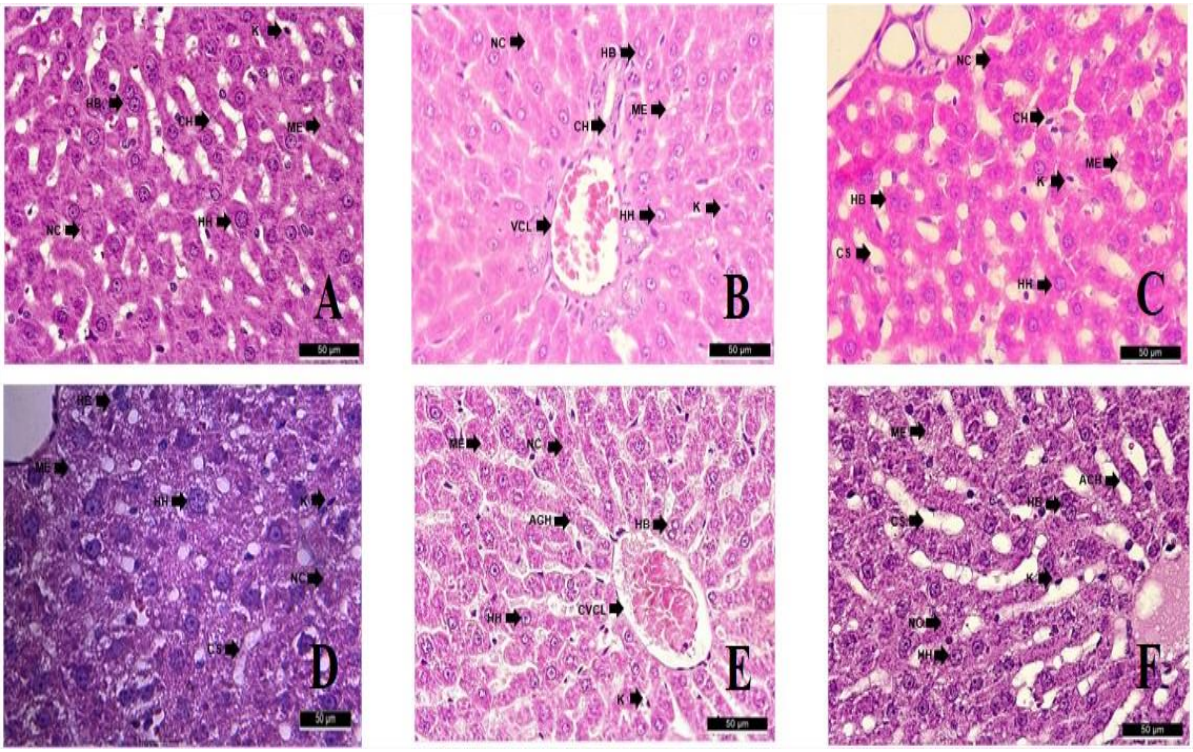
Figura B - Fígado de ratos normonutridos tratados com extrato bruto de folhas de *Cinnamomum zeylanicum*. Notar: hepatócitos hipertróficos com núcleo único ou binucleado (HH, HB), necrose de coagulação (NC), microesteatose discreta (ME), congestão de veia centrolobular (VCL) e presença de células de Kupffer ativadas (K).

Figura C - Fígado de ratos normonutridos tratados com extrato bruto das cascas de Cinnamomum zeylanicum. Notar: hepatócitos hiperplásicos e hipertróficos com núcleo único ou binucleado (HH, HB), necrose de coagulação (NC), dilatação dos capilares sinusóides (CS), células de Kupffer ativadas (K) e presença de microesteatose discreta a moderada (ME).

Figura D- Fígado de ratos obesos controle. Notar: esteatose difusa (moderada), macro e microvesicular (ME), presença de células de Kupffer ativadas (K), necrose de coagulação difusa e moderada (NC), dilatação dos capilares sinusóides (CS) e hepatócitos hipertróficos com núcleo único ou binucleado (HH,HB).

Figura E – Fígado de ratos obesos tratados com extrato bruto de folhas de *Cinnamomum zeylanicum*. Notar: esteatose difusa (leve a moderada), microvesicular (ME), presença de células de Kupffer ativadas (K), congestão na veia centrolobular (CVCL), necrose de coagulação focal (NC), atrofia dos cordões dos hepatócitos (ACH) e hepatócitos hipertróficos com núcleo único ou binucleado (HH,HB).

Figura F – Fígado de ratos obesos tratados com extrato bruto das cascas de *Cinnamomum zeylanicum*. Notar: Esteatose difusa leve, microvesicular (ME), dilatação dos capilares sinusóides (CS), necrose de coagulação focal (NC), atrofia dos cordões dos hepatócitos (ACH) presença de células de Kupffer ativadas (K) e de hepatócitos hipertróficos com núcleo único ou binucleado (HH,HB).



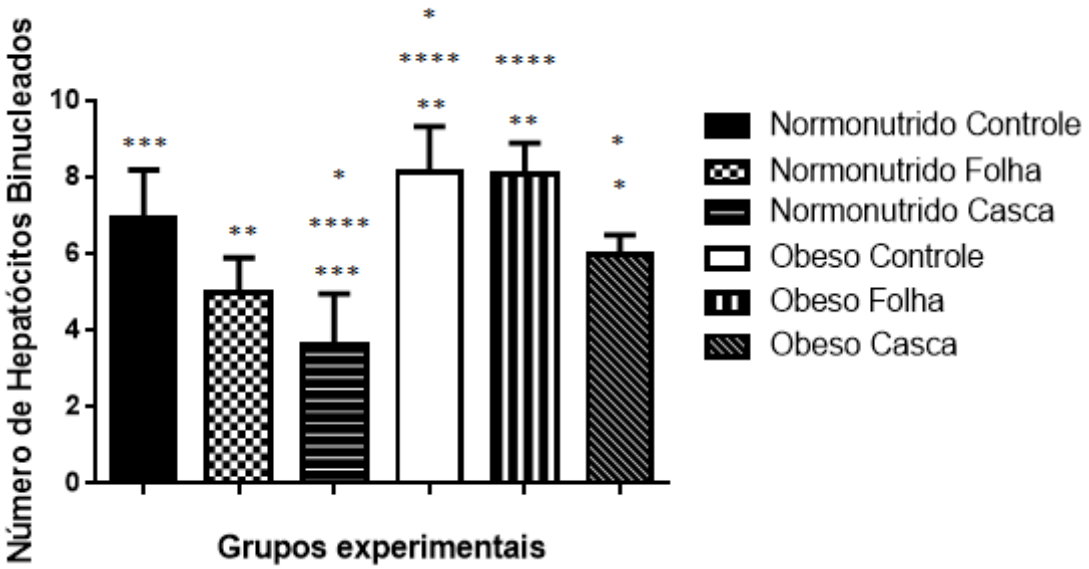
Fonte: Elaboração dos autores.

No que se refere ao índice hepatossomático do peso do fígado e do peso do lobo médio do fígado, não houve diferença estatística entre os grupos, assim como não houve diferença entre os grupos com relação ao comprimento do lobo médio hepático.

Com relação ao quantitativo de hepatócitos binucleados, observou-se que os grupos obesos controle (8.12±1.19, p<0.0001) e obeso tratado com extrato da folha da canela (8.06±0.82, p<0.0001) apresentaram um aumento da binucleação dos hepatócitos, quando comparados aos grupos normonutridos. Observou-se também que o tratamento com a casca diminuiu a binucleação nos animais normonutridos e obesos, já o extrato da folha diminuiu a binucleação apenas nos animais normonutridos. Havendo diferença estatisticamente significativa entre os grupos normonutrido controle *versus* normonutrido casca (6.92±1.26, 3.64 ±1.30, p<0.0001), normonutrido folha *versus* obeso controle e obeso folha (4.98 ±0.90, 8.12±1.19, 8.06±0.82, p<0.0001) respectivamente, normonutrido casca *versus* obeso controle e obeso folha 3.64±1.30, 8.12±1.19, 8.06±0.82, p<0.0001) respectivamente, normonutrido casca *versus* obeso casca (3.64 ±1.30 5.96 ± 0.53, p<0.0001, e obeso controle *versus* obeso casca (8.12±1.19, 5.96 ± 0.53, p<0.0001) (Figura 3).

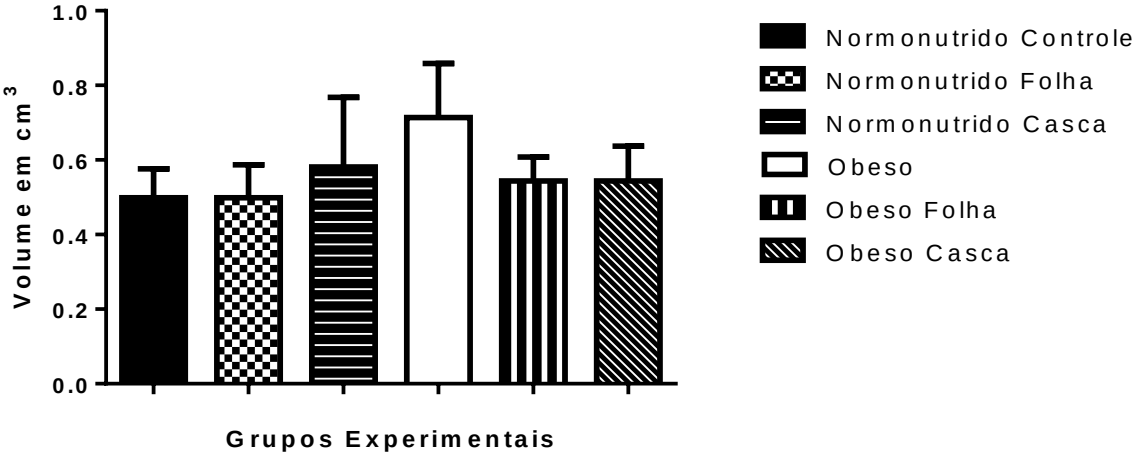
Figura 3 –Hepatócitos binucleados, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias. Os

valores estão representados por média ± desvio padrão (DP). Significância obtida a partir do teste one-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni (p<0,05). *** (p<0.0001) normoutrido controle *vs* normonutrido casca; **(p<0.0001) normonutrido folha *vs* obeso controle e obeso folha; **** (p<0.0001) normonutrido casca *vs* obeso controle e obeso folha; *(p<0.0001) normonutrido casca *vs* obeso casca e *(p<0.0001) obeso controle *vs* obeso casca.



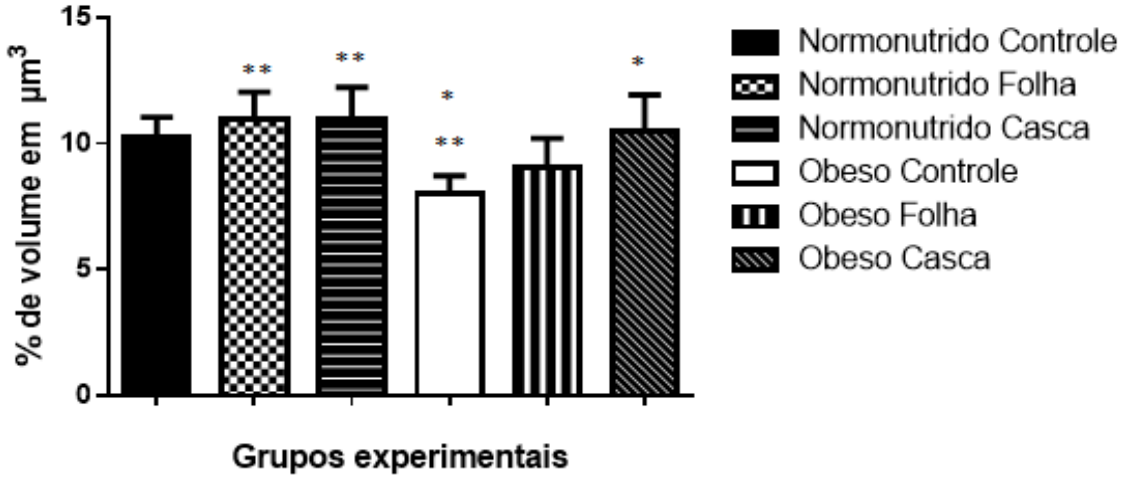
O volume do lobo médio do fígado ou volume referência (Vref) estimado pelo método de Cavalieri não apresentou diferença estatística entre os grupos experimentais, porém o grupo obeso controle (0.714± 0.14, p:0.0734) apresentou um maior volume quando comparado aos animais normonutridos controle (0.499± 0.07, p:0.0734). Além de observarmos diminuição do volume dos fígados dos animais obesos tratados com extrato da folha (0.544± 0.06, p:0.0734) e da casca (0.554±0.09, p:0.0734) da canela (Figura 4).

Figura 4- Volume do lobo médio do fígado ou volume referência (Vref) estimado pelo método de Cavalieri, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias. Os valores estão representados média ± desvio padrão (DP). Não houve diferença significativa entre os grupos. Significância obtida a partir do teste one-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni (p:0.0734).



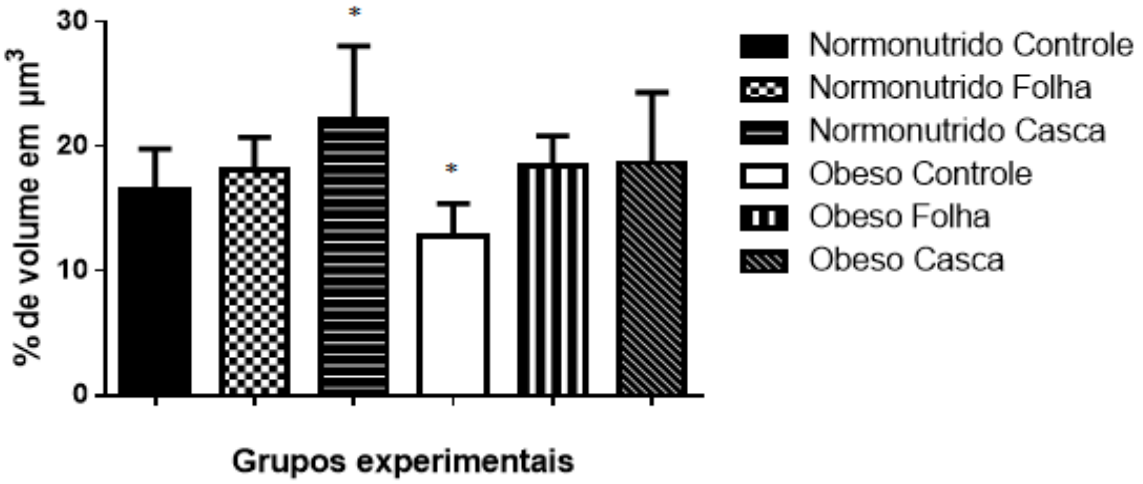
Ao se utilizar análises estereológicas para verificar alterações promovidas ou pela obesidade ou pelos tratamentos, constatou-se que os animais obesos apresentaram valores da densidade de volume (Vv) dos núcleos dos hepatócitos menores que os animais normonutridos e que o tratamento com os extratos da canela ocasionam aumento da Vv do núcleo dos hepatócitos nos animais obesos e normonutridos, havendo diferença estatisticamente significativa deste aumento nos animais normonutridos folha e normonutridos casca *versus* obeso controle (10.96±1.08, 10.98± 1.24, 8.02±0.69, p:0.0012) e obeso controle *versus* obeso casca (8.02±0.69, 10.47±1.45, p:0.0012) (Figura 5).

Figura 5 – Densidade de volume de núcleo Vv [núcleo do hepatócito] em μm^3, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias. Os valores estão representados por média± desvio padrão (DP). Significância obtida a partir do teste one-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p<0,05$). **(p:0.0012) normonutridos folha e normonutridos casca *vs* obeso controle; *(p:0.0012) obeso controle *vs* obeso casca.



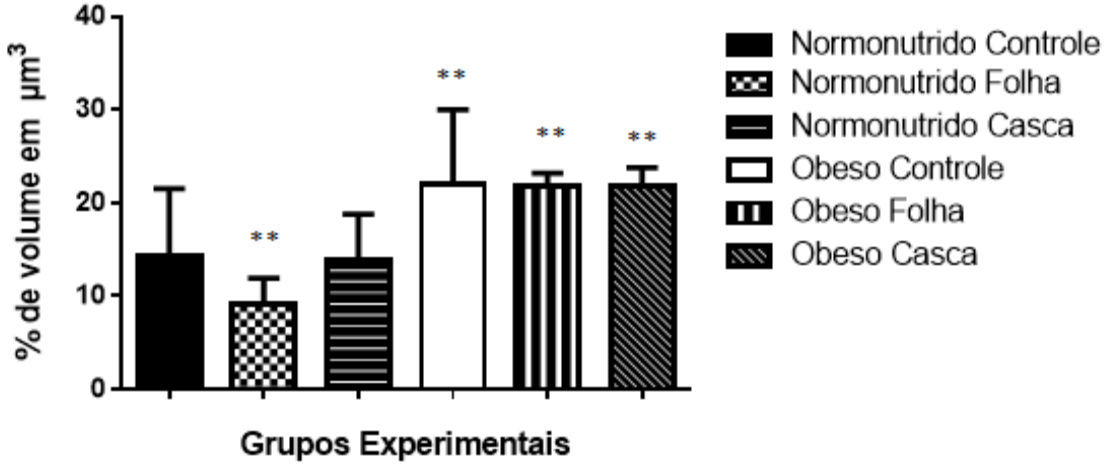
Em se tratando dos resultados da Vv sinusóide notou-se que os animais dos grupos normonutridos e obesos tratados com extrato da casca e da folha da canela obtiveram aumento da Vv de sinusóide e que a Vv sinusóide estava diminuída nos animais do grupo obeso controle quando comparados aos animais do grupo normonutrido controle, havendo diferença estatística entre o grupo normonutrido casca *versus* obeso controle (22.10± 5.91, 12.72±2.65, p:0.0345) (Figura 6).

Figura 6 – Densidade de volume de sinusóides Vv [sinusóide] em µm^3, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias. Os valores estão representados por média ± desvio padrão (DP). Significância obtida a partir do teste one-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni (p<0,05). *(p:0.0345) normoutrido casca *vs* obeso controle.



A densidade de hepatócitos com esteatose (Vv esteatose) foi menor nos normonutridos em relação aos obesos, havendo diferença estatística entre o grupo normonutrido folha e os grupos obeso controle, obeso folha e obeso casca (9.10±2.8, 22.0±8.0, 21.70±1.5, 21.80±2.0, p:0.0011, respectivamente) (Figura 7).

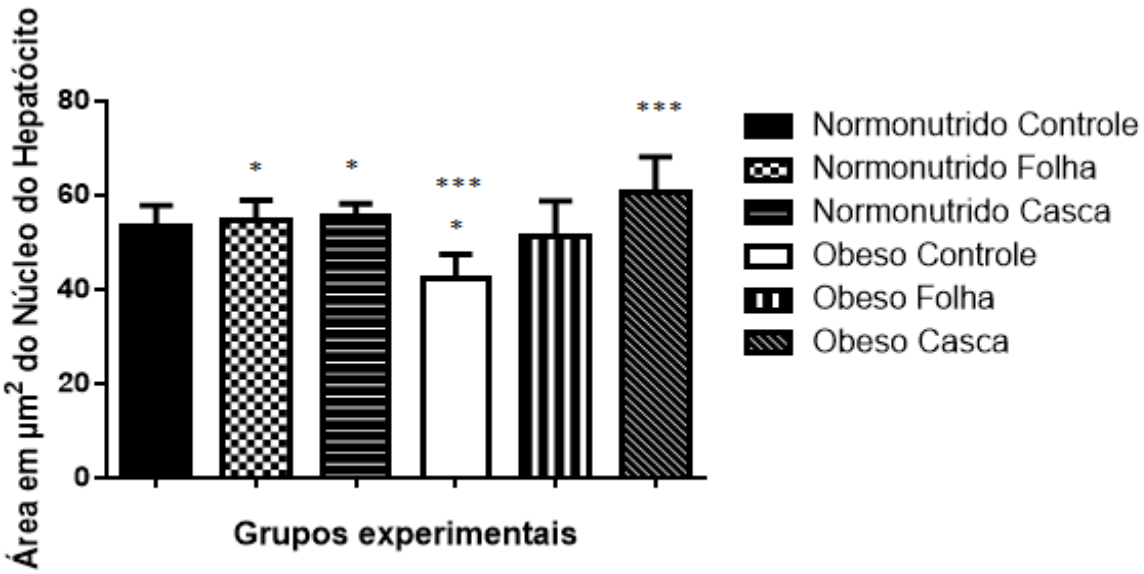
Figura 7 – Densidade de volume de hepatócitos com esteatose Vv [esteatose] em μm^3, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela (*C. zeylanicum*) durante 21 dias. Os valores estão representados por média ± desvio padrão (DP). Significância obtida a partir do teste one-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni (p<0,05). **(p:0.0011) normonutrido folha *vs* obeso controle, obeso folha e obeso casca.



Quanto a mensuração da área nuclear dos hepatócitos identificou-se que o grupo de animais obesos controle (42.42 ±5.08, p<0.0010) apresentou uma diminuição da área nuclear dos hepatócitos em relação ao grupo de animais normonutridos controle (53.35±4.48, p<0.0010), mas sem diferença estatística. Além disso, foi possível identificar que os extratos da folha e da casca da canela aumentaram a área nuclear tanto nos animais normonutridos quanto nos obesos. Houve diferença estatística entre os grupos normonutrido folha e normonutrido casca *versus* obeso controle (54.57± 4.36,55.60± 2.62, 42.42 ±5.08, p<0.0010) respectivamente e entre os grupos obeso controle *versus* obeso casca (42.42 ±5.08,60.70 ±7.43, p<0.0010) (Figura 8).

Figura 8 – Área de núcleo dos hepatócitos em μm^2, (ratos *Wistar*) normonutridos (controle) e obesos tratados ou não com extratos bruto da casca e da folha da canela *(C. zeylanicum*) durante 21 dias. Os valores estão representados por média ± desvio padrão (DP). Significância

obtida a partir do teste one-way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p<0,05$). *($p<0.0010$) normoutrido folha e normonutrido casca *vs* obeso controle; ***($p<0.0010$) obeso controle *vs* obeso casca.



4. DISCUSSÃO

Muitos distúrbios fisiopatológicos (hipertensão arterial sistêmica, diabetes, aterosclerose, hiperlipidemia, esteatose hepática e câncer) são diretamente causados ou agravados pela obesidade, com consequente aumento da morbidade e da redução da expectativa e qualidade de vida [26,27]. Nos últimos anos, o interesse em estudar os fitoterápicos tem sido focado sobre os potenciais efeitos biológicos dos polifenóis, presentes nesses compostos, sobre a prevenção da obesidade e de manifestações clínicas associadas [28,29]. Recentemente, estudos sugerem que a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) pode ser eficaz na redução dos níveis de glicose sanguínea, pressão arterial e colesterol sérico [18,19,20], além de apresentar efeitos protetores hepáticos e propriedades cicatrizantes [8,9].

No presente estudo, procuramos investigar o potencial da canela sobre o perfil bioquímico e sobre os aspectos histopatológicos, morfométricos e estereológicos em fígados e ratos com obesidade induzida por uma dieta hipercalórica.

No que se refere a função hepática, não houve alterações nos grupos normonutridos dos valores de AST e ALT. Entretanto, os animais do grupo controle obeso apresentaram níveis elevados de AST e os animais do grupo obeso casca apresentaram uma diminuição leve dos valores de ALT. Song et al. (2016) obtiveram resultados parecidos em camundongos

hipercolesterolêmicos suplementados com extrato de amora, sugerindo efeito hepatoprotetor do extrato devido à redução dos níveis séricos de ALT e AST [30]. Similarmente, a administração diária de açaí diminuiu as concentrações plasmáticas de ALT e hepáticas de TG em animais submetidos à dieta rica em gorduras [31]. Os autores relacionaram esses efeitos protetores ao conteúdo de compostos bioativos dessas frutas, conhecidas como fontes naturais de compostos fenólicos e flavonoides, que também são compostos encontrados no extrato da canela. Uma outra pesquisa realizada com ratos que sofreram lesão hepática decorrente do uso de acetominofeno, também corrobora com a hipótese do poder hepatoprotetor da canela (*Cinnamomum zeylanicum*), nessa pesquisa foi evidenciado diminuição/restauração dos níveis de ALT e AST de animais com lesões hepáticas [21].

Essas enzimas são consideradas marcadores de lesão hepatocelular inespecífica e, de acordo com Pacífico et al. (2007) os níveis de transaminases estão diretamente relacionados ao aumento na fração de gordura hepática [32]. Charatcharoenwitthaya et al. (2012), entretanto, observaram que em pacientes com DHGNA, os níveis de AST oscilaram durante o curso da doença e que, em alguns casos, as concentrações dessas enzimas estão dentro dos parâmetros normais [33]. Essa hipótese também foi encontrada em outro estudo feito com ratos alimentados com dieta rica em gorduras, por 12 semanas, onde foi observado um aumento dos níveis de fosfatase alcalina e uma manutenção dos valores de AST e ALT [34].

Em relação ao perfil lipídico, notou-se que a dieta hipercolesterolêmica elevou os níveis de triglicerídeos, apesar de não alterar os níveis de colesterol total tanto nos grupos normonutridos quanto nos grupos obesos, resultado que difere de outras pesquisas realizadas com animais submetidos a dietas com alto teor de gorduras, que demonstraram também um aumento dos níveis de colesterol total nos animais obesos [35,36]. Havendo diferença estatística $p<0,05$ entre os grupos controles, normonutrido *versus* obeso, reforçando a hipótese que o modelo utilizado foi adequado para elevar os níveis de triglicerídeos conforme dados da literatura [37]. Também foi constatado que nos animais obesos o tratamento com o extrato da folha e da casca da canela foi eficaz na redução dos níveis de triglicerídeos sanguíneos. Esse resultado encontra-se de acordo com a literatura, Javed, et al., (2012) e Kassaee, et al., (2017) demonstraram que a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) reduz significativamente o triglicerídeo, o colesterol total e o colesterol LDL (lipoproteína de baixa densidade), enquanto aumenta significativamente o colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade) em coelhos com hiperlipidemia e hamsters hiperlipidêmicos, respectivamente [20,38]. Outro estudo realizado no Sri Lanka por Ranasinghe e Gunatilake, et al. (2012) demonstrou que canela (*Cinnamomum zeylanicum*) reduz significativamente o colesterol total e o colesterol LDL, ao

passo que nenhuma alteração significativa nos níveis de triglicerídeo e nos de colesterol HDL foi observada em ratos saudáveis, diferindo dos presentes achados [22]. O possível motivo para os diferentes achados nesses estudos, é que a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) tem o potencial de reduzir os níveis de triglicerídeos e melhorar o colesterol HDL apenas em participantes dislipidêmicos. O mecanismo para os efeitos de redução de lipídios ainda não está claramente descrito na literatura. Prováveis mecanismos para esse efeito incluem o alto teor de fibra dietética da canela, que reduz a absorção intestinal de lipídios e o alto conteúdo de vitaminas e antioxidantes, o que aumenta o metabolismo lipídico [7]. Além disso, a insulina desempenha um papel fundamental no metabolismo lipídico e pode ser postulado que o consumo de canela melhora os níveis lipídicos através de seu efeito estimulatório sobre a insulina, como demonstrado pelo aumento dos níveis séricos de insulina após a administração de *Cinnamomum zeylanicum*.

Ao avaliar os níveis de glicose de acordo com a tabela de parâmetros bioquímicos para ratos wistar machos, foram constatados elevados índices nos grupos obeso controle. Sendo observado no presente estudo ação anti-hiperglicemiante do extrato da folha e da casca da canela nos animais obesos. Esses achados corroboram com uma revisão sistemática e meta-análise realizada por Ranasinghe e Jayawardana et al. (2012) que relata que a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) tem o potencial de reduzir a glicemia de jejum em animais diabeticos [39]. Em outro estudo realizado pelo mesmo grupo de pesquisadores no Sri Lanka também foi identificado uma diminuição dos níveis de glicemia de jejum nos animais diabéticos que receberam a suplementação da canela. No entanto, no mesmo estudo não foi observado diminuição da glicemia de jejum entre os ratos saudáveis Ranasinghe e Gunatilake, et al. (2012) [22]. Dessa forma é possível que a canela (*Cinnamomum zeylanicum*) não cause uma redução na glicemia de jejum entre indivíduos normoglicêmicos saudáveis, como no presente estudo.

Alguns estudos *in vitro* demonstraram como a canela (*Cinnamomum zeylanicum)* atua na redução dos níveis de glicose, segundo Adisakwattana et al. (2011) a canela tem potencial para atuar na redução da absorção de glicose intestinal pós-prandial inibindo a atividade de enzimas envolvidas no metabolismo de carboidratos (α-amilase e α-glicosidase pancreáticas) [40], já Anand et al. (2010) afirma que a canela estimula a captação celular de glicose por translocação de membrana do transportador de glicose-4 (GLUT4) [41], outro estudo realizado por Soonham et al. (2010) defende que a canela estimula o metabolismo da glicose e a síntese de glicogênio, inibindo a gliconeogênese pelos efeitos nas principais enzimas regulatórias [42].

Em relação aos achados histopatológicos nos fígados dos ratos normonutridos e obesos foi constatado pequenas alterações hepáticas em todos os grupos analisados, mas principalmente nos animais obesos.

Nas análises dos fígados dos animais obesos foi constatado um dos achados mais importantes desta pesquisa. Foi observado um padrão leve a moderado de esteatose nos grupos obesos que foram tratados com os extratos da canela, contrastando com os achados hepáticos os animais obesos controle, onde foi verificado esteatose (moderada – intensa), esteatose macro e microvesicular e necrose de coagulação difusa (moderada). Os extratos da canela podem ter promovido redução de danos hepáticos, decorrente do acúmulo de gordura, pelo seu poder antioxidativo, ou mesmo ter impedido o acúmulo de gordura. Esses achados corroboram com os de Eidi et al., (2012) que demonstram os efeitos hepatoprotetores, curativos e antioxidantes do extrato da canela contra a lesão hepática induzida por tetracloreto de carbono (CCl_4) em ratos [8].

Os achados deste trabalho estão de acordo com os outros estudos que evidenciam a capacidade de uma dieta rica em colesterol de provocar acúmulo de gordura no fígado [36,43]. Rafiei, Omidian e Bandy (2017) demonstraram que a deposição lipídica pode levar à produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) em excesso e, consequentemente, induzir peroxidação lipídica [44]. O aumento da produção de ROS pode ocasionar disfunção mitocondrial que, eventualmente, estimula a liberação de citocinas pró-inflamatórias, resultando em inflamação, conforme observou Rolo, Teodoro e Palmeira (2012) [6]. Esses fatores atuam em conjunto para desencadear as lesões hepáticas relacionadas com o desenvolvimento e progressão da DHGNA.

Esse acúmulo de gordura também foi evidenciado por parâmetros estereológicos, onde a densidade de volume de esteatose (Vv esteatose) estava aumentada nos animais dos grupos obesos quando comparados aos animais dos grupos normonutridos. Foi evidenciado no presente estudo que o tratamento com os extratos não atuou na diminuição da Vv esteatose nos animais obesos e que nos animais normonutridos apenas o tratamento com extrato da folha apresentou significância na redução dos níveis da Vv esteatose comparado aos animais obesos. Até o presente momento não foram encontrados estudos com extratos das folhas da canela, mas acredita-se que sua ação se dá pela presença de fitoconstituintes, como: flavonoides, terpenos, taninos, esteroides e saponinas. Estes mesmos fitoconstituintes são encontrados nos extratos das cascas da canela [45]. Uma revisão realizada por Jayaprakasha e Rao (2011) especifica ainda mais os constituintes dos extratos das folhas e das cascas da

canela, os autores afirmam que o óleo da folha tem um componente predominante o eugenol já o óleo da casca apresenta o cinamaldeído como principal constituinte [46].

Além disso, também foi observado um aumento no volume do fígado nos animais do grupo obeso controle, alimentados com dieta ocidentalizada, esse aumento parece refletir o acúmulo de gordura nesse tecido, provavelmente, resultante do elevado teor de lipídios presente na mesma, já que o consumo de dieta rica em lipídeos resulta num aumento da infiltração lipídica no tecido hepático [43]. Porém, os grupos obesos tratados com extratos da casca e folha da canela apresentaram volume hepático próximo ao do grupo normonutrido controle, sugerindo que o tratamento com os extratos pode ter revertido possíveis alterações ocasionadas pela ingestão da dieta hipercalórica.

Ainda se tratando da análise do tecido hepático foi possível identificar nos animais estudados a presença de binucleação dos hepatócitos em todos os grupos, porém com aumento significativo nos animais dos grupos obeso controle e obeso tratado com extrato da folha da canela. Além disso, observou-se que houve uma diminuição da binucleção dos hepatócitos nos animais normonutridos e obesos tratados com extrato da casca da canela. O extrato da folha da canela reduziu a binucleação apenas nos animais normonutridos.

Esses achados podem sugerir que o extrato da casca da canela tem maior função protetora hepática do que o extrato da folha da canela, pois um estudo realizado por Ducan et al. (2013) afirma que a presença de hepatócitos binucleados está a associado a capacidade regenerativa do fígado contra danos, e a quantidade de hepatócitos binucleados é proporcional aos danos expostos, ou seja, quanto maior a quantidade de hepatócitos binucleados maior os danos sofridos por aquele órgão [47]. Então podemos inferir que o extrato da casca da canela teve papel mais significativo no que se refere a proteção hepática contra os danos da obesidade e também contra os danos ocasionados pela toxicidade do próprio extrato bruto.

Esses achados divergiram de um estudo realizado por Lannes et al. (2018) que observaram pouca binucleação de hepatócitos em ratos simultaneamente tratados com estreptozotocina e com dieta com alto teor de gordura [48].

Os resultados obtidos na análise estereológica referente à densidade de volume (Vv) do núcleo dos hepatócitos permitiram verificar que a Vv de núcleo foi menor nos animais obesos e que o tratamento com os extratos promoveu o aumento da Vv de núcleo em ambos os grupos normonutridos e obesos. Esses achados podem ser justificados pela presença de um maior quantitativo de gordura nos animais obesos que podem causar danos aos hepatócitos e consequentemente diminuição do quantitativo de núcleos [49], neste estudo os danos foram

visíveis na análise histológica, onde foi identificado a presença de necrose de coagulação difusa no tecido desses animais, dificultando assim a visualização nuclear.

Quanto ao aumento da Vv de núcleo dos hepatócitos nos animais que receberam os extratos, pode estar relacionado ao aumento do metabolismo celular devido a ação dos extratos [52]. Além disso, nos animais obesos esse aumento também pode ser justificado devido ao grande quantitativo de compostos fenólicos presentes nesses extratos que atuam atenuando a inflamação e reduzindo o estresse oxidativo decorrente da obesidade, restaurando assim a função nuclear [15,7], resultados semelhantes foram encontrados em outro estudo realizado por Rafiei, Omidian, e Bandy (2017) que demonstraram que compostos fenólicos agem na diminuição da geração de espécies reativas de oxigênio, no aumento do número de mitocôndrias, na diminuição da inflamação e no do acúmulo de gordura no fígado, prevenindo, assim, danos aos hepatócitos provocados por lipídios em excesso[44].

Além disso, os animais do grupo obeso controle tiveram menor densidade de volume dos sinusóides em comparação com os animais do grupo normonutrido controle. Isso também sugere que a dieta com alto teor de gordura leva a lesões nos sinusóides, achado que corrobora com outra pesquisa realizada por Neves et al., (2006), que demonstra diminuição na Vv dos sinusóides em animais alimentos por dietas com alto teor lipídico [49]. Outro estudo anterior também demonstrou que a administração a longo prazo de dieta rica em gordura causou o acúmulo de gordura hepática com redução dos valores da Vv dos sinusóides [50]. É importante ressaltar que os sinusóides exercem um papel fundamental no fornecimento de fluxo sanguíneo aos hepatócitos, principalmente durante o processo de regeneração hepática. Sendo assim, a diminuição da Vv de sinusóides pode levar um prejuízo do funcionamento celular adequado [50].

A Vv de sinusóides apresentou níveis mais elevados nos animais que foram submetidos ao uso dos extratos, esse resultado realça o potencial dos compostos fenólicos presentes nas folhas e nas cascas da canela contra possíveis alterações celulares presentes no tecido hepático [8].

A análise da área dos núcleos dos hepatócitos permite ampliar as considerações, tendo em vista que a área de núcleo diminuiu no grupo obeso controle em relação ao grupo normonutrido controle, identificando assim, uma possível ação da gordura sobre a dimiminuição dos núcleos dos hepatócitos. Cabe mencionar que a Vv de núcleo dos hepatócitos também estava diminuída nos animais do grupo obeso controle. Além disso, observou-se que o tratamento com os extratos promoveu um aumento da área nuclear dos hepatócitos nos animais normonutridos e obesos. Segundo Silva 2006, esse aumento da área

nuclear é um indicador da atividade funcional da célula [51]. Sendo assim, pode-se inferir que o maior valor de área nuclear se deve ao maior metabolismo dos hepatócitos expostos aos extratos da canela [52].

Dessa forma, o aumento da área nuclear e da Vv de núcleo dos hepatócitos tanto nos animais normonutridos quanto nos obesos tratadados com os extratos da canela, pode estar relacionado ao aumento do metabolismo celular decorrente da ação dos extratos nesse órgão.

5. CONCLUSÃO

Os extratos brutos das folhas e extratos brutos das cascas da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) foram capazes de promover a melhora de parâmetros bioquímicos como triglicerídeos, AST e glicose nos ratos obesos. Em relação aos aspectos histopatológicos, foi observado uma redução do quadro de esteatose hepática desencadeada pela obesidade, no entanto, observou-se também a presença de diferentes lesões hepáticas nos grupos estudados, possivelmente relacionadas a dieta e a dose dos extratos utilizada.

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a *Cinnamomum zeylanicum* promove melhora de lesões hepáticas desencadeadas pela obesidade. Entretanto, estudos complementares com isolamento de substâncias específicas dos extratos, doses diversificadas e por um tempo maior, são necessários para uma melhor avaliação dos extratos brutos da canela na prevenção e desenvolvimento da DHGNA.

6. AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo financiamento deste estudo (APQ 0729-4.01/15), ao Laboratório de Doenças Carenciais e Metabólicas da UFRPE, ao Laboratório de Análises Clínicas do HC, ao laboratório de Histotecnologia do programa de pós-graduação em patologia (POSPAT) e a CAPES pela concessão da bolsa de estudo.

7. REFERÊNCIAS

1. N. A. Miguel. “Effects of resveratrol on liver function of obese Wistar rats”, Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2014.

2. WHO - World Health Organization. Obesity and overweight. Fact sheet N°311 (June 2016). Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/. [Acesso em 2017 Junho 29].
3. L. J. Sousa and M. I. Genovese. "Efeito dos compostos fenólicos do fruto camu-camu (Myrciaria dubia (H. B. K.) Mc Vaugh) na doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) em camundongos", Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016. Disponível em: < http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-08112016-123111/ >.
4. S. B. Heymsfield and T. A. Wadden, " Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity", The new england journal of medicine, pp. 254-266, 19 jan. 2017.
5. R. M. Carr, A. Oranu, V. Khungar, "Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathophysiology and Management", Gastroenterol Clin North Am, vol. 45(4) pp. 639–652, 2016.
6. A. P. Rolo, J. S. Teodoro, C. M. Palmeira, "Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis", Free Radical Biology and Medicine, vol. 52, issue 1, pp. 59-69, 2012.
7. G. K. Jayaprakasha, P. S. Negi, B. S. Jena et al., "Atividade antioxidante e antimutagênica de extratos de frutas de cinnamomum zeylanicum", J Food Compost Anal.20, pp.330–336, 2007.
8. A. Eidi, P. Mortazavi, M. Bazargan et al., "The hepatoprotective activity of cinnamon ethanolic extract against CCL 4 -induced hepatic injury in rats", EXCLI Journal, vol. 11, pp. 495-507, 2012.
9. M. R. Farahpour and M. Habibi, "Evaluation of the cicatrizant activity of an ethanol extract of cinnamon from Ceylon in mice", Vet Med. 57 pp. 53–57, 2012.
10. M. Plaza, Â. G. Batista, C. B. B. Cazarin, et al., "Characterization of antioxidant polyphenols from Myrciaria jaboticaba peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: a pilot clinical study", Food Chemistry, vol. 211, pp. 185–197, 2016.
11. T. Benn, B. Kim, Y. K. Park et al., Y, "Polyphenol-rich blackcurrant extract exerts hypocholesterolaemic and hypoglycaemic effects in mice fed a diet containing high fat and cholesterol", British Journal of Nutrition, 113(11), pp. 1697–1703, 2015.

12. Y. Jiang, M. Dai, W. J. Nie et al., “Effects of the ethanol extract of black mulberry (Morus nigra L.) fruit on experimental atherosclerosis in rats”, Journal of Ethnopharmacology, 200, pp. 228–235,2017
13. J. M. Quale, D. Landman, M. M. Zaman et al., “Atividade in vitro de cinnamomum zeylanicum contra espécies de candida resistentes e sensíveis a azóis e um estudo piloto de canela para candidíase oral”, Sou J Chin Med., vol. 24, pp.103-109. 1996.
14. Y. C. Yang, H. S. Lee, S. H. Lee et al., “Atividade ovicida e adulticida de compostos do óleo essencial da casca de cinnamomum zeylanicum e compostos relacionados contra o pediculus humanus capitis (anoplura: pediculicidae) Int J Parasitol”, 35, pp. 1595-1600,2005.
15. S. Ganapaty and A. K. Beknal, “Atividade antiinflamatória e analgésica do óleo foliar de cinnamomum zeylanicum”, Drogas Indianas, vol. 42, pp. 824-825, 2005.
16. G. K. Jayaprakasha, P. S. Negi, B. S. Jena et al., “Atividade antioxidante e antimutagênica de extratos de frutas de cinnamomum zeylanicum”, J Food Compost Anal, 20, pp. 330–336, 2007.
17. L. Rosti, G. Gastaldi, A. Frigiola, “Canela e infecções entéricas bacterianas”, Ind J Ped, 75, pp. 529-530, 2008.
18. P. Nyadjeu, A. Dongmo, T. B. Nguelefack et al., “Efeitos antihipertensivos e vasorelaxantes do extrato aquoso da casca do caule de cinnamomum zeylanicum em ratos”, Integrar Med: Complemento Journal, pp. 8, 2011.
19. T. Bandara, I. Uluwaduge, E. R. Jansz, “Bioatividade da canela com ênfase especial no diabetes mellitus: uma revisão”, Int J Food Sci Nutr, 63, pp. 380–386, 2012.
20. I. Javed, I. Faisal, R. Zia Ur et al., “Efeito hipolipemiante de cinnamomum zeylanicum em coelhos albinos hiperlipidêmicos”, Pak J Pharm Sci, 25, pp. 141–147, 2012.
21. Z. Hussain, J. A. Khan, A. Arshad et al., “Protective effects of Cinnamomum zeylanicum L. (Darchini) in acetaminophen-induced oxidative stress, hepatotoxicity and nephrotoxicity in mouse model”, Biomedicine & Pharmacotherapy, vol 109, pp. 2285-2292, 2019.
22. P. Ranasinghe, M. Gunatilake, N. Gunapala et al., “Effects of Cinnamomum zeylanicum (Ceylon cinnamon) on blood glucose and lipids in a diabetic and healthy rat model”, Pharmacogn. Res, 4(2) pp. 73–79, 2012.
23. A. B. Medagama, “The glycaemic outcomes of Cinnamon, a review of the experimental evidence and clinical trials”, Nutr jornal, vol 14, pp. 108, 2015.

24. G. P. Garavello, “Cálculo de volumes pelo Princípio de Cavalieri. Dissertação de Mestrado”, Universidade Federal do ABC. 2013. Disponível em: <http://bit.profmatsbm.org.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/996/2011_00775_GUILHERME_PADOVANI_GARAVELLO.pdf?sequence=1>. Acesso em 15 set.2017.
25. C. M. A. Lacerda, “Fisiologia e fisiopatologia: estereologia do rim: determinação do Vv, Nv e volume médio do glomérulo”, J. Bras. Nefrol, 22(2), pp.103-109,2000.
26. T. B. Tavares, S. M. Nunes, M. O. Santos, “Obesidade e qualidade de vida: revisão da literatura”, Rev Med Minas Gerais, 20(3), pp. 359-366, 2010.
27. D. R. Meldrum, M. A. Morris, J. C. Gambone, “Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions—but do we have the will?”, Fertil Steril, 107(4), pp. 833-839,2017.
28. C. O. Moro, G. Basile, “Obesity and medicinal plants”, Fitoterapia, vol. 71, n. 1, pp. 73-82, 2000.
29. M. A. Mayer, C. Höcht, A. Puyó et al., “Recent advances in obesity phlarmacotherapy”, Current Clinical Pharmacology, Sharjah, vol. 4, n. 1, pp. 53-61, Jan. 2009.
30. H. Song, J. Lai, Q. Tang et al., “Mulberry ethanol extract attenuates hepatic steatosis and insulin resistance in high-fat diet – fed mice”, Nutrition Research, 36(7), pp. 710–718, 2016.
31. J. Guerra, P. Silva, I. Cristina et al., “Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice”, Jounal of Functional Foods, 14, 192-202, 2015.
32. L. Pacifico, M. Celestre, C. Anania, et al, “MRI and ultrasound for hepatic fat quantification: relationships to clinical and metabolic characteristics of pediatric nonalcoholic fatty liver disease”, Acta Paediatr, 96, pp. 542-547. 2007.
33. P. Charatcharoenwitthaya, K. D. Lindor, P. Angulo, “The spontaneous course of liver enzymes and its correlation in nonalcoholic fatty liver disease”, Digestive Diseases and Sciences, 57, pp. 1925–1931,2012.
34. C. Csonka, T. Baranyai, L. Tiszlavicz, et al., “Isolated hypercholesterolemia leads to steatosis in the liver without affecting the pâncreas”, Lipids in Health and Disease, 16(1), 144. Z., 2017.
35. E. V. Villalpando-Arteaga, E. Mendieta-Condado, H. Esquivel-Solís et al., “Hibiscus sabdariffa L. aqueous extract attenuates hepatic steatosis trough down-regulation of

PPAR-γ and SREBP-1 in diet- induced obese mice", The Royal Society of Chemistry, vol. 4, pp.618-626, 2013.

36. M. O. Souza, M. Silva, M. Silva et al, "Diet supplementation with acai (Euterpe oleracea Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats", Nutrition, vol. 26, pp. 804–810, 2010.
37. E. S. Franco, "Avaliação do efeito antidiabético de parkinsonia aculeata l. (caesalpiniaceae) em ratos wistar com síndrome metabólica: repercussões bioquímicas e moleculares", 97f. Tese (Doutorado em Ciências farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.
38. S. M. Kassaee, M. T. Goodarzi, N. H. Roodbari et al., "The Effects of Cinnamomum zeylanicum on Lipid Profiles and Histology Via Up-Regulation of LDL Receptor Gene Expression in Hamsters Fed a High Cholesterol Diet", Jundishapur J Nat Pharm Prod, 12(3): e37340, 2017.
39. P. Ranasinghe, R. Jayawardana, P. Galappaththy P et al., "Efficacy and safety of 'true'cinnamon (Cinnamomum Zeylanicum) as a pharmaceutical agent in diabetes: a systematic review and meta-analysis", Diabet Med. 29(12), pp. 1480–1492. 2012.
40. S. Adisakwattana, Ó. Lerdsuwankij, L. Poputtachai et al., "Atividade inibitória de espécies de casca de canela e seu efeito de combinação com acarbose contra α-glicosidase intestinal e α-amilase pancreática", Plant Foods Hum Nutr 2011, 66, pp.143 – 148, 2011.
41. P. Anand, K. Y. Murali, V. Tandon et al., "Efeito insulinotrópico do cinamaldeído na regulação transcricional da piruvato quinase, da fosfoenolpiruvato carboxiquinase e da translocação do GLUT4 em ratos diabéticos experimentais", Chemico-Biolog Interact, 86, pp. 72 – 81, 2010.
42. S. Y. Soonham and M. K. Samir, "Efeito da canela na concentração de glicose plasmática e na regulação da atividade da 6-fosfofructo-1-quinase do fígado e intestino delgado de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina", J Biolog Sci, 10, pp. 761 – 766, 2010.
43. R. H. Al Zarzour, M. Ahmad, M. Z. Asmawi et al, "Phyllanthus niruri standardized extract alleviates the progression of non-alcoholic fatty liver disease and decreases atherosclerotic risk in Sprague Dawley rats", Nutrients, 9(7), pp. 1–19, 2017.
44. H. Rafiei, K. Omidian, B. Bandy, "Comparison of dietary polyphenols for protection against molecular mechanisms underlying nonalcoholic fatty liver disease in a cell model of steatosis", Molecular Nutrition & Food Research, 61(9), 2017.

45. M. S. Shihabudeen, H. Priscilla, K. Thirumurugan, “Cinnamon extract inhibits alfa-glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats”, Nutr Metab, 8, pp.1-11, 2011.
46. G. K. Jayaprakasha, L. J. M. Rao, “Chemistry, Biogenesis, and Biological Activities of Cinnamomum zeylanicum”, Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 51(6), pp.547–562, 2011.
47. A. Duncan and A. Soto-Gutierrez A, “Liver repopulation and regeneration: new approaches to old questions”, Curr Opin Organ Transplant, 18(2), pp. 197–202, 2013.
48. W. R. Lannes, R. B. Marins, A. S. A. Nunes et al., “dieta com alto teor de gordura leva à esteatose hepática macro e microvesicular grave em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina”, Ciência Atual, vol. 11, Nº 1, pp. 03-19, 2018.
49. R. H. Neves, A. C. M. B. Alencar, M. B. Aguila et al., “Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a high-fat diet”, Mem. Inst. Oswaldo Cruz, 101(Suppl 1), pp. 253-260, 2006.
50. M. B. Aguila, A. R. Pinheiro, L. B. Parente, LB et al., “Efeito dietético de diferentes dietas hiperlipídicas na estereologia do fígado de ratos”, Liver International, 23 (5), pp. 363-370, 2003.
51. A. F. V. P. Silva, “Aspectos morfológicos e morfométricos de hepatócitos de camundongos (*Mus muscullus*) tratados com extrato aquoso de *Dioclea grandiflora* (FABACEAE) ”, Dissertação (Mestrado em Patologia) - Universidade Federal de Pernambuco – UFPE, Recife, 2006.
52. C. G. T. J. Andrade and B. Q. Jordão, “O núcleo da célula”, In: Junqueira L, Carneiro J, editores, Biologia celular e molecular. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 52-66, 2005.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os extratos brutos das folhas e extratos brutos das cascas da canela (*Cinnamomum zeylanicum*) foram capazes de promover a melhora de parâmetros bioquímicos como triglicerídeos, AST e glicose nos ratos obesos. Em relação aos aspectos histopatológicos, foi observado uma redução do quadro de esteatose hepática desencadeada pela obesidade, no entanto, observou-se também a presença de diferentes lesões hepáticas nos grupos estudados, possivelmente relacionadas a dieta e a dose dos extratos utilizada.

Diante dos resultados obtidos, conclui-se que a *Cinnamomum zeylanicum* promove melhora de lesões hepáticas desencadeadas pela obesidade. Entretanto, estudos complementares com isolamento de substâncias específicas dos extratos, doses diversificadas e por um tempo maior, são necessários para uma melhor avaliação dos extratos brutos da canela na prevenção e desenvolvimento da DHGNA.

REFERÊNCIAS

ABESO - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. Diretrizes brasileiras de obesidade 2016 – 4.ed. - São Paulo, SP. Disponível em: http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/92/57fccc403e5da.pdf. [Acesso em 2017 Junho 29

ADISAKWATTANA, S.; LERDSUWANKIJ, Ó.; POPUTTACHAI L.; MINIPUN U.; SUPARPPROM C. Atividade inibitória de espécies de casca de canela e seu efeito de combinação com acarbose contra α-glicosidase intestinal e α-amilase pancreática. Plant Foods Hum Nutr 2011; 66 : 143 - 148.

AGUILA, M. B.; PINHEIRO, A. R.; PARENTE, L. B.; MANDARIM-DE-LACERDA, C. A. Efeito dietético de diferentes dietas hiperlipídicas na estereologia do fígado de ratos. Liver International, 23 (5), 363-370, 2003.

AL ZARZOUR, R. H.; AHMAD, M.; ASMAWI, M. Z.; KAUR, G.; AHMED SAEED, M. A.; et al. Phyllanthus niruri standardized extract alleviates the progression of non-alcoholic fatty liver disease and decreases atherosclerotic risk in Sprague Dawley rats. Nutrients, 9(7), 1–19, 2017.

ANDRADE, G. C.; FUJISE, L. H.; FILHO, J. E. S.; OLIVEIRA, F.; SILVA, R. C. M. A. Non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) in different populations: A clinical and epidemiological study – sample of São José do Rio Preto. Rev Assoc Med Bras 2016; 62(3):218-226.

ANDRADE, M. A.; CARDOSO, G.; BATISTA, M.; ROBERTO, L.; MALLET, T.; et al. Óleos essenciais de Cymbopogon nardus, Cinnamomum zeylanicum e Zingiber officinale: composição, atividades antioxidante e antibacterianaRevista Ciência Agronômica [en linea] 2012, 43 (Junio).

ANDRADE, C. G. T. J.; JORDÃO, B. Q. O núcleo da célula. In: Junqueira L, Carneiro J, editores. Biologia celular e molecular. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2005. p. 52-66

ANGULO, P. Nonalcoholic fatty liver disease. The New England Journal of Medicine. Review Article. Vol. 346, No. 16 · April 18, 2002.

ANAND, P.; MURALI, K, Y.; TANDON, V.; MURTHY, P.S; CHANDRA, R. Efeito insulinotrópico do cinamaldeído na regulação transcricional da piruvato quinase, da fosfoenolpiruvato carboxiquinase e da translocação do GLUT4 em ratos diabéticos experimentais. Chemico-Biolog Interact 2010 ; 186 : 72 – 81. .

BARBIERI, A. F.; MELLO, R. A. As causas da obesidade: uma análise sob a perspectiva materialista histórica. Revista da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas, v. 10, n. 1, p. 133-153, jan./abr. 2012.

BANDARA, T.; ULUWADUGE I.; JANSZ E. R. Bioatividade da canela com ênfase especial no diabetes mellitus: uma revisão. Int J Food Sci Nutr. 2012; 63 : 380–386.

BENN, T.; KIM, B.; PARK, Y.-K.; YANG, Y.; PHAM, T. X.; et al. Polyphenol-rich blackcurrant extract exerts hypocholesterolaemic and hypoglycaemic effects in mice fed a diet containing high fat and cholesterol. British Journal of Nutrition, 113(11),1697–1703, 2015.

BRASIL. Ministério da Saúde. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica/Ministério da Saúde. Departamento de Atenção Básica. – Brasília : Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. VIGITEL Brasil 2014: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: MS; 2014.

CARRUEGO, M. V. L. B. Doença hepática gordurosa não alcoólica e doença arterial coronariana: revisão de literatura. Monografia (graduação) – Universidade Federal da BAHIA. Faculdade de Medicina, 2012.

CARR, R. M.; ORANU, A.; KHUNGAR, V. Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Pathophysiology and Management. Gastroenterol Clin North Am. 2016;45(4):639–652.

CHARATCHAROENWITTHAYA, P.; LINDOR, K. D.; ANGULO, P. The spontaneous course of liver enzymes and its correlation in nonalcoholic fatty liver disease. Digestive Diseases and Sciences, 57, 1925–1931, 2012.

CLAPPER, J. R.; ATHANACIO, J.; WITTMER, C.; GRIFFIN, P. S, D.; SOUZA, L.; et al. Effects of amylin and bupropion/natrexone on food intake and body weight are interactive in rodents models. Eur. J. Pharmacol., v. 698, p. 292-298, 2013.

COSTELLO, R. B.; DWYER, J. T.; SALDANHA, L.; BAILEY, R. L.; MERKEL, J.; et al. Do Cinnamon Supplements Have a Role in Glycemic Control in Type 2 Diabetes? A Narrative Review. Journal of the academy of nutrition and dietetics. 2016; 116:1794-1802.

CSONKA, C.; BARANYAI, T.; TISZLAVICZ, L.; FÉBEL, H.; SZŰCS, G.; et al. Isolated hypercholesterolemia leads to steatosis in the liver without affecting the pancreas. Lipids in Health and Disease, 16(1), 144. Z (2017).

CUI, H.; LÓPEZ, M.; RAHMOUNI, K. The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity. Nature Reviews | Endocrinology Advance Online Publication- 2017.

DUARTE, R. C. Estudo dos compostos bioativos em especiarias (Syzygium aromaticum L, Cinnamomum zeylanicum Blume e Myristica fragans Houtt) processadas por radiação ionizante. São Paulo, 2014. Tese de Doutorado. Autarquia associada a universidade de São Paulo - Tecnologia nuclear-Aplicações.

DUNCAN, A.; SOTO-GUTIERREZ, A. Liver repopulation and regeneration: new approaches to old questions. Curr Opin Organ Transplant. 2013, 18(2): 197–202.

EIDI, A.; MORTAZAVI, P.; BAZARGAN, M.; ZARINGHALAM, J. A atividade hepatoprotetora do extrato etanólico de canela contra a lesão hepática induzida por CCL 4 em ratos. EXCLI Journal. 2012; 11 : 495-507.

FARAHPOUR, M. R.; HABIBI, M. Avaliação da atividade cicatrizante de um extrato etanólico de canela do Ceilão em camundongos. Vet Med. 2012; 57 : 53–57.

FERREIRA, R. A. B; BENICIO, M. H. D. Obesidade em mulheres brasileiras: associação com paridade e nível socioeconômico. Rev Panam Salud Publica;37(4/5) 337-342,abr.-mai. 2015.

FERREIRA, M. R. J. A Fitoterapia no combate à obesidade. Dissertação (Mestrado)- Universidade do Algarve. Faculdade de Ciências e Tecnologia. Departamento de Química e Farmácia. 2013.

FOTBOLCU, H.; ZORLU, E. Nonalcoholic fatty liver disease as a multisystemic disease. World J Gastroenterol 2016; 22(16): 4079-4090

FRANCO, E. S. Avaliação do efeito antidiabético de parkinsonia aculeata l. (caesalpiniaceae) e ratos wistar com síndrome metabólica: repercussões bioquímicas e moleculares.2016. 97f. Tese (Doutorado em Ciências farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.

GANAPATY, S.; BEKNAL, A. K. Atividade antiinflamatória e analgésica do óleo foliar de cinnamomum zeylanicum. Drogas Indianas. 2005; 42 : 824-825.

GOBEL, C. H.; TRONNIER, V. M.; MUNTE, T. F. Brain stimulation in obesity, International Journal of Obesity accepted article preview 30 June 2017.

GONZÁLEZ-MUNIESA, P.; MÁRTINEZ-GONZÁLEZ, M. A.; HU, F. B.; DESPRÉS, J. P.; MATSUZAWA, Y.; et al. Obesity. Nature Reviews, Disease Primers Volume 3, Article Number 17034, 2017 Jun 15.

GARAVELLO, G. P. Cálculo de volumes pelo Princípio de Cavalieri. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do ABC. 2013. Disponível em: <http://bit.profmatsbm.org.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/996/2011_00775_GUILHERME_PADOVANI_GARAVELLO.pdf?sequence=1>. Acesso em 15 set.2017.

GREENWAY, F.L.; FUJIOKA, K.; PLODKOWSKI, R.A.; MUDALIAR, S.; GUTTADAURIA, M.; et al. Effect of naltrexone plus bupropion on weight loss in overweight and obese adults (COR-I): a multicentre, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase III trial. Lancet 2010, 376:595-605

GROSSMAN, L. Óleos essenciais na culinária, cosmética e saúde. São Paulo: Optinline, 2005. 300 p.

GUERRA, J.; SILVA, P.; CRISTINA, I.; EMERICH, M.; ABREU, D.; et al. Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice, Jounal of Functional Foods, 14, 192-202, 2015.

HALLSCHMID, M.; BENEDICT, C.; SCHULTES, B.; BORN, J.; KERN, W.Obese men respond to cognitive but not to catabolic brain insulin signaling. Int. J. Obes. (Lond.), London, v. 32, n. 2, Feb. 2008.

HERNANDES, F.; PEREIRA, M. Obesidade: causas e consequências em crianças e adolescentes. : revista da Faculdade de Educação Física da UNICAMP, Campinas, v. 8, n. 3, p. 47-63, set./dez. 2010.

HEYMSFIELD, S. B.; WADDEN, T. A. Mechanisms, Pathophysiology, and Management of Obesity. The new england journal of medicine, [S. l.], p. 254-266, 19 jan. 2017.

JAVED, I.; FAISAL, I.; ZIA UR, R.; KHAN, M. Z.; MAOMÉ, F.; et al. Efeito hipolipemiante de cinnamomum zeylanicum em coelhos albinos hiperlipidêmicos. Pak J Pharm Sci. 2012; 25:141–147.

JAYAPRAKASHA, J. K.; NEGIA, P.S.; JENA, B.S.; JAGAN, M. R. G. Atividade antioxidante e antimutagênica de extratos de frutas de Cinnamomum zeylanicum . J Food Comp Anal 2007, 20 : 330 - 336 .

JIANG, Y.; DAI, M.; NIE, W.J.; YANG, X.-R.; ZENG, X.C. Effects of the ethanol extract of black mulberry (Morus nigra L.) fruit on experimental atherosclerosis in rats. Journal of Ethnopharmacology, 200, 228–235. 2017.

KASSAEE, S. M.; GOODARZI, M. T.; HAYATI ROODBARI, N.; YAGHMAEI, P. The Effects of Cinnamomum zeylanicum on Lipid Profiles and Histology Via Up-Regulation of LDL Receptor Gene Expression in Hamsters Fed a High Cholesterol Diet, Jundishapur J Nat Pharm Prod. 2017 ; 12(3):e37340.

KHERA, R.; MURAD, M. H.; CHANDAR, A. K.; DULAI, O. S.; WANG, Z.; et al. Association of Pharmacological Treatments for Obesity With Weight Loss and Adverse Events. JAMA. 2016;315(22):2424-2434.

KONTUREK, S.J.; KONTUREK, J.W.; PAWLIK, T. & BRZOZOWKI, T. – Brain-gut axis and its role in the control of food intake. Journal of Physiology and Pharmacology 55: 137-54, 2004.

KURIYAN, R.; RAJ, T.; SRINIVAS, S. K.; VAZ, M., RAJENDRAN, R.; et al. Effect of Caralluma Fimbriata extract on appetite, food intake and anthropometry in adult Indian men and women. Appetite, v. 48, 2007, p. 338-344.

LACERDA, C. A. M. Fisiologia e fisiopatologia: estereologia do rim: determinação do Vv, Nv e volume médio do glomérulo. J. Bras. Nefrol, 22(2):103-9, 2000.

LANDEIRO, F. M.; QUARANTIN, L. C. Obesidade: Controle Neural e Hormonal do Comportamento Alimentar. R. Ci. med. biol., Salvador, v.10, n.3, p.236-245, set./dez. 2011

LANNES, W. R.; MARINS, R. B.; NUNES, A. S. A.; VERCILLO, L. A.; SILVA-JUNIOR, G. O.; et al. Dieta com alto teor de gordura leva à esteatose hepática macro e microvesicular grave em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina. Ciência Atual | Rio de Janeiro | Volume 11, Nº 1 • 2018 | inseer.ibict.br/cafsj | Pg. 03-19.

LAU, J. K. C.; ZHANG, X.; YU, J. Animal models of non-alcoholic fatty liver disease: current perspectives and recent advances. Journal of Pathology 2017; 241: 36–44.

LIMA, M. V. Estratégias para tratamento farmacológico da obesidade no Brasil: revisão sistêmica de literatura para análise econômica sob perspectiva privada. São Paulo, 2017, 49p. Dissertação de mestrado- Universidade de São Paulo- Faculdade de Ciências Farmacêuticas-Faculdade de Economia, Administração e Contabilidade-Faculdade de Saúde Pública da USP-Curso Interunidades em Nutrição Humana Aplicada.

LUNGARINI, S.; AURELI, F.; CONI, E. Coumarin and cinnamaldehyde in cinnamon marketed in Italy: a natural chemical hazard? Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess. 2008;25(11):1297–305.

LUSYANNY, P.A.; MONTENEGRO, A. C. C.; ALMEIDA, P. C.; CARRAPERI, M. M. Relação da obesidade com o comportamento alimentar e o estilo de vida de escolares brasileiros. Nutrición clínica y Dietética Hospitalaria. 2016; 36(1):17-23.

MANENTI, A. V. Plantas Medicinais utilizadas no tratamento da obesidade: uma revisão. 2010. Trabalho de Conclusão de Curso (Nutrição) - Universidade do Extremo Sul catarinense – UNESC, 2010

MAYER, M. A.; HÖCHT, C.; PUYÓ, A.; TAIRA, C. A. Recent advances in obesity phlarmacotherapy. Current Clinical Pharmacology, Sharjah, v. 4, n. 1, p. 53-61, Jan. 2009.

MEDAGAMA, A. B. The glycaemic outcomes of Cinnamon, a review of the experimental evidence and clinical trials. Nutr J. 2015;14:108.

MELDRUM, D. R.; MORRIS, M. A.; GAMBONE, J.C. Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions—but do we have the will?. Fertil Steril. 2017 Apr;107(4):833-839.

MENDES, A. A.; IEKER, A. S. D.; CASTRO, T. F.; AVELAR, A.; NARDO JÚNIOR, N. Multidisciplinary programs for obesity treatment in Brazil: A systematic review. Revista de Nutrição, Campinas, 29(6):867-884, nov./dez., 2016.

MIGUEL, N. A. Effects of resveratrol on liver function of obese Wistar rats. 2014. 65 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade do Oeste Paulista, Presidente Prudente, 2014.

MORO, C. O.; BASILE, G. Obesity and medicinal plants. Fitoterapia, Amsterdam, v. 71, n. 1, p. 73-82, Aug. 2000.

NABAVI, S. F.; DI LORENZO, A.; IZADI, M.; SOBARZO-SÁNCHEZ, E.; DAGLIA, M.; et al. Antibacterial Effects of Cinnamon: From Farm to Food, Cosmetic and Pharmaceutical Industries. Nutrients. 2015 Sep 11;7(9):7729-48.

NEUSCHWANDER TETRI, B.A. Non-alcoholic fatty liver disease BMC Medicine (2017) 15:45. DOI 10.1186/s12916-017-0806-8.

NEGRAES, P. Guia A-Z de Plantas: condimentos. São Paulo: Bei Comunicação, p.103-106, 2003.

NEVES R. H.; ALENCAR A. C. M. B.; AGUILA M. B.; MANDARIM-DE-LACERDA C. A.; MACHADO-SILVA J. R.; et al. Hepatic stereology of schistosomiasis mansoni infected-mice fed a high-fat diet. Mem. Inst. Oswaldo Cruz [Internet]. 2006 Oct [cited 2019 June 29] ; 101(Suppl 1): 253-260.

NOVAES, R. D.; PENITENTE, A. R.; GONÇALVES, R. V.; TALVANI A.; PELUZIO, M. C. G.; et al. Trypanosoma cruzi infection induces morphological reorganization of the myocardium parenchyma and stroma, and modifies the mechanical properties of atrial and ventricular cardiomyocytes in rats,Cardiovascular Pathology,Volume 22, Issue 4,2013,Pages 270 279.

NUFFER, W.; TRUJILLO, J. M.; MEGYERI, J. A Comparison of New Pharmacological Agents for the Treatment of Obesity. Annals of Pharmacotherapy 1–13, 2016.

NYADJEU, P.; DONGMO, A.; NGUELEFACK ,T. B.; KAMANYI, A. Efeitos antihipertensivos e vasorelaxantes do extrato aquoso da casca do caule de cinnamomum zeylanicum em ratos. Integrar Med: Complemento J; 2011. p. 8.

Organisation For Economic Cooperation and Development - OECD. Guidelines for the Testing of Chemicals, OECD 423. Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Paris: Organisation for Economic Cooperation and Development; 2001.

OH, H.; JUN, D. W.; SAEED, W. K.; NGUYEN, M. H. Non-alcoholic fatty liver diseases: update on the challenge of diagnosis and treatment. Clinical and Molecular Hepatology 2016;22: 327-335.

ONDEROGLU, S.; SOZER, S.; ERBIL, K.; ORTAC, R.; LERMIOGLU, F. The evaluation of long-term effects of cinnamon bark and olive leaf on toxicity induced by streptozotocin administration to rats. J Pharm Pharmacol, 51(11), 1305-1312, 1999.

PELEGRINI, A.; SILVA, D. A. S.; SILVA, J. M. F. L.; GRIGOLLO, L.; PETROSKI, E.L. Indicadores antropométricos de obesidade na predic¸ão de gordura corporal elevada em adolescentes. Rev Paul Pediatr. 2015;33(1):56---62

PETERSON, D. W.; GEORGE, R. C.; SCARAMOZZINO, F.; LAPOINTE, N. E.;, ANDERSON, R. A.; et al. O extrato de canela inibe a agregação de tau associada à doença de alzheimer in vitro. Disease de J de Alzheimer. 2009; 17 : 585-597

PLAZA, M.; BATISTA, Â. G.; CAZARIN, C. B. B.; SANDAHL, M.; TURNER, C.; OSTMAN, E.; MARÓSTICA JÚNIOR, M. R. Characterization of antioxidant polyphenols from Myrciaria jaboticaba peel and their effects on glucose metabolism and antioxidant status: a pilot clinical study. Food Chemistry.Volume 211, 185–197, 2016.

PORTELA, C. L. M.; MELO, M. L. P.; SAMPAIO, H. A. C. Aspectos fisiopatológ Rev Bras Nutr Clin 2013; 28 (1): 54-60 icos e nutricionais da doença hepática gordurosa não-alcoólica (DHGNA).

QUALE, J.M.; LANDMAN, D.; ZAMAN, M. M.; BURNEY, S,; SATHE S. S. Atividade in vitro de cinnamomum zeylanicum contra espécies de candida resistentes e sensíveis a azóis e um estudo piloto de canela para candidíase oral. Sou J Chin Med. 24 pp. 103-109. 1996.

RAFIEI, H.; OMIDIAN, K.; BANDY, B. Comparison of dietary polyphenols for protection against molecular mechanisms underlying nonalcoholic fatty liver disease in a cell model of steatosis. Molecular Nutrition & Food Research, 61(9), 2017.

RANASINGHE, P.; PIGERA, S.; PREMAKUMARA, G. S.; GALAPPATHTHY, P.; CONSTANTINE, G. R.; et al. Medicinal properties of 'true' cinnamon (Cinnamomum zeylanicum): a systematic review. Complementary and Alternative Medicine 2013, 13:275

RANASINGHE, P.; GUNATILAKE, M.; GUNAPALA, N.; PERERA, K.; KATULANDA, P.; et al. Effects of Cinnamomum zeylanicum (Ceylon cinnamon) on blood glucose and lipids in a diabetic and healthy rat model, Pharmacogn. Res. 4 (2012) 73.

RANASINGHE, P.; JAYAWARDANA, R.; GALAPPATHTHY, P.; CONSTANTINE, G.; DE VAS GUNAWARDANA, N,; et al. Efficacy and safety of 'true'cinnamon (Cinnamomum Zeylanicum) as a pharmaceutical agent in diabetes: a systematic review and meta-analysis. Diabet Med. 2012;29(12): 1480–92.

REUTER, C. P. Avaliação da concordância entre diferentes métodos diagnósticos de síndrome metabólica em crianças e adolescentes. Porto Alegre, 2017. Tese de Doutorado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Medicina – Programa de Pós-graduação em Saúde da criança e adolescente.

RODRÍGUEZ, J. E.; CAMPBELL, K. M. Past, Present, and Future of Pharmacologic Therapy in Obesity. Prim Care Clin Office Pract - (2015).

ROLO, A. P.; TEODORO, J. S; PALMEIRA, C. M. Role of oxidative stress in the pathogenesis of nonalcoholic steatohepatitis. Free Radical Biology and Medicine. Volume 52. Issue 1, 2012. Pages 59-69.

ROSA, F. M.; MACHADO, J. T.O efeito anti-obesidade da Garcinia cambogia em humanos. Revista Fitos, Rio de Janeiro, Vol, 10(2), 95-219, Abr-Jun 2016.

ROSTI, L.; GASTALDI, G.; FRIGIOLA, A. Canela e infecções entéricas bacterianas. Ind J Ped. 2008; 75 : 529-530.

SANTO, A. H. E. Inclusão de Canela em Dietas para Tilápia Nilótica (Oreochromis niloticus). Dissertação (Mestrado)- Universidade Federal de Minas Gerais, 2016.

SARTORIUS, T.; PETER, A.; SCHULZ, N.; DRESCHER, A.; BERGHEIM, I.; et al. (2014) Cinnamon Extract Improves Insulin Sensitivity in the Brain and Lowers Liver Fat in Mouse Models of Obesity. PLoS ONE 9(3): e92358.

SALTIEL, A. R. New therapeutic approaches for the treatment of obesity. Science Translational Medicine. 27 January 2016 Vol 8 Issue 323 323rv2.

SCHULZ, P. O. Associação de doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) com neoplasias malignas do fígado. São Paulo, 2013. Dissertação de Mestrado. Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo – Curso de Pós-Graduação em Pesquisa em Cirurgia.

SCHERER, A.; DUFOUR, J. F. Treatment of Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. Dig Dis 2016; 34(suppl 1):27–31. SUBASH BABUA, P.; PRABUSEENIVASANA, S.; IGNACIMUTHU, S. Cinnamaldehyde: a potential antidiabetic agent. Phytomedicine: international journal of phytotherapy and phytopharmacology, Jena, v. 14, n. 1, p. 15-22, Jan. 2007.

SHIHABUDEEN, M.S; PRISCILLA, H; THIRUMURUGAN, K. Cinnamon extract inhibits alfa-glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. Nutr Metab 2011;8:1-11.7278.

SIMÃO, A. A.; CORRÊA, A.D.; CHAGAS, P. M. B. Inhibition of digestive enzymes by medicinal plant aqueous extracts used to aid the treatment of obesity. Journal of Medicinal Plants Research, Lagos, v. 6, n. 47, p. 5826- 5830, Dec. 2012.

SIMÃO, A. A. Composição química, eficácia e toxicidade de plantas medicinais utilizadas no tratamento da obesidade. Tese (Doutorado)-Universidade Federal de Lavras, 2013.

SONG, H.; LAI, J.; TANG, Q.; ZHENG, X. Mulberry ethanol extract attenuates hepatic steatosis and insulin resistance in high-fat diet – fed mice. Nutrition Research, 36(7), 710–718, 2016.

SOONHAM, S.Y.; SAMIR, M. K . Efeito da canela na concentração de glicose plasmática e na regulação da atividade da 6-fosfofructo-1-quinase do fígado e intestino delgado de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina . J Biolog Sci 2010 ; 10 : 761 - 766 .

SOUSA, L. J.; GENOVESE, M. I. Efeito dos compostos fenólicos do fruto camu-camu (Myrciaria dubia (H. B. K.) Mc Vaugh) na doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) em camundongos. 2016.Universidade de São Paulo, São Paulo, 2016. Disponível em: < http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/9/9131/tde-08112016-123111/ >.

SOUSA, A. V.; GUEDES, J. C.; FILHO, M. L. M.; CONDESSA, V. A.; CONDESSA, L. A.; et al. Doença hepática gordurosa não alcoólica: Revisão de literatura. Revista Ciências em Saúde v4, n 1, jan-mar 2014.

SOUZA, M. O.; SILVA, M.; SILVA, M.; OLIVEIRA, R.P.; PEDROSA, M. Diet supplementation with acai (Euterpe oleracea Mart.) pulp improves biomarkers of oxidative stress and the serum lipid profile in rats. Nutrition, 26, p.804–810, 2010

TAVARES, T. B.; NUNES, S. M.; SANTOS, M. O. Obesidade e qualidade de vida: revisão da literatura. Rev Med Minas Gerais 2010; 20(3): 359-366

ULBRICHT, C.; SEAMON, E.; WINDSOR, R.; ARMBRUESTER, N.; BRYAN J, et al. An evidence-based systematic review of cinnamon (Cinnamomum spp.) by the Natural Standard Research Collaboration. J Diet Suppl, 2011 8(4), 378-454.

VIEIRA, A. R. R.; MEDEIROS, P. R. M. S. A utilização de fitoterápicos no tratamento da obesidade. Rev Cient Esc Estadual Saúde Pública Goiás "Cândido Santiago". 2019;5(1):44-57.

VILLALPANDO- ARTEAGA, E. V.; MENDIETA-CONDADO E.; ESQUIVEL-SOLÍS H.; CANALES-AGUIRRE A. A.; GÁLVEZ-GASTÉLUM F. J.; et al. Hibiscus sabdariffa L. aqueous extract attenuates hepatic steatosis trough down-regulation of PPAR-γ and SREBP-1 in diet- induced obese mice. The Royal Society of Chemistry, 2013.

WADDEN, T. A.; FOREYT, J. P.; FOSTER, G. D.; HILL, J. O.; KLEIN, S.; et al. Weight loss with naltrexone SR/bupropion SR combination therapy as an adjunct to behavior modification: the COR-BMOD trial. Obesity, v.19, p.110–120, 2011.

WHO - World Health Organization. Obesity and overweight. Fact sheet N°311 (June 2016). Disponível em: http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/es/. [Acesso em 2017 Junho 29].

YANG, Y.C.; LEE, H.S.; LEE, S.H.; CLARK, J.M.; AHN, Y.J. Atividade ovicida e adulticida de compostos do óleo essencial da casca de cinnamomum zeylanicum e compostos relacionados contra o pediculus humanus capitis (anoplura: pediculicidae) Int J Parasitol. 35, pp. 1595-1600. 2005.

ANEXO A - FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária
PERNAMBUCO

HERBÁRIO IPA – DÁRDANO DE ANDRADE LIMA
FICHA DE IDENTIFICAÇÃO BOTÂNICA

FIB Nº 56/2017

	Nº de Tombo	Nome popular	Família	Nome Científico	Identificada por
1	**91609**	Canela	Lauraceae	*Cinnamomum verum* J.Presl	O. Cano e F. Gallindo

Obs.: *Cinnamomum verum* J.Presl é a nomenclatura aceita atualmente para essa espécie, anteriormente denominada *Cinnamomum zeylanicum* Blume, hoje considerada sinônimo.

Drª. Rita de Cássia Pereira
Curadora do Herbário IPA

Consulta: Joicy Kelly Alves da Silva tel.: (81) 998773414
Procedência: PE - Recife - Cidade Universitária - Campus da UFPE - no jardim interno do Deptº de Farmácia.
Determinada em: 27/09/2017.

Resultado encaminhado por e mail: joicykelly89@hotmail.com em 27.09.2017.

Material botânico em estudo para fim de projeto de pesquisa de Mestrado da aluna Joicy Kelly Alves da Silva, em Patologia no Deptº de Farmácia da UFPE na UFPE, sob orientação da Profª Drª Manoela Figueiroa.

Esclarecemos que, na UFPE, Deptº de Botânica, existe uma Professora Doutora em Taxonomia Botânica, especialista na família Lauraceae. Caso queira consultá-la, seu nome é Roxana Barreto.

Instituto Agronômico de Pernambuco - IPA
Vinculado à Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária
Av. Gal. San Martin, 1371 – Bongi – 50761-000 – Recife – PE – C.P. 1022
CNPJ 10.912.293/0001-37 – PABX: (81) 3184-7200 – Fax: (81) 3184-7211
Home Page: www.ipa.br / E-mail: ipa@ipa.br

ANEXO B - PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fones: 2126 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 30 de agosto de 2018

Ofício nº 76/18

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Prof.ª Manuela Figueeiroa Lyra de Freitas**
Centro de Biociencias
Departamento de Anatomia
Universidade Federal de Pernambuco
Processo **nº 23076.041253/2016-21**

Certificamos que a proposta intitulada "**Avaliação em ratos do potencial antiobesidade de extratos brutos das folhas e cascas do caule de canela (Cinnamomum zeylanicum)**". Registrada com o sob nº **23076.041253/2016-21** a responsabilidade de **Prof.ª Manuela Figueeiroa Lyra de Freitas** que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO (UFPE), em reunião de 29/08/2018.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência da autorização	Setembro2018 a dezembro/2018
Espécie/linhagem/raça	Ratos heterogenico
Nº de animais	100
Peso/Idade	50-250g/21 a 60 dias
Sexo	Machos(64) e fêmea (36)
Origem	Departamento de Nutrição

Atenciosamente,

Prof. Sebastião R. F. Silva
Vice-Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345091

ANEXO C - DIETA PRESENCE®: TABELA NUTRICIONAL

Umidade (máx)	130,00 g/kg
Proteína bruta (mín)	230,00 g/kg
Extrato etéreo (mín)	40,00 g/kg
Fibra bruta (máx)	50,00 g/kg
Matéria mineral (máx)	100,00 g/kg
Cálcio (mín)	12,00 g/kg
Cálcio (máx)	13,00 g/kg
Fósforo (mín)	8.500,00 mg/kg
Sódio (mín)	2.700,00 mg/kg
Magnésio (mín)	500,00 mg/kg
Ferro (mín)	180,00 mg/kg
Cobre (mín)	30,00 mg/kg
Manganês (mín)	110,00 mg/kg
Zinco (mín)	110,00 mg/kg
Iodo (mín)	1,00 mg/kg
Cobalto (mín)	2,00 mg/kg
Selênio (mín)	0,20 mg/kg
Vitamina A (mín)	25.500,00 UI/kg
Vitamina D3 (mín)	4.000,00 UI/kg
Vitamina E (mín)	82,00 UI/kg
Vitamina K3 (mín)	6,40 mg/kg
Vitamina B1 (mín)	11,00 mg/kg
Vitamina B2 (mín)	12,00 mg/kg
Niacina (mín)	219,00 mg/kg
Ácido pantotênico (mín)	90,00 mg/kg
Vitamina B6 (mín)	11,00 mg/kg
Ácido fólico (mín)	13,00 mg/kg
Biotina (mín)	0,10 mg/kg
Vitamina B12 (mín)	40,00 mcg/kg
Olina (mín)	1.800,00 mg/kg
Lisina (mín)	12,50 g/kg
Metionina (mín)	3.500,00 mg/kg

ANEXO D – DIETAS OCIDENTALIZADAS DE CRESCIMENTO E MANUTENÇÃO ELABORADAS PELO DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO DA UFPE (DIETA MODIFICADA DE CAVALCANTE ET AL., 2013)

PALATÁVEL- CRESCIMENTO		
PALATÁVEL	1kg	15kg
MAISENA	117,00	1755,00
/LABINA	80,00	1200,00
BISCOITO MAISENA CHOC	50,00	750,00
FARINHA DE SOJA	40,00	600,00
CASEÍNA	200,00	3000,00
CELULOSE	40,00	600,00
GOMA	0,00	0,00
oleo milho	10,00	150,00
oleo soja	20,00	300,00
BANHA (*Banha Sadia)	53,00	795,00
MANTEIGA	40,00	600,00
MARGARINA (85% lip)	40,00	600,00
creme de leite parmalat(20%lip)	40,00	600,00
AÇUCAR	220,00	3300,00
SAIS - MIX MINERAL	25,00	375,00
VITAMINAS	7,00	105,00
COLINA	2,50	37,50
METIONINA	2,50	37,50
BHT = 0,14mg	0,14	2,10
NaCl (39,34% de Na)	3,00	45,00
Glutamato Monossódico (12,3% de Na)	10,00	150,00
Total	1000,14	15002,10

PALATÁVEL-MANUTENÇÃO-

PALATÁVEL	1kg	10kg
MAISENA	157	1570
/LABINA	80	800
BISCOITO MAISENA CHOC	50	500
FARINHA DE SOJA	40	400
CASEÍNA	150	1500
CELULOSE	40	400
GOMA	0	0
OLEO MILHO	15	150
oleo soja	25	250
BANHA (*Banha Sadia)	53	530
MANTEIGA	40	400
MARGARINA (85% lip)	40	400
creme de leite parmalat(20%lip)	40	400
AÇUCAR	220	2200
SAIS - MIX MINERAL	25	250
VITAMINAS	7	70
COLINA	2,5	25
METIONINA	2,5	25
BHT = 0,14mg	0,14	1,4
NaCl (39,34% de Na)	3	30
Glutamato Monossódico (12,3% de Na)	10	100
Total	1000,14	10001,4

ANEXO E –PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE RATOS WISTAR DE AMBOS OS SEXOS. VALORES EXPRESSOS EM MÉDIA E DESVIO PADRÃO POR FAIXA DE VALORES. ARACAJU/SE. (LIMA ET AL.,2014)

ANEXO 2 Tabela de parâmetros bioquímicos de ratos Wistar

Tabela 1. Parâmetros bioquímicos de ratos Wistar de ambos os gêneros. Valores expressos em média ± S.D. e por faixa de valores (mínimo e máximo). (n) – número de animais.

Parâmetros (Unid.)	Média ± S.D. (n) Machos	Faixa Machos	Média ± S.D. (n) Fêmeas	Faixa Fêmeas
FA / ALP (U/L)	91,63 ± 28,70 (29)	56 – 153	75,95 ± 19,07 (22)	51 – 116
TGP / ALT (U/L)	57,55 ± 11,95 (33)	38 – 82	45,47 ± 9,23 (34)	32 – 63
TGO / AST (U/L)	131,33 ± 43,98 (33)	61– 210	107,87 ± 53,96 (30)	51 – 211
Colesterol (mg/dL)	60,68 ± 6,51 (22)	45 – 76	64,86 ± 11,17 (22)	54 – 96
Proteína Total (g/dL)	5,75 ± 0,87 (37)	4,0 – 6,9	6,07 ± 0,83 (35)	5,0 – 7,7
Albumina (g/dL)	2,65 ± 0,30 (38)	2,0 – 3,5	2,41 ± 0,76 (36)	1,3 – 3,8
Globulina (g/dL)	3,50 ± 1,15 (38)	2,10 – 5,40	3,69 ± 1,47 (36)	2,1 – 5,9
Creatinina (mg/dL)	0,58 ± 0,24 (38)	0,24 – 1,20	0,57 ± 0,19 (36)	0,28 – 1,10
Uréia (mg/dL)	39,97 ± 6,78 (38)	26 – 58	39,17 ± 6,43 (36)	24 – 49
Ácido Úrico (mg/dL)	1,81 ± 0,67 (18)	1,0 – 3,2	1,82 ± 0,59 (36)	1,2 – 3,4
Triglicerídeo (mg/dL)	46,87 ± 18,73 (30)	22 – 100	54,21 ± 35,5 (29)	23 – 138
Sódio (mmol/L)	134,03 ± 4,67 (29)	125 – 143	134,57 ± 3,78 (30)	125 – 141
Potássio (mmol/L)	5,41 ± 1,15 (24)	3,9 – 7,9	4,79 ± 1,95 (21)	3,6 – 6,7
Glicose (mg/dL)	138,72 ± 30,17 (29)	72 – 193	114,57 ± 36,15 (30)	53 – 172
BILT (mg/dL)	0,08 ± 0,04 (37)	0,02 – 0,18	0,24 ± 0,3 (26)	0,10 – 0,89
BILD (mg/dL)	0,03 ± 0,02 (37)	0,01 – 0,10	0,02 ± 0,01 (21)	0,01 – 0,04
BILI (mg/dL)	0,06 ± 0,05 (37)	0,00 – 0,30	0,00 ± 0,10 (21)	0,01 – 0,01
Cálcio	8,19 ± 1,63 (16)	4,8 – 9,8	8,96 ± 1,13 (14)	6,7 – 11,0
GGT	3,47 ± 1,74 (19)	1 – 6	3,29 ± 0,9 (21)	2 – 5
Cloro	102,75 ± 1,75 (8)	101 - 106	105,11± 1,62 (09)	103 – 108

*Analisador bioquímico ARCHITECT C8000 (ABBOTT)