

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO

CURSO DE GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

Lara Medeiros de Melo

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DE
PARKINSONIA ACULEATA NO PERFIL MURINOMÉTRICO E HEPÁTICO DE
RATAS EXPOSTAS A DIETA OCIDENTALIZADA**

RECIFE

2023

LARA MEDEIROS DE MELO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DE
PARKINSONIA ACULEATA NO PERFIL MURINOMÉTRICO E HEPÁTICO DE
RATAS EXPOSTAS A DIETA OCIDENTALIZADA**

Trabalho de conclusão apresentado ao
Curso de Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Pernambuco
como requisito para obtenção de grau
de Nutricionista

Orientadora: Elizabeth do Nascimento

Coorientadora: Vitória Felício Souto

RECIFE

2023

Ficha de identificação da obra elaborada pelo
autor, através do programa de geração automática
do SIB/UFPE

Melo, Lara Medeiros.

Avaliação do efeito residual do extrato hidroalcoólico de Parkinsonia aculeata
no perfil murinométrico e hepático de ratas expostas a dieta ocidentalizada /
Lara Medeiros Melo. - Recife, 2023.

33 p.

Orientador(a): Elizabeth do Nascimento

Coorientador(a): Vitória Felício Souto

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de
Pernambuco, Centro de Ciências da Saúde, Nutrição - Bacharelado, 2023.

Inclui referências, anexos.

1. Obesidade. 2. Dieta ocidental. 3. Fígado. 4. Medicamento fitoterápico. 5.
Nutrição. I. Nascimento, Elizabeth do. (Orientação). II. Souto, Vitória Felício.
(Coorientação). IV. Título.

610 CDD (22.ed.)

LARA MEDEIROS DE MELO

**AVALIAÇÃO DO EFEITO RESIDUAL DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO DE
PARKINSONIA ACULEATA NO PERFIL MURINOMÉTRICO E HEPÁTICO DE
RATAS EXPOSTAS A DIETA OCIDENTALIZADA**

Trabalho de conclusão apresentado ao
Curso de Graduação em Nutrição da
Universidade Federal de Pernambuco
como requisito para obtenção de grau
de Nutricionista

Área de concentração: Bases
Experimentais em Nutrição

Aprovado em: ___/___/___

BANCA EXAMINADORA

Me. Vitória Felício (Coorientadora)
Departamento de Nutrição - UFPE

Prof. Dr. Rebecca Peixoto
Departamento de Nutrição - UFPE

Prof. Dr. Ruth Guilherme
Departamento de Nutrição - UFPE

AGRADECIMENTOS

Começo agradecendo à minha orientadora, Elizabeth, pela oportunidade e apoio durante esse projeto. Queria agradecer a Everton, que interveio quando pode em momentos de paralisia decorrente da ansiedade, e me fez companhia. Vitória, colega de graduação que se tornou coorientadora, que continuou acreditando em mim, especialmente quando eu achava que já tinha desistido de tudo, e me manteve com os pés no chão e me forçou a seguir em frente junto com ela. Juntamente, os outros membros da minha Little Bag, que mesmo distantes se fazem presentes, Adelia e Junior.

Às minhas queridas amigas da escola, pelo apoio contínuo, e não me deixarem acreditar nunca que uma dificuldade momentânea fosse me prender para sempre. Alessa, Aline, Clara, Duda, Ias, Mayra, Vic, de 2010 até hoje, não sei o que seria de mim sem vocês. A minha família, que nunca me cobrou uma satisfação ou me pressionou, que entenderam meu tempo, me deram suporte até que eu estivesse pronta para finalizar essa etapa. Mãe, Pai, meu desejo é que sintam por mim o orgulho que tenho de vocês. Espero poder cuidar de vocês como cuidam de mim.

Queria agradecer verdadeiramente à minha turma, Help, pois passar pela graduação com vocês foi a única razão de eu ter passado pela graduação em primeiro lugar. A gente ajudava o próximo, ninguém soltava a mão de ninguém, e eu não tenho dúvidas de que está para vir uma turma melhor que a nossa. Pena de quem não estudou com a gente. Muito obrigada também Fernando, pelos cafés e refeições, e todo o auxílio e disposição para compleição deste trabalho.

Por fim, gostaria de agradecer a todos os professores que participaram do meu processo de formação, pelas portas que me foram abertas durante esse período, e por todo o conhecimento compartilhado.

Eu sei que me aguentar esses últimos anos não foi fácil. Sei que dei trabalho, e frustrei bastante vocês com minhas dificuldades. Sei, pois achei que eu mesma não me aguentaria. Mas cá estamos, e por isso, mais uma vez, obrigada. De coração. Espero poder retribuir o carinho e cuidado recebido.

RESUMO

A obesidade é um problema de saúde complexo, de etiologia multifatorial, relacionado ao desenvolvimento de inúmeras comorbidades, e de difícil abordagem terapêutica e resolução. Atualmente, o uso crônico dos medicamentos convencionais disponíveis tem elevado custo e podem desencadear efeitos colaterais indesejáveis. Nesse contexto, a *P. aculeata* é uma planta da família Fabaceae, que desperta a curiosidade da comunidade científica como possibilidade de tratamento alternativo das condições associadas ao excesso de peso, já sendo utilizada empiricamente pela população como estratégia de controle de dislipidemias e diabetes. O objetivo deste trabalho foi avaliar se o extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* possui efeito residual capaz de melhorar o perfil murinométrico e inflamatório hepático de ratas submetidas a uma dieta ocidentalizada. Nesse ensaio pré-clínico, foram utilizadas 16 ratas *Wistar*, alimentadas dieta ocidentalizada hipercalórica e hiperlipídica para indução do excesso de peso, iniciada após o desmame aos 21 dias. Após 8 semanas de indução, a amostra foi subdividida em dois grupos com 8 animais cada, em grupo não-tratado (O) com veículo 1,5 ml/kg, e grupo tratado (OP) com o extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* 140 mg/kg, administrados via gavagem durante 30 dias. A administração cessou uma semana antes da eutanásia, por guilhotina. Foram avaliados dados de ingestão alimentar e contribuição energética de macronutriente, dados murinométricos (peso, circunferências torácica e abdominal), e dados relativos ao perfil inflamatório e histológico hepático (peso do fígado absoluto e relativo, mieloperoxidase - MPO, quantitativo de lipídios hepáticos e histomicrografia hepática). A significância utilizada foi $p < 0,05$. Como resultado, não foi constatada diferença nos dados relacionados à ingestão alimentar e murinométricos, mas o peso relativo do fígado ($O = 2,67 \pm 0,23$; $OP = 2,43 \pm 0,13$; $p = 0,0241$) e quantitativo de lipídeos hepáticos ($O = 9,77 \pm 2,02$; $OP = 7,83 \pm 0,58$; $p = 0,0483$) tiveram uma redução no grupo tratado (OP). Além disso, a histologia demonstrou diminuição do infiltrado lipídico no grupo OP em comparação com o O. A MPO não demonstrou diferença entre grupos. Dessa forma, foi possível verificar que a *P. aculeata* possui efeito residual benéfico capaz de atenuar parâmetros inflamatórios hepáticos causados pela dieta ocidentalizada, mesmo na continuidade de seu consumo.

Palavras-chave: obesidade; dieta ocidental; fígado; medicamento fitoterápico.

ABSTRACT

Obesity is a complex health issue, of multicausal etiology, linked to the development of various comorbidities, and of difficult therapeutic approach and resolution. Currently, there is an elevated cost in the chronic use of available conventional drugs, which can also lead to undesirable collateral effects. In this regard, *P. aculeata* is a plant from the Fabaceae family that is stirring the scientific community's curiosity as a possible alternative treatment of obesity-associated ailments. It's already being empirically used by local population as treatment strategy for dyslipidemia and diabetes control. The aim of this study is to evaluate if *P. aculeata* holds residual effect capable of improving murinometric and hepatic inflammatory parameters on female rats submitted to western-style diet. This pre-clinic trial utilized 16 female *Wistar* rats, fed western-style hypercaloric and hyperlipidic chow diet for overweight induction, starting at 21 days post-weaning. 8 weeks after induction, the sample was split, 8 animals each, into group non-treated (O) with vehicle 1,5 ml/kg, and group treated (OP) with *P. aculeata* hydro-alcoholic extract 140 mg/kg, administered through oral gavage, for 30 days. Administration stopped one week before euthanasia, by guillotine. The evaluated data was diet ingestion and macronutrient caloric contribution, murinometric parameters (weight gain, thoracic, and abdominal circumference), and hepatic inflammation and histological related parameters (absolute and relative liver weight, myeloperoxidase, total hepatic lipids, and hepatic histology). P value significance of $< 0,05$ was used. As results, difference in diet ingestion and murinometric measurements was not found, though relative liver weight (O = 2,67 \pm 0,23; OP = 2,43 \pm 0,13; p = 0,0241) and total hepatic lipid count (O = 9,77 \pm 2,02; OP = 7,83 \pm 0,58; p = 0,0483) presented lower values on treated group (OP). Furthermore, hepatic histology demonstrated decreasing of lipid infiltration on OP group compared to O. MPO did not show difference between groups. Thus, it was possible to verify the beneficial residual effects of *P. aculeata* capable of attenuating inflammatory hepatic parameters caused by western-style diet, even with continued consumption.

Keywords: obesity; western diet, liver; phytotherapeutic drugs.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	7
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	9
2.1 Obesidade, estilo de vida e repercussões.....	9
2.2 Extrato <i>P. aculeata</i> e seus usos.....	11
3. OBJETIVOS.....	13
3.1 Geral.....	13
3.2 Específicos.....	13
4. METODOLOGIA.....	14
4.1 Desenho do estudo.....	14
4.2 Ingestão alimentar semanal média.....	15
4.3 Extrato de <i>Parkinsonia aculeata</i>	15
4.3.1 Processamento dos extratos orgânicos.....	15
4.3.2 Extração direta e partição do extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i>	15
4.3.3 Administração do extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i>	16
4.4 Avaliação murinométrica.....	17
4.5 Eutanásia.....	17
4.6 Dosagem de lipídeos.....	17
4.7 Análise mieloperoxidase (MPO)	18
4.8 Histomicrografia hepática.....	19
4.9 Análise estatística.....	19
5. RESULTADOS.....	20
5.1 Evolução ponderal semanal (EPS)	20
5.2 Circunferência torácica e abdominal.....	20
5.3 Ingestão alimentar semanal (IAM)	21
5.4 Ingestão calórica total e dos macronutrientes.....	22
5.5 Peso do fígado em (g) e (%).....	22
5.6 MPO.....	23
5.7 Determinação de lipídeos hepáticos.....	24
5.8 Histomicrografia hepática.....	24
6. DISCUSSÃO.....	26
7. CONCLUSÃO.....	29
REFERÊNCIAS.....	30
ANEXO.....	33

1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma condição multifatorial associada ao desenvolvimento de diversas doenças crônicas não transmissíveis (DCNTs), como hipertensão arterial sistêmica (HAS), diabetes mellitus (DM), dislipidemias e doenças hepáticas (Meldrum; Morris; Gambone, 2017). Sua prevalência vem aumentando vertiginosamente ao longo dos anos, sendo considerada um problema de saúde pública mundial, onde no Brasil, esse aumento é mais acentuado na população adulta feminina (Ferreira; Szwarcwald; Damacena, 2019). Dentre os principais fatores relacionados ao desenvolvimento da obesidade, têm-se a adoção de hábitos alimentares inadequados (consumo exagerado de alimentos com alta densidade energética, ricos em açúcar e lipídios) e sedentarismo na rotina dos indivíduos (Ma *et al.*, 2022).

Em concomitância às DCNTs, há o estabelecimento da inflamação crônica sistêmica de baixo grau no indivíduo, uma vez que o tecido adiposo é metabolicamente dinâmico, podendo executar uma função endócrina, e capaz de sintetizar e liberar compostos como as adipocinas e citocinas, que regulam a homeostase metabólica. (Francisqueti; Nascimento; Correa, 2015). Um dos exemplos de marcador inflamatório e estresse oxidativo, que tem sua expressão aumentada em indivíduos obesos é a mieloperoxidase (MPO), uma enzima presente em neutrófilos com papel importante no sistema imunológico. Porém, devido ao seu potencial inflamatório e de lesão aos tecidos, também se relaciona com doenças como hipertensão, diabetes, doenças neurodegenerativas, cardiovasculares, hepáticas e aterosclerose (Koch *et al.*, 2021).

Durante um quadro inflamatório, mediadores, como histamina e serotonina, aumentam a permeabilidade vascular, que favorece o influxo de células imunes no local, resultando na liberação da MPO. Na obesidade, a infiltração de neutrófilos no tecido adiposo aumenta a expressão da mieloperoxidase, onde no fígado, essa infiltração é considerada um bom preditor de doenças inflamatórias, além da MPO também estar presente nas células de Kupffer, macrófagos residentes no fígado (Khan; Alsahli; Rahmani, 2018).

Para redução ou até mesmo reversão do cenário inflamatório definido a partir da obesidade, têm-se estudado drogas sintéticas. Porém, o uso crônico desses medicamentos, como orlistat, sibutramina e liraglutida (análogo do GLP-1), além

do desencadeamento de efeitos colaterais, pode acarretar num elevado custo orçamentário para o estado e para o paciente (Joyce *et al.*, 2016; Meldrum; Morris; Gambone, 2017; Francisqueti; Nascimento; Correa, 2015). O Ministério da Saúde mostrou que, em 2019, 22% dos 6 bilhões direcionados ao tratamento de doenças crônicas foram atribuídos ao excesso de peso e obesidade (Ministério da Saúde, 2022). Nesse contexto, muitos países em desenvolvimento onde o sistema de saúde público não alcança a população por inteiro no fornecimento de remédios convencionais, o uso de fitoterápicos pode ser uma alternativa de maior alcance e mais acessível (Franco *et al.*, 2022)

Nesse contexto, uma planta que vem sendo estudada é a *Parkinsonia aculeata* (*P. aculeata*). É uma árvore da região do nordeste brasileiro, da qual a partir da infusão de suas partes aéreas (caule, flores e folhas) a população local obtém um chá com propriedades para controle da diabetes e dislipidemias. Esses efeitos foram previamente comprovados em estudos da literatura, incluindo melhora de outros parâmetros inflamatórios relacionados ao excesso de peso em ratos (Franco *et al.*, 2022). No entanto, não há estudos com fêmeas que avaliem se a *P. aculeata* possui efeito residual (ação que persiste após o fim do tratamento) e se o mesmo atua na melhora do perfil inflamatório hepático após indução do excesso de peso por dieta.

Logo, os achados presentes na literatura sugerem o potencial do extrato da *P. aculeata* como tratamento alternativo para uma variedade de condições associadas à obesidade, com melhora de parâmetros inflamatórios, lipídicos e glicídicos. Assim, considera-se uma possibilidade efetiva, segura e de baixo custo em comparação com as opções de tratamento tradicionais atuais. No entanto, são necessários estudos experimentais para consolidar esses efeitos e investigar seus mecanismos de ação.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Obesidade, estilo de vida e repercussões

A obesidade pode ser definida como o acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal, prejudicando a saúde, e possui etiologia multifatorial. Nas últimas décadas, a prevalência de indivíduos com excesso de peso aumentou drasticamente. Segundo dados publicados pelo Ministério da Saúde, cerca de 60% dos brasileiros apresentam excesso de peso, e 1 em cada 4 pessoas tem obesidade, de acordo com a Pesquisa Nacional de Saúde PNS/2020 (Ministério da Saúde, 2022; Meldrum; Morris; Gambone, 2017; Ferreira; Szwarcwald; Damacena, 2019).

Sendo assim, para mimetizar o cenário de obesidade/excesso de peso no presente estudo, foi utilizada uma dieta ocidentalizada (hipercalórica e hiperlipídica), adaptada de Ferro Cavalcante *et al.*, 2014, tendo como origem o trabalho de Carvalho *et al.*, 2013, que por sua vez, tomou como base a Pesquisa de Orçamentos Familiares - POF de 2002/2003. A partir dos resultados de ambos os estudos (elevação da gordura visceral, hiperinsulinemia, hipertrigliceridemia, aumento do colesterol, LDL, redução do HDL e alterações na tolerância à glicose), assim como no estudo de Nascimento *et al.* (2020), esse padrão dietético tornou-se modelo experimental no Grupo de Pesquisa em Nutrição Experimental e Metabolismo - NEM para indução da obesidade.

Ensaios pré-clínicos (modelos animais) e clínicos (humanos) confirmam a associação entre o consumo calórico excessivo com o aumento da adiposidade e inflamação do tecido adiposo (Kawai; Autieri; Scalia, 2020). O processo inflamatório ocorre a partir do aumento dos estoques energéticos e sobrecarga de ácidos graxos livres (AGL), frente a uma situação de excesso de peso induzida por dieta hiperlipídica, onde o tecido adiposo sofre expansão anormal, resultando em hipóxia e senescência celular. Esses dois cenários iniciam e mantém a inflamação subclínica característica da obesidade, marcado pela produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), aumento da secreção de citocinas inflamatórias (TNF- α e MPC-1) e diminuição da produção das adiponectinas, que possuem papel protetor. Nesse contexto, a desregulação secretória entre citocinas inflamatórias pelos adipócitos disfuncionais, perturba o

funcionamento do próprio tecido adiposo e outros órgãos (Kawai; Autieri; Scalia, 2020; Francisquetti; Nascimento; Correa, 2015).

Dentre os marcadores inflamatórios, têm-se a mieloperoxidase (MPO). Uma enzima expressa em células imunes, como neutrófilos e macrófagos, liberada em locais de inflamação. Sua reação libera potentes oxidantes, que normalmente são tóxicos para microorganismos invasores, porém sua produção excessiva ou desregulada pode danificar tecidos e resultar em várias doenças, de forma direta ou indireta. Entre elas, pode-se citar aterosclerose, câncer, doenças renais, hepáticas, pulmonares e esclerose múltipla (Khan; Alsahli; Rahmani, 2018).

Dentre as doenças hepáticas, há o desenvolvimento da doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA), que quando não tratada, pode avançar para cirrose e carcinomas, sendo uma das principais causas de doenças hepáticas crônicas, com uma prevalência mundial de cerca de 20-30%. Em sua fisiopatologia, ocorre o acúmulo de lipídios nos hepatócitos, e consequente infiltração de células imunes, estabelecendo um processo inflamatório que pode resultar em seu desenvolvimento. Na ausência de tratamento, pode progredir e estabelecer o quadro de fibrose e cirrose hepática (Rensen *et al.*, 2009).

Nesse cenário, o estudo de Rensen *et al.*, 2009 com pacientes obesos (IMC > 40 kg/m²), evidencia aumento das células de Kupffer MPO-positivas na esteatose hepática não alcoólica, seus níveis plasmáticos também se mostrando elevados, evidenciando maior expressão e atividade da MPO na perpetuação da inflamação crônica observada na esteatose hepática. Na pesquisa realizada por Wang *et al.*, 2014, foi revelado que ratos alimentados com dieta hiperlipídica tiveram um aumento da infiltração de neutrófilos e expressão e atividade da MPO no tecido adiposo, juntamente com ganho de peso e sinalização insulínica prejudicada. Concluindo-se, então, que a ativação da MPO no tecido adiposo contribui para o desenvolvimento da obesidade.

Atualmente, o tratamento do excesso de peso se dá através de intervenções no estilo de vida e/ou terapia farmacológica e cirúrgica. No entanto, a terapia farmacológica frequentemente apresenta benefícios a curto prazo apenas, e pode levar ao reganho de peso após término do uso do medicamento,

efeitos colaterais adversos, e abuso da droga (Zambare *et al.*, 2020). Tendo em vista essas informações, fica evidente a necessidade de mais estudos que busquem formas de tratamento alternativas, com efetividade comprovada e menos repercussões para o indivíduo.

2.2 Extrato *P. aculeata* e seus usos

A comunidade acadêmica tem estudado ao longo dos anos a área dos nutracêuticos e fitoterápicos, com foco especialmente em plantas que são comumente utilizadas pela população como forma de tratamento complementar ou alternativo no controle de alterações metabólicas. Assim, destaca-se a *Parkinsonia aculeata*, pertencente à família Fabaceae, onde no Brasil sua presença é registrada na região nordeste, ao qual a população local utiliza a infusão e decocção de suas folhas, galhos e flores devido sua ação antidiabética (Menezes *et al.*, 2020). Pesquisas que buscaram elencar seus componentes fitoquímicos reportaram a presença de uma enorme variedade de compostos bioativos, como flavonas, antocianinas, glicosídeos, alcalóides, taninos, terpenoides, saponinas, entre outros (Abdelaziz *et al.*, 2020).

Dentre os benefícios, destaca-se o seu potencial antioxidante, hipoglicêmico, hepatoprotetor, hipolipemiante e anti-inflamatório. A pesquisa de Abdelaziz *et al.*, 2020, chegou a identificar até 69 compostos no extrato da planta e suas frações, e confirmou sua capacidade antioxidante. Os estudos realizados por Menezes e colaboradores, 2020, demonstraram que o extrato da planta atenuou os níveis de glicose urinária e sanguínea, além de melhorar parâmetros bioquímicos e fisiológicos ligados ao metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas em animais diabéticos. Também se observou melhora na sinalização insulínica no fígado, músculo e tecido adiposo de ratos obesos (Menezes *et al.*, 2020; Abdelaziz *et al.*, 2020).

O estudo de Leite *et al.*, 2007, utilizou ratos diabéticos tratados com a porção hidrossolúvel de *P. aculeata* por 16 dias em dieta padrão, onde foi possível observar melhora nos parâmetros glicêmicos e de dislipidemia (colesterol total, LDL, VLDL, triglicerídeos e HDL). Já a pesquisa realizada por Franco em 2022, que avaliou o efeito do extrato hidroalcoólico da fração polar

de *P. aculeata* no perfil lipídico e inflamatório de ratos alimentados com dieta ocidentalizada, obteve resultados similares ao estudo anteriormente citado. Visto que houve diminuição significativa dos níveis de colesterol, LDL e triglicerídeos em comparação com o grupo não tratado, mesmo com a continuação da dieta ocidentalizada. Além disso, se evidenciou uma melhora significativa também nos níveis de IL-6 e TNF-a (Franco *et al.*, 2022).

Outro ponto abordado no estudo foi o uso de diferentes concentrações do extrato (35, 70 e 140 mg/kg) com intuito de avaliar se tais resultados seriam dose-dependentes. Como conclusão, foi possível observar que a dose de 140 mg/kg particularmente foi a mais eficaz nos parâmetros avaliados (Franco *et al.*, 2022). Em contrapartida, Leite *et al.* (2011), utilizando concentrações de 125 e 250 mg/kg, não relatou dose-dependência em seu trabalho com o extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* na maioria dos critérios analisados (Leite *et al.*, 2011). Sendo assim, com intuito de avaliar a toxicidade aguda, citotoxicidade (200 mg/kg) e embriotoxicidade (100 ml/L) da fração polar do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*, o trabalho de Menezes *et al.*, 2020, considerou o seu uso seguro tendo em vista os testes realizados, já que não foram identificadas alterações ou anormalidades nos parâmetros histopatológicos, hematológicos, comportamentais avaliados.

OBJETIVO

3.1 Geral

Avaliar se o extrato de *P. aculeata* possui efeito residual capaz de melhorar o perfil murinométrico e inflamatório hepático de ratas submetidas a uma dieta ocidentalizada.

3.2 Específicos

- Avaliar o efeito residual do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* na variação de peso corporal ao longo do período de exposição à dieta ocidentalizada.
- Investigar as alterações na ingestão alimentar média semanal das ratas durante a administração do extrato de *P. aculeata*.
- Medir o impacto do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* no peso absoluto e relativo do fígado nas ratas expostas à dieta ocidentalizada.
- Analisar as mudanças nas circunferências torácica e abdominal das ratas após a administração do extrato de *P. aculeata* em conjunto com a dieta ocidentalizada.
- Quantificar os níveis de marcadores inflamatórios hepáticos, como a mieloperoxidase (MPO), após o tratamento com o extrato de *P. aculeata*.
- Avaliar possíveis modificações morfológicas e estruturais hepáticas induzidas pelo extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*.

3. METODOLOGIA

3.1 Desenho do estudo

Estudo experimental, composto por 16 fêmeas recém desmamadas da linhagem *Wistar* provenientes da colônia do departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). As ratas foram mantidas por 08 semanas em dieta obesogênica (estilo ocidental) para indução de alterações metabólicas e murinométricas. O projeto foi encaminhado para a Comissão de ética em utilização de animais (CEUA) do Centro de Biociências da UFPE sob número de protocolo 0017/2022. Os animais foram mantidos no biotério Naíde Regueira Teodósio compondo dois grupos experimentais: grupo com dieta ocidentalizada (**O**), grupo com dieta ocidentalizada e extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (**OP**). As etapas das fases experimentais estão representadas na figura 1.

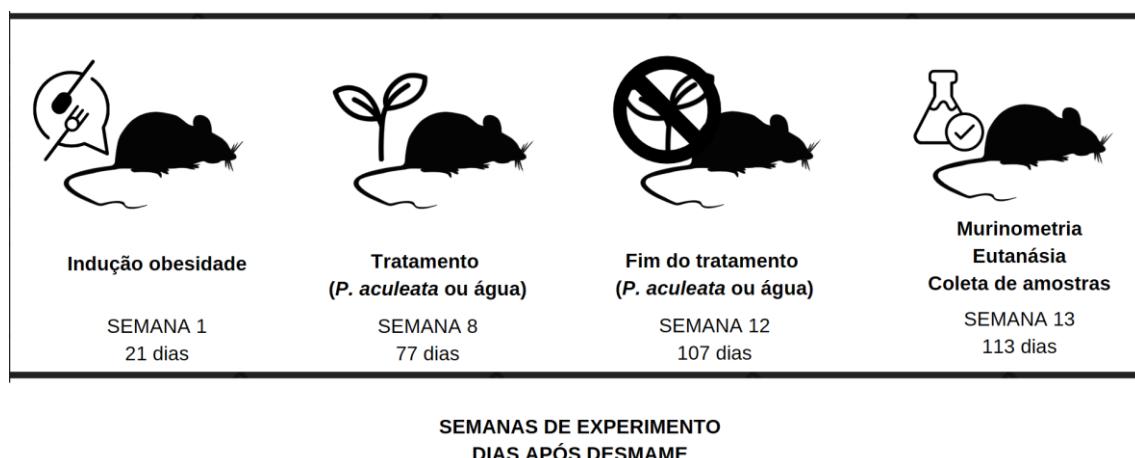


Figura 1 – Desenho experimental

(Fonte: a autora, 2023)

Inicialmente as ratas foram mantidas em gaiolas individuais com ciclo de luz invertido: claro (20:00 às 8:00) e escuridão (08:00 às 20:00), com temperatura de $22^{\circ}\text{C}\pm 1$, umidade relativa de 45-50%. As 16 ratas foram aleatoriamente subdivididas para comporem os grupos segundo o protocolo de tratamento. A dieta indutora de obesidade foi a dieta ocidentalizada (O) adaptada de Ferro Cavalcante *et al.*, 2014, totalizando 4,6 Kcal/g; 39,68% carboidrato; 24,50% proteína e 35,80% lipídio (Ferro Cavalcante *et al.*, 2014). Segundo Gajda *et al.*, 2007, uma contribuição energética lipídica entre 30% e 50% é considerada *high*

fat diet (HFD), ou hiperlipídica, como é o caso da dieta adaptada utilizada (Gajda *et al.*, 2007)

As dietas foram elaboradas em forma de pellets e ofertadas *ad libitum* com troca a cada dois dias para evitar excesso de umidade e alteração da palatabilidade. O acompanhamento da evolução ponderal e glicemia de jejum serviram de base para indicar as mudanças no perfil nutricional e metabólico. Em seguida foram realizadas murinometria e eutanásia por guilhotina, seguido de avaliação metabólica através do material sanguíneo coletado.

3.2 Ingestão alimentar semanal média

A ingestão alimentar dos animais foi aferida três vezes na semana em dias alternados (segundas, quartas e sextas), em uma balança eletrônica digital (Bel©, modelo L2102). Recolhia-se a ração restante da gaiola do animal, pesava-se o rejeito, e substituía-se com ração fresca. Ao final de cada semana, os valores do rejeito eram subtraídos da oferta, e obtinha-se a média.

3.3 Extrato de *Parkinsonia aculeata*

As partes aéreas de *Parkinsonia aculeata* foram coletadas na região de Xingó, localizado no semiárido nordestino, entre os estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco e Sergipe, correspondendo a uma área aproximada de 45.000 km², sendo essa cortada pelo rio São Francisco. A espécie vegetal já foi identificada pela Botânica Hortensia Pousada Bautista (INCRA-BA) e uma exsicata encontra-se depositada (Nº 500) no herbário do Xingó (Canindé de São Francisco, Sergipe, Brasil).

3.3.1 Processamento dos Extratos Orgânicos

As partes aéreas de *Parkinsonia aculeata* foram secas em estufa, com circulação forçada a 50°C, e trituradas em moinho de facas até a pulverização. A droga vegetal obtida foi armazenada sob refrigeração até o momento de ser submetida ao processo de extração.

3.3.2 Extração direta e partição do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*

Extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*

O extrato hidroalcoólico foi obtido a partir da maceração do material vegetal (500g) em etanol/água (1:1, v/v) sob agitação mecânica (TECNAL®, modelo TE-1400), durante 48 horas a 23°C, e posteriormente filtradas em papel de filtro qualitativo. O material vegetal residual foi novamente submetido à extração com a solução hidroalcoólica 50%, sendo esse processo repetido por seis vezes para completa exaustão do material vegetal. Em seguida, o extrato foi concentrado em evaporador rotativo (TECNAL®, modelo TE-211) para total eliminação do etanol. Após a retirada do etanol, o material foi submetido à partição com acetato de etila para obtenção da partição polar do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*.

Partição do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*

O extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* sem solvente foi submetido à partição com acetato de etila (1:1). Essa mistura foi colocada em funil de decantação para obtenção da fração polar. Posteriormente, a fração polar foi colocada em evaporador rotativo para remoção de solvente residual. O produto obtido foi identificado como partição do extrato hidroalcoólico de partes aéreas de *P. aculeata* em acetato de etila (PEHPAac).



Figura 2 - Partição do extrato hidroalcoólico da *P. aculeata*

(Fonte: imagens retiradas da dissertação “Avaliação do efeito residual da fração polar de *Parkinsonia aculeata* em ratas *wistar* com excesso de peso induzido por dieta ocidental em parâmetros fisiometabólicos e comportamentais”, Souto, 2023) 1: Partição em acetato de etila (1:1); 2: Obtenção da fração polar; 3: Remoção do solvente residual no evaporador rotativo.

3.3.3 Administração do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*

Aos 77 dias pós-desmame, um grupo recebeu por gavagem o extrato vegetal - PEHPAc na dose de 140 mg/kg ou veículo (1,5 ml/kg), diariamente,

durante 30 dias às 12:00. A dose escolhida está baseada em resultados prévios publicados pelo grupo (Franco *et al.*, 2022). O grupo que não foi suplementado, recebeu como tratamento água filtrada (1,5 ml/kg) por período igual ao do tratamento. Este procedimento foi adotado para minimizar o efeito estresse de manuseio e minimizar a variação experimental entre os grupos (Balcombe *et al.*, 2014).

3.4 Avaliação murinométrica

Com intuito de avaliar a evolução ponderal do peso corporal dos animais ao final do período experimental e realizar correlação entre os indicadores e índices, foi registrado às 07:00 o peso corporal, onde ele foi mensurado por meio de uma balança eletrônica digital no período pré-intervenção (ao final desmame), durante e após o período experimental. Circunferência torácica e abdominal dos animais seguiram o protocolo de Macêdo *et al.*, 2021.

3.5 Eutanásia

O método realizado nos animais foi por guilhotina. O procedimento ocorreu às 14:00 após jejum de 8 horas e foram coletadas amostras sanguíneas para análise bioquímica, bem como tecidos para futuras investigações.

3.6 Dosagem de lipídeos

Para avaliação dos lipídeos hepáticos, foi aplicada a metodologia de Folch (1957), onde o objetivo é determinar o valor quantitativo de lipídeos presente na amostra. A análise consiste em extrair e determinar o percentual de lipídios ligados às proteínas e carboidratos no tecido hepático, através da utilização de solventes polares (solução de clorofórmio: metanol (2:1) e solução de sulfato de sódio a 1,5%). Para o cálculo do percentual de gordura, considera a fórmula: Gordura por cento (p/p) = (P1 x Vb) x 100 / (Va x P2). Onde P1 = peso dos lipídios na alíquota tomada, P2 = peso da amostra, Va = Volume da alíquota (5 ml) e Vb = volume inferior do extrato lido na proveta (Folch; Lees; Sloane Stanley, 1957).



Figura 3 – Extração de lipídios hepáticos

(Fonte: imagens retiradas da dissertação “Avaliação do efeito residual da fração polar de *Parkinsonia aculeata* em ratas *wistar* com excesso de peso induzido por dieta ocidental em parâmetros fisi metabólicos e comportamentais”, Souto, 2023) 1 e 2: Clorofórmio 99,8% P.A./ACS Estabilizado com Amníleno e Álcool metílico P.A. ACS (2:1); 3: Sulfato de sódio anidro P.A./ACS 1,5%; 4: amostra do tecido hepático; 5: maceração do tecido hepático; 6: filtração dos solventes; 7: solução bifásica com fração polar e apolar.

3.7 Análise Mieloperoxidase (MPO)

Os níveis da mieloperoxidase foram avaliados segundo protocolo descrito por Bradley *et al.*, (1982). Os fígados coletados ao término do experimento foram tamponados com tampão PBS-HTAB para serem triturados com o auxílio do homogeneizador (IKA ® T10 basic). Os homogenatos foram centrifugados em centrífuga refrigerada na rotação de 4000 rpm durante 5 minutos, a 4 °C. Posteriormente, 100 µL do sobrenadante de cada amostra foram adicionados a 1,9 mL da solução de reação (o-Dianisidine dihydrochloride) - 0,167 mg/mL,

tampão fosfato de sódio 50 mM, pH 6,0 e peróxido de hidrogênio 0,0005%). Após a incubação por 10 minutos, a reação foi lida em leitor de placas com comprimento de onda de 450 nm. Os resultados foram expressos como unidade de mieloperoxidase por milígrama de tecido (MPO / mg de tecido) (Bradley *et al.*, 1982).

3.8 Histomicrografia hepática

O fígado foi imerso em formol tamponado 10%, permanecendo no mesmo por 48 horas. Posteriormente, as amostras foram clivadas e submetidas à técnica histológica de impregnação e inclusão em parafina. Foram realizados cortes transversais com espessura de 2mm no fígado, os quais foram desidratados em álcool etílico em concentrações crescentes (70%, 80%, 90%, absoluto), diafanizados pelo xanol, impregnados e incluídos em parafina. Em sequência, foi realizado cortes de 3 μ m para posterior técnica de coloração pela Hematoxilina-Eosina (H.E), analisados em microscópio de luz, da marca NIS Elements Nikon® e fotografados em fotomicroscópio Nikon Eclipse 80i.

3.9 Análise estatística

Para fins estatísticos considerou-se a significância de $p<0,05$. A avaliação da normalidade foi realizada através do teste de Shapiro-Wilk. Para comparações entre os grupos, foi utilizado o teste T não-pareado. Para as medidas de interação entre dois fatores, foi usado o teste ANOVA *two-way*. Quando detectada diferença entre os grupos, foi utilizado o teste post-hoc de Tukey. Os dados estão expressos em média e desvio-padrão da média. Todos os dados foram analisados pelo programa estatístico GraphPad Prism 9.0.

5. RESULTADOS

5.1 Evolução ponderal semanal (EPS)

Não houve diferença na EPS entre os grupos O e OP ao longo das semanas, como pode ser observado na figura 4 ($O = 255,5 \pm 31,5$; $OP = 275,4 \pm 25,8$; $p = 0,9349$).

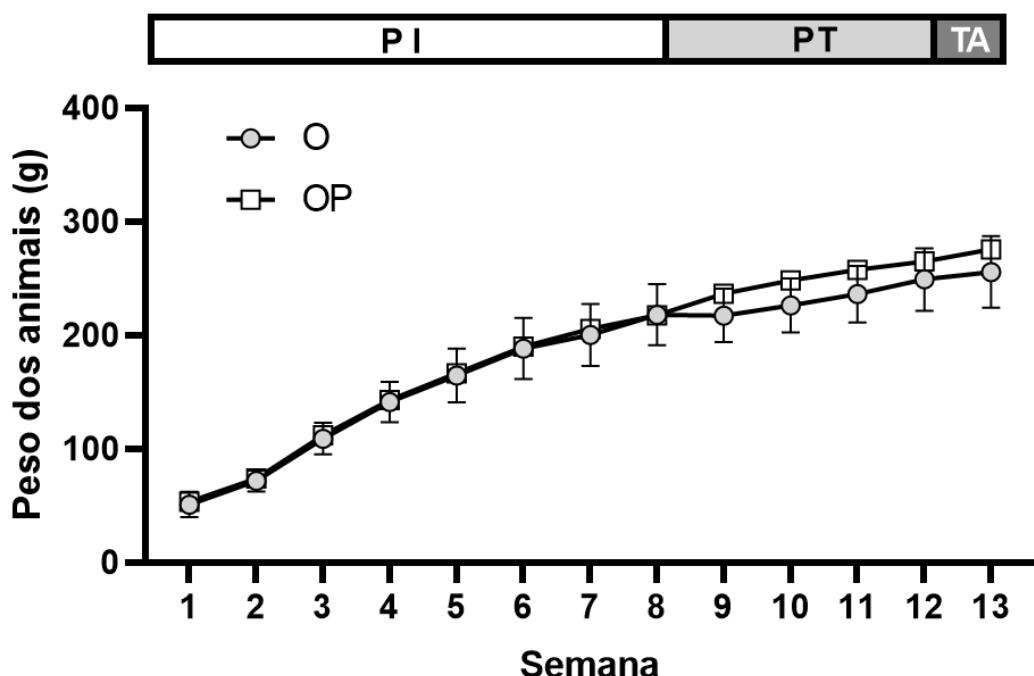


Figura 4 – Peso dos animais (g)

(Fonte: a autora, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com extrato de *P. aculeata*. PI = período de indução da obesidade; PT = período de tratamento; TA = testes nos animais. Teste ANOVA two-way.

5.2 Circunferência torácica e abdominal

As medidas referentes à circunferência torácica não demonstraram diferenças intragrupo ($O = 14,58 \pm 0,24$; $OP = 14,13 \pm 0,74$; $p = 0,3064$). O mesmo resultado foi observado na circunferência abdominal ($O = 16,57 \pm 1,57$; $OP = 16,13 \pm 0,99$; $p = 0,7994$).

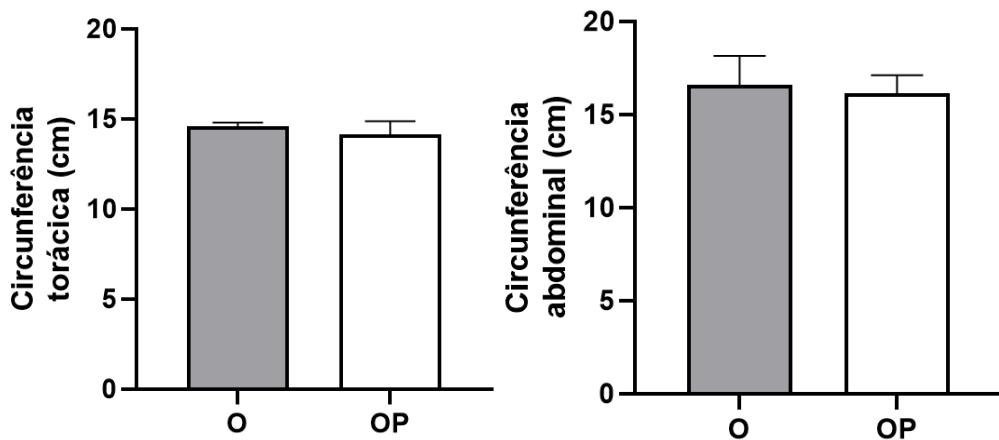


Figura 5 – Circunferência torácica e abdominal dos animais (cm)

(Fonte: a autora, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com extrato de *P. aculeata*. Teste T não-pareado.

5.3 Ingestão alimentar semanal (IAM)

Não houve diferença na IAM em gramas considerando o período experimental como um todo. Porém, ao comparar individualmente cada semana, pode-se observar diferença apenas na primeira ($O = 43,9 \pm 2,6$; $OP = 23,0 \pm 3,0$; $p = <0,0001$) e última ($O = 80,30 \pm 8,5$; $OP = 64,7 \pm 9,3$; $p = 0,0141$).

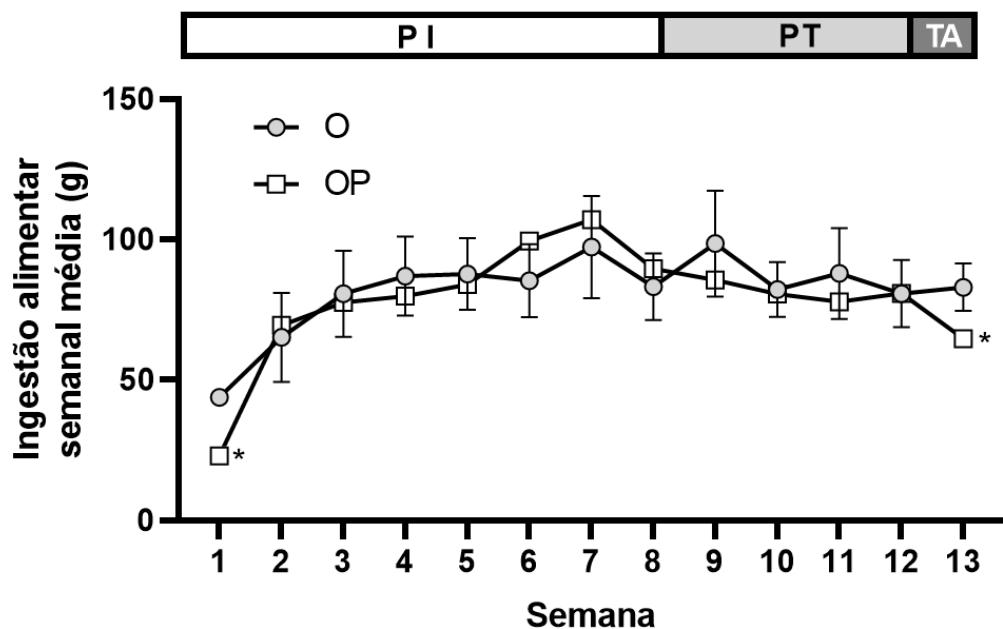


Figura 6 – Ingestão alimentar semanal (g) dos animais

(Fonte: a autora, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com extrato de *P. aculeata*. PI = período de indução da obesidade; PT = período de tratamento; TA = testes nos animais. Teste ANOVA two-way. Teste post-hoc Tukey.

5.4 Ingestão calórica total e dos macronutrientes

Não houve diferença quanto a ingestão calórica total ($p = 0,6244$) e de cada macronutriente: protéica (O = 1175 ± 113 ; OP = 1150 ± 83 ; $p = 0,6254$), lipídica (O = 1717 ± 165 ; OP = 1681 ± 122 ; $p = 0,6216$) e glicídica (O = 1904 ± 183 ; OP = 1864 ± 135 ; $p = 0,6238$), como indicado na figura 7 abaixo.

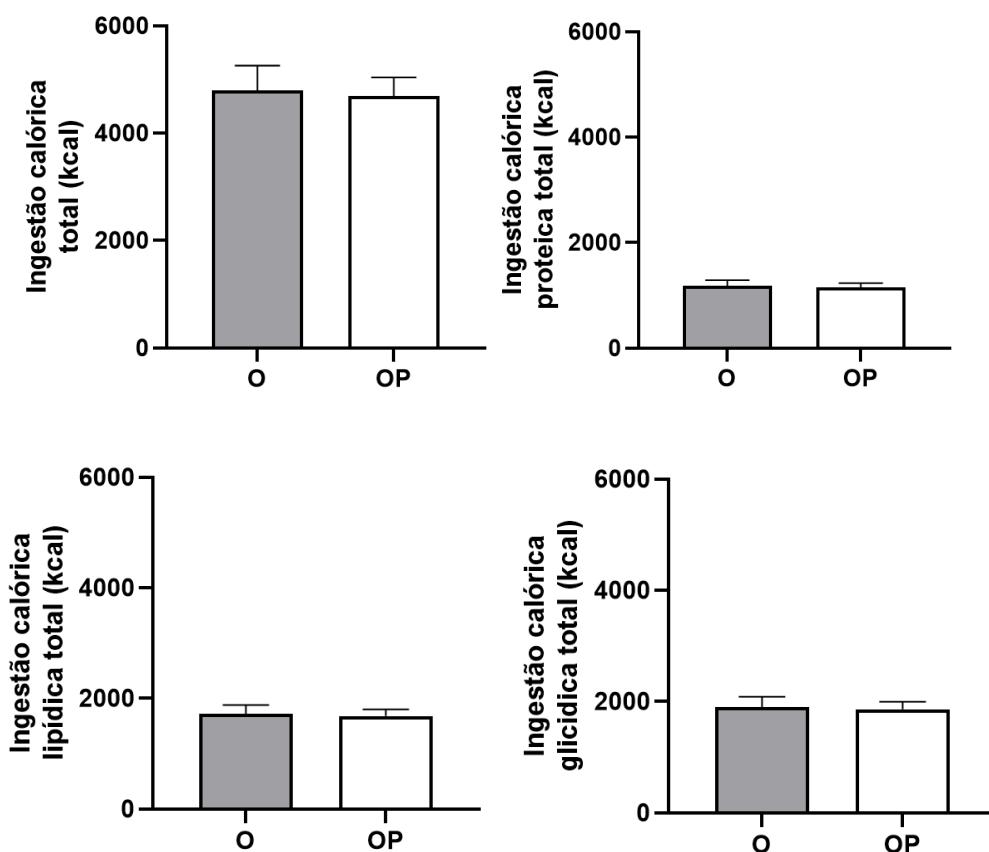


Figura 7 – Ingestão calórica total, proteica, lipídica e glicídica dos animais (kcal)

(Fonte: a autora, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com extrato de *P. aculeata*. Teste T não-pareado.

5.5 Peso do fígado em (g) e (%)

Quanto ao peso do fígado, o valor absoluto em gramas não apresentou diferença (O = $7,19 \pm 1,11$; OP = $6,70 \pm 0,52$; $p = 0,2883$). No entanto, ao

relativizar o valor em gramas do fígado pelo peso do animal, é possível observar diferença estatística entre os grupos ($O = 2,67 \pm 0,23$; $OP = 2,43 \pm 0,13$ $p = 0,0241$).

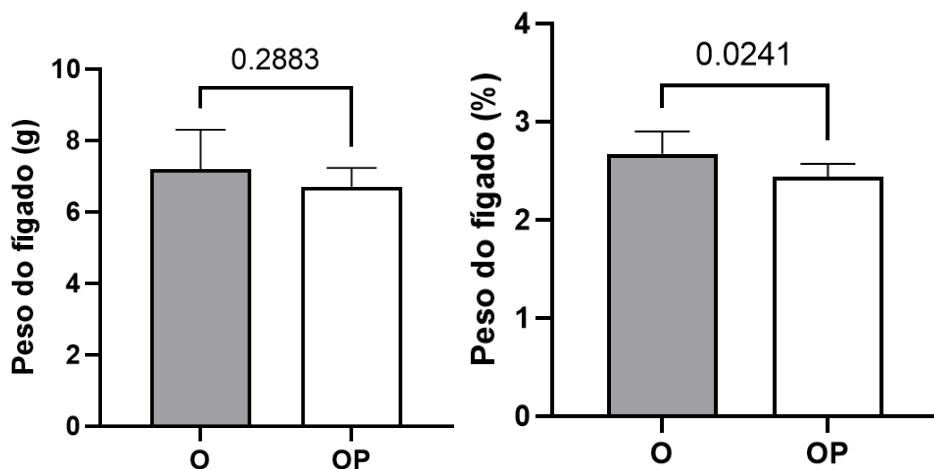


Figura 8 – Peso do fígado absoluto (g) e relativo (%) dos animais

(Fonte: a autora, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com extrato de *P. aculeata*. Teste T não-pareado.

5.6 MPO

Não houve diferença em relação ao nível de mieloperoxidase entre os grupos experimentais, como pode ser observado na figura 9 ($O = 1,64 \pm 0,23$; $OP = 2,00 \pm 0,54$; $p = 0,1353$).

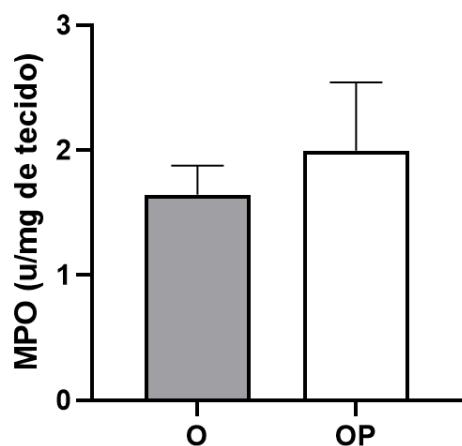


Figura 9 – Concentração de MPO no fígado dos animais (u/mg)

(Fonte: a autora, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com extrato de *P. aculeata*. Teste T não-pareado.

5.7 Determinação de lipídeos hepáticos

A análise quantitativa de gordura do fígado pelo método de Folch *et al.* revelou uma diferença estatística significante entre os grupos da dieta ocidentalizada (O) e o tratado com o extrato (OP), onde o grupo OP teve uma redução no percentual de gordura presente no tecido hepático, como mostra a figura 10 ($O = 9,77 \pm 2,02$; $OP = 7,83 \pm 0,58$; $p = 0,0483$).

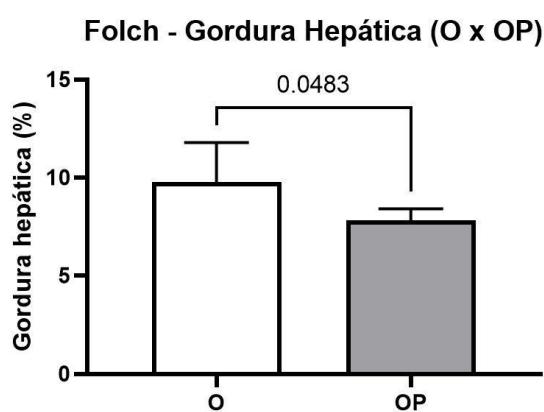


Figura 10 – Percentual de gordura hepática dos animais (%)

(Fonte: a autora, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com extrato de *P. aculeata*. Teste T não-pareado.

5.8 Histomicrografia hepática

Morfologicamente, o fígado dos animais de ambos os grupos estava bem desenvolvido, com uma delgada cápsula externa constituída por mesotélio, e lóbulos contendo veias de vários calibres. O parênquima mostrou hepatócitos dispostos desordenadamente em torno da veia centro-lobular. Suas células apresentam morfologia poliédrica, núcleo central, nucléolo proeminente e citoplasma acidófilo. Entre os hepatócitos, encontram-se as células de Kupffer. O grupo obesogênico não tratado (O) apresentou vesículas lipídicas características da esteatose hepática, enquanto o grupo tratado com *P. aculeata* (OP) apresentou essas vesículas em menor quantidade em comparação.

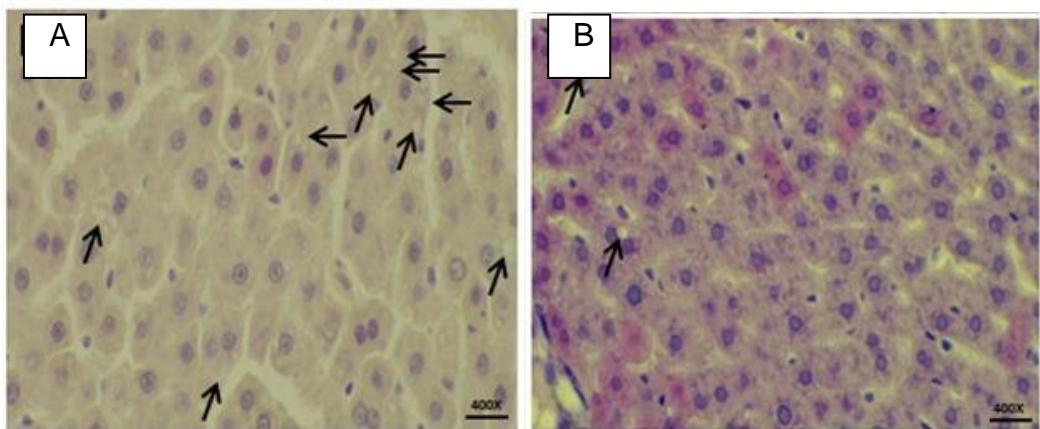


Figura 11 - Histomicrografia do fígado dos animais dos grupos experimentais

(Fonte: imagens retiradas da dissertação “Avaliação do efeito residual da fração polar de *Parkinsonia aculeata* em ratas *wistar* com excesso de peso induzido por dieta ocidental em parâmetros fisiológicos e comportamentais”, Souto, 2023) O = Grupo obesogênico; OP = Grupo obesogênico tratado com fitomedicamento *P. aculeata*. A - Grupo O com vesículas lipídicas (setas) característica de uma esteatose hepática. B - Grupo OP apresentando vesículas lipídicas numa menor quantidade das encontradas no grupo DO. Coloração HE.

6. DISCUSSÃO

Com a realização deste trabalho, os resultados obtidos mostram que o tratamento com o extrato nas ratas submetidas a dieta ocidentalizada não alterou a ingestão ou medidas murinométricas dos animais. No entanto, ao analisar os parâmetros hepáticos e inflamatórios, como peso do fígado, histologia e concentração lipídica do tecido, foi possível observar o efeito benéfico de *P. aculeata*, atenuando o dano no fígado em comparação com o grupo não tratado. Quanto à MPO, não houve diferença entre os grupos.

A partir da dieta ofertada, tendo característica hipercalórica, hiperlipídica e com elevada contribuição em carboidratos simples, houve ganho de peso nos animais, corroborando com estudos anteriores de composição dietética similar, resultando em alterações em medidas murinométricas e metabólicas dos animais. Entre Ferro Cavalcanti *et al.*, 2014, e Nascimento *et al.*, 2020, ambos estudos com composições dietéticas similares, foi relatado elevação do peso, gordura corporal, hiperglicemia, hiperinsulinismo e dislipidemias (Carvalho *et al.*, 2013, Ferro Cavalcanti *et al.*, 2014; Nascimento *et al.*, 2020).

Com relação a ingestão alimentar, foi possível observar que não houve diferença entre os grupos, tendo em vista que ambos estavam no mesmo modelo dietético para indução da obesidade, diferindo apenas em relação ao tratamento fitoterápico, onde também não foi observado interferência no ganho de peso e ingestão alimentar. Esses resultados podem ser corroborados com os estudos de Franco *et al.*, (2022), onde os animais alimentados com dieta ocidentalizada sem tratamento e tratados não demonstraram diferenças na ingestão em gramas, contribuição energética e peso entre si. Também não foram contempladas mudanças em outros parâmetros murinométricos como circunferência torácica (CT) e abdominal (CA). Logo, infere-se que a administração do extrato por si só não possui efeito que contribui com a perda de peso ou mesmo alterações murinométricas, corroborando assim com a literatura.

Na avaliação do cenário metabólico, pesquisas relatam a melhoria do perfil lipídico no tratamento com a *P. aculeata* a partir de outros parâmetros, como níveis séricos de lipídios circulantes, triglicerídeos, colesterol etc. (Leite, 2007; Leite, 2011). Esses parâmetros não foram avaliados no presente estudo

tendo em vista que já há comprovação da planta com ação na melhora do perfil lipídico. Porém, foi realizado análise histológica, onde observou-se redução do infiltrado lipídico hepático, e consequente redução da esteatose hepática no grupo tratado. Assim como em Seyedian *et al.*, 2019, com ratos submetidos à dieta hiperlipídica, onde a histologia mostrou esteatose macrovesicular, que foi atenuada no grupo tratado com extrato da *C. cauliflora*, planta da mesma família (Fabaceae) de *P. aculeata*.

Tais resultados se relacionam de forma consistente com o dado obtido acerca da dosagem de lipídios no fígado encontrada através da análise de Folch, onde houve redução significativa do percentual de ácidos graxos no grupo OP tratado com o extrato. A pesquisa de Alshammari, 2018, realizada com ratos adultos induzidos a esteatose através de dieta deficiente em metionina e colina (MCD), também quantificou pelo método de Folch os lipídios no fígado, após tratamento com solução preparada com broto germinado de *Vigna radiata*, também da família Fabaceae. A análise dos resultados mostrou uma redução significativa de diferentes lipídios (triglicerídeos, colesterol, fosfolipídios e ácidos graxos livres) no tecido. (Alshammari GM, Balakrishnan A, Chinnasamy T., 2018)

Além disso, houve redução significativa do peso relativo do fígado no grupo OP em comparação com o grupo O, sugerindo assim relação com a redução do infiltrado lipídico hepático através dos resultados obtidos na histomicrografia hepática e análise de Folch. Esse resultado também é observado no estudo de Leite *et al.* (2007) e Leite *et al.* (2011) com ratos diabéticos tratados com o extrato a 125 mg/kg, e nos animais tratados com extrato a 250 mg/kg, respectivamente.

Uma das hipóteses levantadas por Seyedian *et al.*, (2019) para justificar esses achados histológicos é que o tratamento com *C. cauliflora* pode estar prevenindo o dano ao fígado causado pela dieta através da diminuição no nível de malondialdeído (MDA), produto final da lipoperoxidação. Esse marcador atua como indicador de dano hepatocelular e está correlacionado com aumento do peso hepático, além de aumentar atividade da enzima antioxidante superóxido desmutase (SOD), atenuando danos histopatológicos. Concluindo assim que potencialmente a diminuição dos lipídios se deu pela presença de flavonoides e saponinas do extrato, substâncias essas também presentes na *P. aculeata*.

Porém, são necessárias mais investigações para elucidar completamente seu mecanismo de ação (Seyedan *et al.*, 2019).

Quanto à concentração de mieloperoxidase no tecido hepático não demonstrou diferença entre os grupos, resultado esse que vai de encontro ao descrito na literatura, em pesquisas que fazem avaliação do nível sérico da enzima (Wang *et al.*, 2014). No entanto, esse estudo avaliou a concentração tecidual hepática da MPO. Possivelmente, o tempo de indução da dieta não foi o suficiente para causar maiores alterações, sendo necessário reavaliações em pesquisas futuras para confirmar essa hipótese.

7. CONCLUSÃO

Através desse estudo, pode-se verificar que o efeito residual do extrato de *P. aculeata* foi capaz de atenuar parâmetros inflamatórios hepáticos causados pelo excesso de peso, com redução do infiltrado lipídico e esteatose hepática. Além disso, não houve diferença na ingestão e medidas murinométricas entre os grupos. Esses dados reforçam os benefícios do uso do extrato nas consequências do excesso de peso induzido por hábitos alimentares inadequados, mesmo na ausência da redução ponderal e manutenção da dieta desbalanceada. No entanto, são necessários mais trabalhos que elucidem com maior exatidão como esse processo acontece, e que avaliem uma amplitude maior de repercussões e/ou parâmetros e numa amostra mais variada.

REFERÊNCIAS

- ABDELAZIZ, S. et al. Phytochemical profile, antioxidant and cytotoxic potential of *Parkinsonia aculeata* L. growing in Saudi Arabia. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, n. 9, p. 1129–1137, 1 set. 2020.
- ALSHAMMARI, G. M.; BALAKRISHNAN, A.; CHINNASAMY, T. Protective role of germinated mung bean against progression of non-alcoholic steatohepatitis in rats: A dietary therapy to improve fatty liver health. **Journal of Food Biochemistry**, v. 42, n. 5, 1 out. 2018.
- BALCOMBE, J. et al. Laboratory Routines Cause Animal Stress. **American Association for Laboratory Animal Science**, 2014. n. December 2004.
- BARBOSA, J. T. DE C. et al. SISPRENATAL COMO FERRAMENTA FACILITADORA DA ASSISTÊNCIA À GESTANTE: REVISÃO INTEGRATIVA DA LITERATURA. **Revista Brasileira de Ciências da Saúde - USCS**, v. 12, n. 42, 26 jan. 2015.
- BRADLEY, P. P. et al. **Measurement of Cutaneous Inflammation: Estimation of Neutrophil Content with an Enzyme Marker**. [s.l: s.n.].
- CARVALHO, M. F. et al. Experimental diet based on the foods listed in the family budget survey is more detrimental to growth than to the reflex development of rats. **Revista de Nutrição**, 2013. v. 26, n. 2, p. 177–193.
- FERREIRA, A. P. DE S.; SZWARCWALD, C. L.; DAMACENA, G. N. Prevalência e fatores associados da obesidade na população brasileira: estudo com dados aferidos da Pesquisa Nacional de Saúde, 2013. **Revista brasileira de epidemiologia = Brazilian journal of epidemiology**, v. 22, p. e190024, 1 abr. 2019.
- FERRO CAVALCANTE, T. C. et al. Early exposure of dams to a westernized diet has long-term consequences on food intake and physiometabolic homeostasis of the rat offspring. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**, 2014. v. 65, n. 8, p. 989–993.
- FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **The Journal of biological chemistry**, v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.
- FRANCISQUETI, F. V.; NASCIMENTO, A. F. DO; CORREA, C. R. Obesidade, inflamação e complicações metabólicas. **Nutrile**, v. 40, n. 1, p. 81–89, 2015.
- FRANCO, E. S. et al. Polar fraction from *Parkinsonia aculeata* aerial parts extract improves imbalanced metabolic profile and reduces proinflammatory interleukin levels in white adipose tissue in obese rats induced by western diet. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 282, 10 jan. 2022.
- GAJDA, A. M. et al. Diet-Induced Metabolic Syndrome in Rodent Models. **Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)**, 2007. v. 8, n. 2, p. 114–119.
- JOYCE, N. R. et al. Patterns and predictors of medication adherence to lipid-lowering therapy in children aged 8 to 20 years. **Journal of Clinical Lipidology**, v. 10, n. 4, p. 824- 832.e2, 1 jul. 2016.

KARLA MELO FERREIRA DA SILVA. **Obesidade induzida por dieta em diferentes tempos: efeitos sobre análises murinométricas, hematológicas e imunológicas de ratas.** Recife - PE: UFPE, 2014.

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

KHAN, A. A.; ALSAHLI, M. A.; RAHMANI, A. H. **Myeloperoxidase as an Active Disease Biomarker: Recent Biochemical and Pathological Perspectives.** *Medical sciences (Basel, Switzerland)* NLM (Medline), 18 abr. 2018.

KOCH, M. S. et al. Aspectos gerais da mieloperoxidase e seu envolvimento em doenças: uma breve revisão / General aspects of myeloperoxidase and its involvement in diseases: a brief review. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 3, p. 28677–28691, 2021.

LEITE, A. C. R. et al. Parkinsonia aculeata aqueous extract fraction: Biochemical studies in alloxan-induced diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 111, n. 3, p. 547–552, 22 maio 2007.

LEITE, A. C. R. et al. Characterization of the antidiabetic role of Parkinsonia aculeata (Caesalpinaeaceae). **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2011, 2011.

MA, P. Y. et al. Natural bioactive constituents from herbs and nutraceuticals promote browning of white adipose tissue. **Pharmacological Research**, v. 178, 1 abr. 2022.

MACÊDO, A. P. A. et al. Murinometric measurements and retroperitoneal adipose tissue in young rats exposed to the high-fat diet: Is there correlation? **Brazilian Journal of Biology**, 2021. v. 81, n. 2, p. 246–250.

MELDRUM, D. R.; MORRIS, M. A.; GAMBONE, J. C. **Obesity pandemic: causes, consequences, and solutions—but do we have the will?** *Fertility and Sterility* Elsevier Inc., 1 abr. 2017.

MENEZES, T. M. et al. Evaluation of acute oral toxicity, embryotoxicity and cytotoxicity of the polar fraction of Parkinsonia aculeata aerial parts extract. **Toxicology Research**, v. 9, n. 1, p. 19–27, 2020.

MINISTÉRIO DA SAÚDE, O impacto da obesidade. Disponível em <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-brasil/eu-quero-ter-peso-saudavel/noticias/2022/o-impacto-da-obesidade>>. Acesso em: 24 de ago 2023.

NASCIMENTO, E. Do et al. Western-style diet changes murinometric and metabolic parameters of rat offspring in time-specific windows. **Brazilian Journal of Development**, 2020. v. 6, n. 7, p. 48355–48372.

POLYZOS, S. A.; KOUNTOURAS, J.; MANTZOROS, C. S. **Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: From pathophysiology to therapeutics.** *Metabolism: Clinical and Experimental* W.B. Saunders, 1 mar. 2019.

RENSEN, S. S. *et al.* Increased hepatic myeloperoxidase activity in obese subjects with nonalcoholic steatohepatitis. **American Journal of Pathology**, v. 175, n. 4, p. 1473–1482, 2009.

SEYEDAN, A. *et al.* Cynometra cauliflora Linn. Attenuates metabolic abnormalities in high-fat diet-induced obese mice. **Journal of Ethnopharmacology**, 2019. v. 236, n. March, p. 173–182.

WANG, Q. *et al.* **Myeloperoxidase deletion prevents high-fat diet - Induced obesity and insulin resistance.** **Diabetes** American Diabetes Association Inc., 1 dez. 2014.

ZAMBARE, K. K. *et al.*, A systematic review on obesity and herbal anti-obesity medicines. **Research Journal of Pharmacy and Technology**, India, v. 13, n. 10, p. 4966, 2020.

ANEXOS

ANEXO A – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UFPE



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Biociências
Av. Prof. Nelson Clavão, s/n
50670-420 / Recife – PE – Brasil
Fone: (81) 3235 8842
ceua@ufpe.br

Recife, 23 de maio de 2022

Ofício nº 29/22

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: Prof.ª Elizabeth do Nascimento
Departamento de Nutrição/ CCS
Processo nº 0017/2022

Certificamos que a proposta intitulada “**Restrição temporal do alimento e/ou uso do extrato hidroalcoólico da parkinsonia aculeata em ratas obesas: consequências metabólicas e comportamentais**”, Registrado com o nº 0017/2022 sob a responsabilidade de **Prof. Elizabeth do Nascimento** o 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 26/04/2022

Finalidade	(<input type="checkbox"/> Ensino (<input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa Científica)
Vigência da autorização	08/08/2022 a 08/08/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato heterogêneo
Nº de animais	50
Peso/idade	50±5g / 21 dias
Sexo	Fêmea
Origem: Biotério de Criação	Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE
Destino: Biotério de Experimentação	Biotério do Departamento de Nutrição da UFPE

Atenciosamente


Prof. Sebastião R. F. Silva
Presidente CEUA/UFPE
SIAPE 2345691