



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

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI OBESIDADE DO EXTRATO AQUOSO DOS
FRUTOS DE *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz EM RATOS WISTAR**

CLEIDIANE SILVA VIEIRA DE SOUZA

RECIFE

2017

CLEIDIANE SILVA VIEIRA DE SOUZA

**AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI OBESIDADE DO EXTRATO AQUOSO DOS
FRUTOS DE *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz EM RATOS WISTAR**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Patologia do Centro de Ciências da Saúde, como um dos requisitos para obtenção do Grau de Mestre em Patologia, da Universidade Federal de Pernambuco.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

Coorientadores: Prof. Dra. Ivone Antônia de Souza

Prof. Dr. Luiz Alberto Lira Soares

Linha de Pesquisa: Modelos Morfofisiológicos e Imunológicos das Doenças.

RECIFE

2017

Catálogo na Fonte
Bibliotecária: Mônica Uchôa, CRB4-1010

- S729a Souza, Cleidiane Silva Vieira de.
Avaliação da atividade antiobesidade do extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz em ratos wistar / Cleidiane Silva Vieira de Souza. – 2016.
89 f.: il.; tab.; quad.; gráf.; 30 cm.
- Orientadora: Manuela Figueiroa Lyra de Freitas.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, CCS. Programa de Pós-Graduação em Patologia. Recife, 2016.
- Inclui referências e anexos.
1. Obesidade. 2. Dieta ocidental. 3. Plantas medicinais. I. Freitas, Manuela Figueiroa Lyra de (Orientadora). II. Título.
- 616.07 CDD (23.ed.) UFPE (CCS2017-234)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Centro de Ciências da Saúde - UFPE

Av. Prof. Moraes Rego 1235 - Cidade Universitária - CEP: 50670-901 - Recife - PE

Prédio da Pós-graduação do Centro de Ciências da Saúde (CCS) - térreo

Fone/Fax: (81) 2126.8529

<http://www.ppgpatologiaufpe.com>

DISSERTAÇÃO DEFENDIDA PARA OBTENÇÃO DO TÍTULO DE MESTRA EM PATOLOGIA.

AUTORA: Cleidiane Silva Vieira de Souza

ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: Patologia

TÍTULO DA DISSERTAÇÃO: **“Avaliação da Atividade de Antiobesidade do Extrato Aquoso dos Frutos de *Libidibia ferrea* (Mart.) L. P. Queiroz em Ratos Wistar”.**

ORIENTADORA: Prof^a. Dr^a. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

DATA DA DEFESA: 15 de setembro de 2016

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dr. Nicodemos Teles de Pontes Filho

Prof^a. Dr^a. Adriana Di Donato Chaves

Prof. Dr. Fernando Vagner Lobo Ladd

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

R E I T O R

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE- REITOR

Prof^a. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

CHEFE DO DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA

Prof^a. Adriana Maria da Silva Telles

COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof^a. Manuela Figueiroa Lyra de Freitas

VICE-COORDENADOR DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Prof. Lucas André Cavalcanti Brandão

SECRETÁRIA DO MESTRADO EM PATOLOGIA

Margarete Valdevino da Silva

RECIFE

2017

“Dedico este trabalho à minha mãe, Sueli.”

AGRADECIMENTOS

A Deus, a quem sempre agradecerei em primeiro lugar, pois Ele é o grande responsável por todas as minhas conquistas.

À minha família, que é minha base e minha inspiração para realizar meus objetivos.

À minha orientadora, Prof^a Manuela, pela orientação e paciência. Pelo apoio nos momentos em que mais precisei. Foi além de orientadora, uma amiga que Deus colocou em minha vida.

Aos meus co-orientadores, Prof^a Ivone Antônia e Prof^o Luiz Alberto, pela disponibilidade e ajuda sempre que precisei. Em especial à prof^a Ivone, pela receptividade e por todo apoio recebido. A pessoa mais doce que eu tive o prazer de conhecer e conviver nesses dois anos.

A banca examinadora, por aceitar o convite contribuindo de forma importante para a conclusão do trabalho

Aos meus queridos amigos do mestrado (Patologia-UFPE 2014) pelos momentos compartilhados e por toda ajuda nos experimentos. Foram dois anos de muito companheirismo e amizade. Em especial à Tamires Menezes, pessoa linda e amiga a quem tenho enorme gratidão por toda ajuda e socorro nos momentos em que mais precisei. E à Libânia Ribeiro, por todos os conselhos e por toda ajuda nos momentos difíceis.

A todos os integrantes do departamento 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 e amizade. À Margarete Valdevino, sou grata por todo apoio prestado, uma pessoa sempre muito gentil comigo e com todos. A Arthur Clark, pela ajuda constante nesses últimos meses.

A todo corpo docente do mestrado e aos integrantes da banca examinadora por aceitarem o convite e contribuírem para minha formação.

As minhas amigas Rafaela, Flávia, Thayanne e Vanessa, pelo apoio nos momentos finais desse projeto.

À Marcela, Suélen e Natália, por todo carinho, atenção e amizade.

A Eduardo Henrique, pelos anos de companheirismo e por toda ajuda prestada.

As minhas queridas e maravilhosas primas e amigas Isabele, Elaine, Gabriela, Janaina, Yhasminie, Dayana e Mayara, companheiras de todas as horas, pessoas que fazem minha vida mais feliz. Obrigada por estarem comigo em todos os momentos.

À minha avó China (*in memoriam*), uma das pessoas mais sábias e irreverentes com quem tive o prazer de conviver por breves 25 anos. Ao meu avô Roga, por todo

cuidado e amor dedicados todos esses anos. À minha irmã Gleiciane, pelo apoio e companheirismo, a pessoa mais destemida e confiante que conheço. Ao meu pai, Sebastião, o homem que mais admiro, que apesar do baixo nível de escolaridade, sempre me incentivou a estudar e fez de tudo para que isso fosse possível.

À memória de minha mãe Sueli, a mulher mais forte, amorosa e a mais dedicada que eu conheci. Sou grata a Deus por ter me dado a honra e a felicidade de ser filha de um ser tão iluminado.

E termino agradecendo novamente a Deus, pelas pessoas maravilhosas que conheci antes e durante essa jornada, por ter permitido a execução desse projeto e por todas as graças que Ele realizou em minha vida!

Obrigada,
Cleidiane Vieira.

“*...Tudo posso naquele que me fortalece*” (Filipenses 4.13)..”

RESUMO

Libidibia ferrea, conhecida popularmente como “jucá” ou “pau ferro” 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, anti-hipertensiva e anti-inflamatória. O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antiobesidade do extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz em ratos wistar. Foram utilizados 30 ratos machos, os quais foram divididos em 3 grupos: Grupo Controle (GC), Grupo Obeso Tratado com Extrato (GOTE) e Grupo Obeso Não Tratado com Extrato (GONTE). A obesidade nos grupos GOTE e GONTE foi induzida através de dieta hipercalórica, oferecida aos animais a partir do 21º dia de vida (desmame) até o 120º dia de experimento (final do período experimental) e o GC recebeu ração comercial da marca Presence® durante o mesmo período de tempo. Através do ensaio de toxicidade aguda oral utilizando a metodologia da OECD (OECD 423), foi possível determinar a dose a ser utilizada no experimento. O tratamento crônico com o extrato aquoso dos frutos de jucá foi realizado durante 30 dias consecutivos por via intragástrica (gavagem) utilizando a dose de 2000mg/Kg, a qual foi administrada uma vez por dia, a partir do 90º até o 120º dia de experimento. Após o término do tratamento, os animais foram anestesiados e passaram pelo procedimento de coleta de sangue para posterior análise bioquímica. Em seguida, foram submetidos à perfusão e à eutanásia. Após esse processo, fígados e rins foram coletados para a realização da análise histológica. A análise comparativa mostrou que os ratos obesos tratados com extrato de jucá, não apresentaram redução significativa de peso corporal, nem das circunferências torácica e abdominal. Também não foram observadas atividades anti-hiperlipemiante e anti-hiperglicêmica, bem como, não houve alteração dos níveis séricos de glicose, triglicerídeos, de colesterol e suas frações. O extrato aquoso de jucá promoveu redução da gordura mesentérica e a manutenção do volume dos tecidos renal e hepático de ratos wistar obesos, porém, são necessários estudos complementares para uma melhor compreensão e elucidação de sua ação no tratamento da obesidade.

Palavras-chave: Obesidade. Dieta Ocidental. Plantas Medicinais.

ABSTRACT

Libidibia ferrea popularly known as "jucá" or "pau ferro" has been used in the treatment of various diseases that can be caused by obesity, due to its therapeutic properties, especially anti-hyperglycemic, antihypertensive and anti-inflammatory activities. The present study had as objective to evaluate the antiobesity activity of the aqueous extract of the fruits of *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz in wistar rats. Thirty male rats were used, which were divided into three groups: Control Group (CG), Obese Group Treated with Extract (OGTE) and Obese Group Not Treated with Extract (OGNTE). Obesity in the OGTE and OGNTE groups was induced through a hypercaloric diet, offered to the animals from the 21st day of life (weaning) until the 120th day of the experiment (end of the experimental period) and the CG received commercial feed of brand Presence® during the same period of time. Through the oral acute toxicity test using the OECD methodology (OECD 423), it was possible to determine the dose to be used in the experiment. The chronic treatment with the aqueous extract of jucá fruits was carried out during 30 consecutive days by the intragastric mode (gavage) using the dose of 2000mg / kg, which was administered once a day, from 90th to 120th day of experiment. After the end of the treatment, the animals were anesthetized and after they passed through the blood collection procedure for later biochemical analysis. Then they were submitted to perfusion and euthanasia. After this process, their livers and kidneys were collected for histological analysis. The comparative analysis showed that obese rats treated with jucá extract did not present significant reduction of body weight, nor of the thoracic and abdominal circumferences. Also, no antihyperlipidemic and antihyperglycemic activities were observed, as well as, there was no alteration of the serum levels of glucose, triglycerides, cholesterol and their fractions. The aqueous extract of jucá promoted reduction of mesenteric fat and maintenance of renal and hepatic tissue volumes of obese wistar rats, however, complementary studies are needed to better understand and elucidate their action in the treatment of obesity.

Keywords: Obesity. Diet, Western. Plants, Medicinal.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1. Árvore, folhas, flores e frutos de <i>Libidibia ferrea</i>	23
Figura 2. Estrutura química do ácido elágico 2-(2,3,6-trihidroxi-4-carboxifenil) isolado dos frutos da <i>Libidibia ferrea</i>	25
Figura 3. Organograma demonstrando a formação dos grupos experimentais	33
Tabela 1. Classificação do estado nutricional de acordo com o IMC	20
Tabela 2. Composição centesimal da ração comercial para ratos e camundongos Presence® utilizada no experimento	29
Tabela 3. Dieta hipercalórica – Composição e contribuição calórica dos macronutrientes da dieta ocidentalizada	30

ARTIGO ORIGINAL

Figura 1. Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado demonstrando congestão vascular	51
Figura 2. Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado demonstrando a presença de linfócitos	52
Figura 3. Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado demonstrando Intensa picnose nuclear	53
Figura 4. Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado demonstrando presença de neutrófilos no animal R3	54
Figura 5. Fotomicrografia da lâmina histológica de rins com áreas de congestão tubular, com indícios de hemorragia	55
Figura 6. Fotomicrografia da lâmina histológica rins com áreas de congestão tubular, com indícios de hemorragia	56
Figura 7. Fotomicrografia da lâmina histológica rins com grande quantidade de linfócitos nos túbulos renais e de picnose nuclear	57

Figura 8. Fotomicrografia da lâmina histológica rins com presença de picnose nuclear nos túbulos renais	58
Figura 9. Fotomicrografia da lâmina histológica rins com glomérulos renais sem alterações.	59
Tabela 1- Valores bioquímicos dos ratos após trinta dias consecutivos de tratamento com extrato aquoso dos frutos de <i>L. ferrea</i> (GOTE) e água destilada (GC e GONTE).	65
Gráfico 1. Evolução ponderal durante 14 dias após aplicação da solução do EAFLF em submetidos ao Ensaio de Toxicidade Aguda Oral.	49
Gráfico 2. Consumo de ração (A) e de água (B) durante 14 dias após aplicação da solução do EAFLF em 3 animais	50
Gráfico 3. Evolução ponderal dos grupos experimentais por 18 semanas.	60
Gráfico 4. Evolução do consumo alimentar dos grupos GC, GOTE e GONTE durante 30 dias consecutivos de tratamento.	61
Gráfico 5. Avaliação do consumo alimentar durante todo período experimental	62
Gráfico 6. Evolução do consumo alimentar dos grupos GC, GOTE e GONTE durante 30 dias consecutivos de tratamento	62
Gráfico 7. Medidas de circunferência torácica (CT) de cada grupo GC, GOTE e GONTE antes e depois (D) do tratamento	63
Gráfico 8. Medidas de circunferência abdominal de cada grupo GC, GOTE e GONTE antes e depois (D) do tratamento	63
Gráfico 9. IMC dos grupos GC, GOTE e GONTE antes (A) e depois (D) do tratamento	64
Gráfico 10. Pesos das gorduras mesentéricas de Ratos Wistar que receberam EAFLF (GOTE) e água destilada (GC e GONTE) durante 30 dias de tratamento	66
Gráfico 11A e 11B. Pesos dos fígados (A) e Rins (B) de Ratos Wistar que receberam EAFLF (GOTE) e água destilada (GC e GONTE) durante 30 dias de tratamento.	66
Gráfico 12. Análise do volume dos fígados de ratos dos grupos: GC, GONTE e GOTE que receberam água destilada ou EAFLF por gavagem	67

Gráfico 13. Análise do volume dos rins de ratos dos grupos: GC, GONTE e GOTE que receberam água destilada ou EAFLF por gavagem 68

Gráfico 14. Análise do volume da medula e do córtex renal de ratos dos grupos: GC, GONTE e GOTE que receberam água destilada ou EAFLF por gavagem 69

Quadro 1. Principais reações comportamentais relacionadas à dose administradas do EAFLF na avaliação da toxicidade aguda por via intragástrica 48

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ABESO** - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade
- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- ANOVA** - Análise de Variância
- CA** - Circunferência Abdominal
- CT** - Circunferência Torácica
- CCB** - Centro de Ciências Biológicas
- CEUA** - Comissão de Ética no Uso de Animais
- COBEA** - Colégio Brasileiro para Experimentação Animal
- CONCEA** - Conselho Nacional de Experimentação Animal
- EAFLF** - Extrato Aquoso dos Frutos de *Libidibia ferrea*
- EA** - Extrato Aquoso
- EB** - Extrato Bruto
- EPM** - Erro Padrão da Média
- GC** - Grupo Controle
- GONTE** - Grupo Obeso Não Tratado com Extrato
- GOTE** - Grupo Obeso Tratado com Extrato
- IBGE** - Instituto Brasileiro de Geografia e Estatísticas
- IMC** - Índice de Massa Corporal
- OECD** - Organization for Economic Cooperation and Development
- OMS** - Organização Mundial de Saúde
- PC** - Perímetro da Cintura
- POF** - Pesquisa do Orçamento Familiar
- SBEM** - Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia
- UFPE** - Universidade Federal de Pernambuco

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO	17
2	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	20
2.1	Obesidade	20
2.1.1	Definição e Etiologia da Obesidade	20
2.1.2	Caracterização da Obesidade	20
2.1.3	A Obesidade Associada ao Surgimento de Doenças	22
2.1.4	Tratamento Farmacológico para Obesidade	22
2.2	<i>Libidibia ferrea</i> (MART.) L.P. Queiroz	23
2.2.1	Ocorrência e Botânica	23
2.2.2	Prospecção Fitoquímica	25
2.2.3	Propriedades Terapêuticas de <i>Libidibia ferrea</i> (Mart.) L.P. Queiroz	26
3	OBJETIVOS	28
3.1	Objetivo Geral	28
3.2	Objetivos Específicos	28
4	METODOLOGIA.....	29
4.1	Tipo de Estudo	29
4.2	Aspectos Éticos da Pesquisa	29
4.3	Local do Estudo.....	29
4.4	Modelo Biológico	29
4.5	Dietas	30
4.6	Material Vegetal	31
4.6.1	Coleta do Material Vegetal	31
4.6.2	Preparação do Extrato	32
4.7	Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (Dose Única) do Extrato Aquoso dos Frutos de <i>L. Ferrea</i> (Eb) (OECD, 2001)	32
4.8	Tratamento com o Extrato Aquoso dos Frutos de <i>Libidibia ferrea</i> em Ratos Obesos.....	34
4.8.1	Divisão dos Grupos Experimentais.....	34
4.8.2	Análise da Ingestão Alimentar	35
4.8.3	Análise da Ingestão Alimentar durante o Tratamento com Extrato Aquoso dos Frutos de <i>Libidibia ferrea</i>	36
4.8.4	Análise da Evolução Ponderal.....	36
4.8.5	Coleta de Amostras para Análise Bioquímica.....	36

4.8.6	Análise do Perfil Bioquímico	37
4.8.7	Peso e Volume dos Órgãos e da Gordura Mesentérica	37
4.9	Métodos de Análise	38
5	AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIOBESIDADE DO EXTRATO	
	AQUOSO DOS FRUTOS DE <i>Libidibia ferrea</i> (Mart.) L.P. Queiroz EM RATOS	
	WISTAR	39
6	CONCLUSÕES.....	80
	REFERÊNCIAS.....	81
	ANEXOS.....	87
	ANEXO 1. Certificado de Aprovação do Comitê de Ética.....	87
	ANEXO 2. Parâmetros bioquímicos de ratos wistar.....	88

1 APRESENTAÇÃO

Estudos realizados na última década mostraram que a obesidade tem sido um fator importante na predisposição ao aumento de morbidades e mortalidade. O relatório “Estatísticas Mundiais de Saúde 2012”, da Organização Mundial de Saúde (OMS) afirma que a obesidade foi apontada como a causa de morte de aproximadamente 2,8 milhões de pessoas por ano e que 12% da população mundial é considerada obesa (OMS, 2012).

Excesso de peso e obesidade são termos que podem ser confundidos em sua etiologia, porém, diferem-se quanto ao grau de gordura corporal acumulada. A Organização Mundial de Saúde (OMS) utiliza o Índice de Massa Corporal (IMC) para medir o nível do acúmulo de gordura corpórea e indicar se o indivíduo encontra-se ou não, dentro do peso considerado saudável. O IMC ideal encontra-se entre 18,5 e 25 kg/m²; o excesso de peso corresponde ao IMC entre 25 e 30 kg/m² e a obesidade equivale a um IMC = 30 Kg/m² (OMS, 2012).

A prevalência da obesidade vem crescendo em praticamente todos os países desenvolvidos, com apenas algumas exceções, assim como em países que estão em desenvolvimento, como o Brasil (SBEM, 2010). Dados relacionados à Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF), demonstram que o excesso de peso e a obesidade podem ser verificados desde a infância, normalmente a partir dos 5 anos de idade, englobando todos os grupos de renda financeira e todas as regiões do Brasil.

No Brasil, entre o período de 1974 a 2009, o excesso de peso em homens adultos passou de 18,5% para 50,1% e em mulheres de 28,7% para 48%; o grau de obesidade em homens aumentou de 2,8% para 12,4% e em mulheres, de 8% para 16,9%, dentro do mesmo período de tempo (IBGE, 2010).

De acordo com estudos recentes, no Brasil 58,4% das mulheres com mais de 20 anos e 52,5% dos homens com a mesma faixa etária apresentam obesidade. Entre os jovens do sexo feminino com menos de 20 anos essa parcela é de 24,3% e em jovens do sexo masculino é de 22,1%, o que inclui o Brasil acima da média global de obesidade (GAKIDOU et al., 2014).

Esses dados são alarmantes, levando-se em consideração que a obesidade pode ser um fator desencadeante para o surgimento de doenças crônicas não transmissíveis, como doenças cardiovasculares, diabetes *mellitus*, câncer e hipertensão arterial, as quais podem apresentar complicações irreversíveis e levar o indivíduo ao óbito (DUNCAN et al., 1993).

Alguns indivíduos com obesidade utilizam a medicina alternativa com o objetivo de emagrecer ou mesmo, de reduzir possíveis efeitos de doenças que estão associadas a essa condição. A busca por meios alternativos de tratamento pode ser explicada pelo fato de que plantas medicinais, apresentam, geralmente, poucos efeitos indesejáveis comparados aos dos fármacos utilizados no tratamento da obesidade (WON, 2010).

Várias plantas são utilizadas pela população brasileira no tratamento de diferentes doenças como hipertensão, diabetes e obesidade. Dentre essas plantas, destaca-se a *Libidibia ferrea* que apresenta ação anti-hiperglicemiante, anti-hipertensiva e anti-inflamatória, condições associadas à etiologia da obesidade. (BACCHI, SERTIE, 1994; BACCHI et al., 1995; MENEZES et al., 2007; VASCONCELOS et al., 2011).

Sendo assim, devido ao seu potencial terapêutico e diante da necessidade de colaborar como novas alternativas para o tratamento da obesidade, visando, ao mesmo tempo, minimizar efeitos orgânicos indesejáveis e doenças que possam ser

decorrentes dessa condição, este estudo teve a finalidade de avaliar a atividade do extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea* em ratos wistar obesos.

2 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Obesidade

2.1.1 Definição e Etiologia da Obesidade

De acordo com a Organização Mundial de Saúde a obesidade é definida como um excesso no acúmulo de gordura corporal, que confere implicações para a saúde e o bem-estar do indivíduo (OMS, 2012). De uma forma geral, esse acúmulo gordura corporal é progressiva e pode levar a prejuízos tanto à saúde física como também, mental. A etiologia da doença ainda não está esclarecida, mas sabe-se que inclui uma soma de fatores genéticos e ambientais (PINHEIRO; FREITAS; CORSO, 2004). Portanto, a obesidade é uma doença multifatorial e as interações entre os potenciais fatores determinantes são consideradas complexas.

A obesidade é uma condição que normalmente não decorre de apenas um fator e sim da associação e da interação de vários fatores, como, ambientais, genéticos e o estilo de vida (HEBE BRAND; HINNEY, 2009). Comportamentos associados a uma sociedade industrializada moderna, incluindo um estilo de vida sedentário, hábitos alimentares inadequados ou uma combinação de ambos, induziram um aumento na prevalência da obesidade (STEIN; COLDITZ, 2004; SILVA et al., 2013).

2.1.2 Caracterização da Obesidade

Equipamentos para mensurar a quantidade de gordura corporal possuem elevados custo, por isso, para tal finalidade, a OMS utiliza o Índice de Massa Corporal (IMC), que é definido como a razão entre a massa corporal em kilogramas (kg) pela altura

em metros (m) elevada ao quadrado, aplicando a fórmula $IMC = P/A^2$, como ferramenta antropométrica para definir o estado de sobrepeso e obesidade. Baseado neste parâmetro, o sobrepeso é definido quando o IMC é maior ou igual a 25 kg/m² e menor que 30 kg/m², enquanto na obesidade o IMC é igual ou maior 30 kg/m² (OMS, 2008) (Tabela 1).

Tabela 1- Classificação do estado nutricional humano de acordo com o IMC

IMC	CLASSIFICAÇÃO
< 18,5 Kg/m ²	Baixo peso
18,5 – 24,9 Kg/m ²	Normal
25,0 – 29,9 Kg/m ²	Sobrepeso
30,0 – 34,9 Kg/m ²	Obesidade grau I
35,0 – 39,9 Kg/m ²	Obesidade grau II
40,0 ou > Kg/m ²	Obesidade grau III

Fonte: OMS, 1998.

A circunferência abdominal (CA) é um método relevante para avaliar o risco de doenças cardiovasculares e metabólicas (ALMEIDA, 2009). Segundo Malachias (2010), a forma como a gordura está distribuída no corpo, pode indicar se há maior ou menor risco para a saúde, sendo aceito que a localização da adiposidade no segmento superior do corpo (gordura visceral) constitui um parâmetro de interesse clínico para identificar indivíduos em maior risco de desenvolverem doenças cardiovasculares.

2.1.3 A Obesidade Associada ao Surgimento de Doenças

De acordo com dados de pesquisas da ABESO (2012) o excesso de peso gera dados preocupantes de morbimortalidade por doenças relacionadas a esse estado, o qual já é responsável por dois terços de todos os óbitos no mundo.

Devido à grande dimensão que vem tomando, a obesidade já é considerada como uma epidemia mundial sendo um dos principais fatores que contribuem para o aumento na prevalência de doenças crônicas não transmissíveis, como as endócrinas (resistência à insulina, diabetes *mellitus* tipo 2), doenças cardiovasculares (hipertensão arterial, dislipidemia e hipertrofia do ventrículo esquerdo), onde o aumento na gordura corporal reflete aumento significativo da pressão arterial; transtornos do aparelho locomotor, problemas dermatológicos, distúrbios alimentares e doenças gástricas (esteatose hepática e refluxo gastroesofágico), dificuldades respiratórias, além de problemas psicológicos, sugerindo que a condição de obesidade, além de ser um fator relevante no desenvolvimento de doenças crônicas, também pode ocasionar redução na expectativa de vida. Além disso, a associação de algumas dessas doenças, como diabetes mellitus e a hipertensão arterial, aumentam exponencialmente o risco de doenças cardiovasculares, que são responsáveis por pelo elevado índice de internação hospitalar e encontram-se em primeiro lugar como causa de morte no país (FRANCISCHI et al., 2000; WITHROW, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

2.1.4 Tratamento Farmacológico para Obesidade

Quanto ao tratamento farmacológico da obesidade, este é indicado quando o paciente possui um IMC (Índice de Massa Corporal) maior que 30Kg/m² ou quando o

indivíduo tem doenças associadas ao excesso de peso com IMC superior a 25Kg/m², em situações nas quais outros tratamentos prévios como dieta, exercício ou aumento de atividade física e modificações comportamentais não demonstram resultados satisfatórios (MELO; MANCINI, 2009).

Apesar de a obesidade ser preocupante para a saúde pública, existem poucos tratamentos farmacológicos e fitoterápicos eficientes e que ofereçam segurança para sua utilização. Os fármacos tradicionalmente utilizados no tratamento da obesidade possuem vários efeitos colaterais, como por exemplo cefaleia, obstipação, náuseas, insônia, irritabilidade, além de possíveis efeitos cardiovasculares, principalmente hipertensão arterial (ABESO, 2012). Essa é uma das possíveis explicações para a procura por produtos naturais para o tratamento da doença, tornando-se uma alternativa viável para o desenvolvimento de drogas antiobesidade mais seguras e eficientes (PARK et al, 2005; MAYER et al, 2009).

2.2 *Libidibia ferrea* (MART.) L.P. Queiroz

2.2.1 Ocorrência e Botânica

Libidibia ferrea cujo nome popular encontra-se registrado como “jucá” ou “pau-ferro” é uma árvore leguminosa nativa do Brasil, com ampla distribuição, encontrada principalmente nas regiões Norte e Nordeste (LORENZI, 2002). Trata-se de uma árvore bastante ornamental, podendo ser empregada na arborização de ruas e avenidas e, aproveitada para plantios em áreas degradadas, além de fornecer lenha e madeira para construção civil (PIO CORREA, 1984). Devido a sua capacidade de fornecer forragem e de conseguir se adaptar aos períodos de seca, essa árvore

caracteriza-se também como uma importante forrageira na região do Nordeste (OLIVEIRA, 2008).

A *Caesalpinia ferrea* Mart. (*Caesalpinia ferrea* Martus ex. Tulasne var. *leiostachya* Benth; sinonímia botânica: *Libidibia ferrea*) pertence à Família das Leguminosae (Fabaceae Lind.), e à subfamília: Caesalpinioideae (LORENZI, 1998; MOBOT, 2012). A *Libidibia ferrea* (Figura 1) é uma espécie vegetal de grande porte, com tronco liso e cerne duro, podendo alcançar de 10 a 15 metros de altura, com tronco de 40 a 60 cm de diâmetro o qual possui manchas claras. As folhas são bipinadas com folíolos oblongos, ovalados ou obovais. Os frutos apresentam cor marrom escura, do tipo legume (vagem) com sementes escuras e as flores são amarelas pequenas e em cachos (LORENZI, 1998).

Figura 1. Árvore, frutos, folhas e flores de *Libidibia ferrea* (jucá)



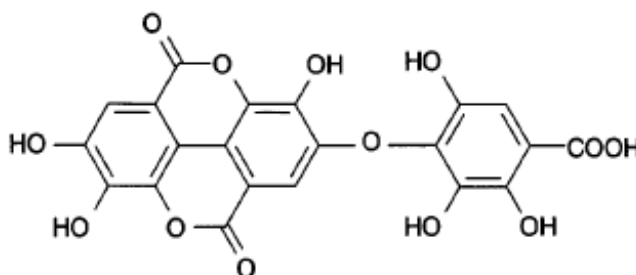
Fonte: tropical.theferns.info, Photograph by: [mauroquanandi](#), Tatters,

2.2.2 Prospecção Fitoquímica

Os componentes químicos já descritos para a *Libidibia ferrea* são: terpenos, taninos e ácidos fenólicos, flavonoides C-glicosilados e lectinas.

Souza (2005), ao analisar a composição dessa espécie, encontrou esteroides (sitosterol), flavonas, flavonóis, flavanonas, saponinas, taninos e xantonas. Gonzalez (2005) identificou no extrato bruto do caule e das folhas, taninos e flavonoides, e além desses, também constatou a presença de antraderivados e cumarinas nas folhas. Ueda et al (2001) conseguiram isolar do extrato aquoso dos frutos secos de *L. ferrea* (500g) o ácido elágico 2-(2,3,6-Trihidroxi-4-carboxifenil), o qual possui capacidade de inibir a aldose redutase, uma enzima que está presente em tecidos como capilares, endotélis vasculares, nervos periféricos, os quais normalmente encontram-se susceptíveis às complicações ocasionadas pelo diabetes.

Figura 2 – Estrutura química do ácido elágico 2-(2,3,6-trihidroxi-4-carboxifenil) isolado dos frutos da *Libidibia ferrea*



Fonte: Ueda H, Kawanishi K, Moriyasu M. Effects of ellagic acid and 2-(2,3,6-trihydroxy-4-carboxyphenyl) ellagic acid on sorbitol accumulation in vitro and in vivo. Biol Pharm Bull 2004 Oct; 27(10):1584-7

2.2.3 Propriedades Terapêuticas de *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz

A *Libidibia ferrea* encontra-se na Relação de Plantas Medicinais de interesse ao Sistema Único de Saúde – SUS (PICKLER, 2015). Tal interesse pode ser justificado pela grande variedade de propriedades terapêuticas que essa árvore apresenta, tanto já descritas na literatura, como relatadas por uso popular. Dentre essas propriedades estão:

- Atividade antiulcerogênica e anti-inflamatória (BACCHI; SERTIE, 1994);
- Propriedades analgésicas (FRASSON, 2002);
- Tratamento de ferimentos e contusões, alívio de tosse crônica e asma (HASHIMOTO, 1996);
- Ação antibacteriana (SOUZA et al., 2011);
- Ação antidiarréica (MAIA, 2004);
- Atividade antipirética (antitérmica) e cicatrizante (PIO CÔRREA, 1984; LEWIS, 1987; MAIA, 2004; OLIVEIRA et al., 2011; SOARES et al., 2013);
- Tratamento de diabetes e prevenção do câncer (NAKAMURA et al., 2002);
- Tratamento de feridas cutâneas e de tosse de animais de estimação (MONTEIRO et al., 2011);
- Agentes anti-hiperglicemiantes (VASCONCELOS et al., 2011);

Em um estudo realizado para verificar o efeito do Jucá sobre as enzimas proteína quinase B (PKB/Akt), proteína quinase ativada por AMP (AMPK) e acetil - CoA carboxilase (ACC) no músculo esquelético e no fígado de animais obesos e diabéticos, verificou-se que o Jucá, ao ativar essas enzimas, contribuiu significativamente para a redução dos níveis de glicemia e no aumento da captação

de glicose nos tecidos. Tais resultados podem confirmar a atividade anti-hiperglicemiante do jucá (FARESE et al., 2005).

As propriedades terapêuticas do jucá descritas na literatura são indicativas de alto potencial para ser explorado como terapia alternativa no tratamento da obesidade, principalmente por causa de seu efeito anti-hiperglicemiante e por atuação na perda do peso corporal (VASCONCELOS et al., 2011).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar a atividade antiobesidade do extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz em ratos wistar.

3.2 Objetivos Específicos

- Avaliar nos grupos experimentais antes e após o período de tratamento com o extrato:
- Avaliar nos grupos experimentais após o período de tratamento com o extrato:
 - Glicemia de Jejum;
 - Perfil Bioquímico;
 - Perfil Lipídico (colesterol total e frações)
 - Peso relativo da gordura mesentérica do Intestino dos grupos experimentais
 - Peso relativo do fígado e rins
 - Volume do fígado e rins
 - Consumo Alimentar;
 - Evolução Ponderal;
 - Dados Murinométricos (Comprimento Naso-Anal, Medida da Circunferência Torácica, Medida da Circunferência Abdominal; Índice de Massa Corporal – IMC).

4 METODOLOGIA

4.1 Tipo de Estudo

Estudo realizado através do método experimental, prospectivo, comparativo e randomizado em ratos da linhagem wistar.

4.2 Aspectos Éticos da Pesquisa

O presente trabalho foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, recebendo parecer favorável sob protocolo n° 23076.057395/2014-48 (ANEXO 1).

4.3 Local do Estudo

A presente pesquisa foi realizada no Biotério do Departamento de Antibióticos, no Departamento de Nutrição, no Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Farmácia e no Laboratório de Histotecnologia do Programa de Pós-Graduação em Patologia, localizados na Universidade Federal de Pernambuco.

4.4 Modelo Biológico

Para a realização do presente estudo foram utilizados ratos albinos da linhagem wistar (*Rattus norvegicus*) procedentes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco. Para o Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (dose única), foram utilizadas 6 animais fêmeas com 60 dias de vida e para o experimento foram utilizados 30 animais machos com 21 dias de vida. Todos

os animais foram transferidos para o biotério do Departamento de Antibióticos, onde permaneceram durante todo período experimental.

4.5 Dietas

A dieta padrão utilizada no experimento foi a 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 (Tabela 2). Possui em média 23g% de proteína, 49g% de carboidrato e 4,0g% de lipídios, com fornecimento calórico de 4,07kcal/g (Tabela 2)

Tabela 2 - Composição centesimal da ração comercial para ratos e camundongos Presence® utilizada no experimento.

Componentes	Concentrações (g/100%)
Proteína (% kcal VET)	23
Carboidrato (% kcal VET)	49
Lipídeos (% kcal VET)	4,0
Calorias (Kcal/g)	4,07

As informações da composição centesimal da ração comercial para ratos e camundongos de laboratório foram obtidas no rótulo do produto fornecido pela empresa Evalis Presence® Ração Animal, 2014 e são baseadas em recomendações do National Research Council e National Institute of Health – USA.

A ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) consiste numa mistura de alimentos que tem maior teor de lipídeos, açúcar simples e sódio, e tenta mimetizar o consumo populacional de uma dieta ocidental. Essa dieta utiliza 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. Os ingredientes que constituem

a dieta ocidentalizada foram moídos, misturados, levados à estufa para secagem e oferecidos para consumo na forma de pellets . As variedades da dieta ocidentalizada, crescimento e manutenção, foram baseadas em Cavalcante et al (2013). Na fase de crescimento, esta teve seus valores de proteínas em torno de 20g%, 17g% lipídios e 40g% de carboidratos; a dieta de manutenção situou-se em torno de 15% de proteínas, 17% de lipídios e 50% de carboidratos fornecimento médio de 4,0Kcal/g (Tabela 3).

Tabela 3- Dieta hipercalórica – Composição e contribuição calórica dos macronutrientes da dieta ocidentalizada.

Componentes	Crescimento (g%) % - Kcal/g	Manutenção (g%) - % Kcal/g
Proteína	20,0 - 19%	15,0 - 15%
Carboidratos	40,0 - 44%	50,0 - 50%
Lipídios	17,0 - 37%	17,0 - 35%
Calorias (Kcal/g)	4,0	4,0

Fonte: Dieta hipercalórica: CAVALCANTE *et al.*, (2013).

4.6 Material Vegetal

4.6.1 Coleta do Material Vegetal

As amostras do material vegetal constituído dos frutos de *Libidibia ferrea* (Mart. ex Tul.) L. P. Queiroz var. *ferrea* foram coletadas em Limoeiro (PE) e levadas à Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) para identificação botânica.

4.6.2 Preparação do Extrato

O material vegetal seco e moído foi levado ao liquidificador industrial por 20 minutos, com intervalos de 30 segundos cada ciclo extrativo de 5 minutos. Para cada 50 g de jucá, seco e moído, foram empregados 500 ml de água destilada como líquido extrator, na proporção inicial de planta/solvente de 10% (p/v). Após filtração, o extrato foi congelado em freezer -80 °C e liofilizado, obtendo-se assim o extrato bruto liofilizado.

4.7 Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (Dose Única) do Extrato Aquoso dos Frutos de *L. Ferrea* (Eb) (OECD, 2001)

Para avaliar os possíveis efeitos tóxicos do EA foi realizado um teste de toxicidade aguda oral (dose única), sendo utilizados para tal, 6 ratos albinos da linhagem wistar com 60 dias de idade e peso variável entre (180- 200g). Durante todo experimento, os animais foram mantidos em condições padrão de biotério (temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$), recebendo ração e água *ad libitum*, segundo recomendação ética do CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).

A metodologia empregada na execução do teste de toxicidade aguda oral, foi a do guia OECD-423 (OECD, 2001), o qual indica como doses para serem testadas: 5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg e 2000 mg/kg. Sendo utilizados 3 animais por dose. Com base no protocolo proposto pela OECD para substâncias não testadas ou com históricos de toxicidade desconhecida, a dose inicial selecionada é a de 300 mg/kg. A dose seguinte a ser selecionada dependerá da ausência de mortalidade observada nas primeiras 24h de exposição à dose inicial.

Para a realização do ensaio das substâncias testes (EAFLF ou água destilada), os animais foram submetidos a jejum nutricional por 8h (período noturno), sendo mantido acesso livre à água. Após esta etapa, os animais foram pesados individualmente e após os cálculos individuais para determinar as doses, a substância foi administrada nos animais por via intra-gástrica (gavagem) em dose única.

Os animais foram observados após a primeira dose, por cerca de 30 minutos, e periodicamente em 1, 2, 4, 8, 12 e 24 horas, (com atenção especial durante as primeiras 4h), e diariamente depois disso, num total de 14 dias. Os animais foram examinados quanto aos parâmetros: 1. Estado de consciência e disposição (aparência geral, vocalização, irritabilidade), 2. Coordenação (atividade geral, resposta ao toque, resposta ao aperto da cauda, andar contorcido, reflexo de endireitamento), 3. Tônus muscular (tônus das pernas, do corpo, da força para agarrar, ataxia), 4. Reflexos (córnea e coclear), 5. Atividade do sistema nervoso central (tremores, convulsões, salivação, fenômeno de “Straub” (ereção de cauda), sedação, hipnose, anestesia), 6. Atividade do sistema nervoso autônomo (lacrimejamento, ptose, defecar, urinar, piloereção, hipotermia, respiração) e 7. Alterações no peso corporal (ingestão de água e alimentos, produção fecal).

No 15º dia, os animais foram sedados com Dopalen® (45mg/kg), via intramuscular associada com relaxante muscular Anasedan® (7mg/kg), seguido por superdosagem de derivados do ácido barbitúrico como o pentobarbital e o tiopental, utilizados para a eutanásia. Em seguida, foram coletados para análise histológica e morfológica, fígado e rins, os quais foram fixados em formaldeído a 10% tamponado (tampão fosfato-salino -PBS) e processados para inclusão em parafina. Posteriormente, foram realizados cortes histológicos de 5µm de espessura. Para cada amostra de tecido foram confeccionadas laminais histológicas, coradas pelas técnicas

de hematoxilina-eosina (HE). Após este procedimento foi avaliado por microscopia óptica as possíveis alterações histológicas nos órgãos.

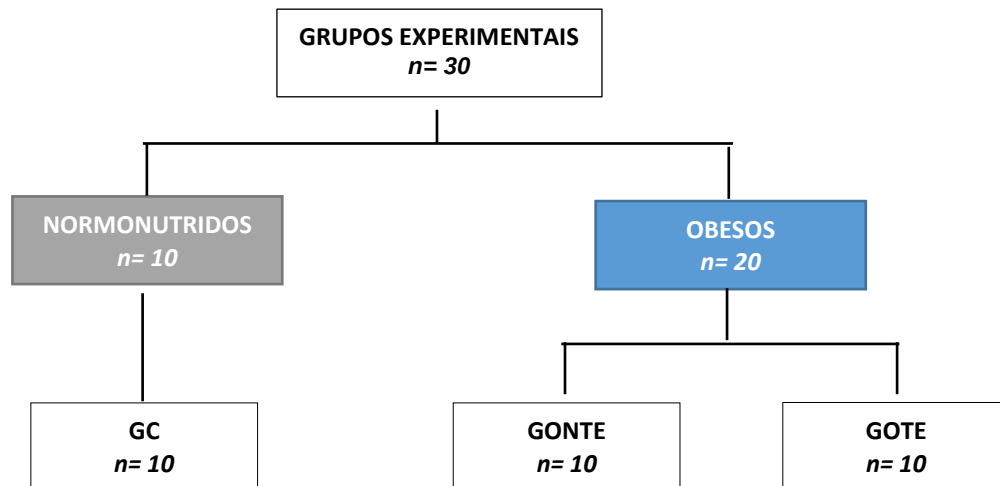
4.8 Tratamento com o Extrato Aquoso dos Frutos de *Libidibia ferrea* em Ratos Obesos

4.8.1 Divisão dos Grupos Experimentais

Os grupos experimentais foram obtidos por 30 filhotes machos, que formaram os seguintes subgrupos:

- a) Grupo Controle **(GC)**: constituído de 10 filhotes que após o desmame foram alimentados com ração padrão de biotério (Presence®) até o final do experimento e foram tratados com EA ao 90º dia até o 120º dia experimental.
- b) Grupo Obeso Não Tratado com Extrato **(GONTE)**: constituído de 10 filhotes que após o desmame foram alimentados com ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) até o final do experimento.
- c) Grupo Obeso Tratado com Extrato **(GOTE)**: constituído de 10 filhotes que após o desmame foram alimentados com ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) até o final do experimento e foram tratados com EA do 90º dia até o 120º dia experimental.

Figura 3 – Organograma demonstrando a formação dos grupos experimentais. **grupo GC** (Grupo controle, recebeu dieta padrão Presence®); **grupo GONTE** (Grupo Obeso Não Tratado com Extrato, recebeu dieta ocidentalizada); **grupo GOTE**: (Grupo Obeso Tratado com Extrato, recebeu dieta ocidentalizada).



4.8.2 Análise da Ingestão Alimentar

A análise da ingestão alimentar foi realizada após o desmame, do 21º ao 89º dias de vida (antes do início do tratamento com Jucá) e do 90º ao 120º dia (após o início do tratamento). Neste período os animais foram alojados em gaiolas individuais e formaram dois grupos experimentais: Grupo Controle (n=10) que receberam ração comercial padrão de biotério Presence®; e Obesos (n=20) que receberam ração hipercalórica (ocidentalizada) (Tabelas 1 e 2). Três dias foram utilizados para a adaptação às gaiolas individuais e à dieta. O consumo alimentar foi obtido a cada 24 horas para cada tipo de dieta oferecida durante cinco dias. Para as medidas da ingestão alimentar foi utilizada balança eletrônica com capacidade para 4 Kg e sensibilidade 0,1g (Marte, modelo S-4000®), onde foi possível conhecer a quantidade de alimento ingerido através do peso do alimento disponibilizado, subtraído do peso do alimento rejeitado.

4.8.3 Análise da Ingestão Alimentar durante o Tratamento com Extrato Aquoso dos Frutos de *Libidibia ferrea*

A análise da ingestão alimentar durante o período do tratamento antiobesidade foi realizada durante trinta dias, do 90° ao 120° dia de experimento. Neste período o grupo GC (n=10) recebeu ração comercial padrão de biotério Presence® e administração diária por via intragástrica (gavagem) de água destilada; o grupo GOTE (n=10) recebeu ração hipercalórica e administração diária por gavagem do EAFLF e o grupo GONTE (n=10) recebeu ração hipercalórica e administração diária, também por gavagem, de água destilada. Os animais receberam água *ad libidum*. O alimento foi removido e pesado para obtenção do consumo por diferença entre a quantidade oferecida e a rejeitada.

4.8.4 Análise da Evolução Ponderal

O peso corporal dos animais foi coletado a partir do 21° dia pós-natal, três vezes por semana até o 120° dia do experimento. Para mensuração do peso, foi utilizada balança eletrônica com capacidade para 4 Kg e sensibilidade 0,1g (Marte, modelo S-4000®).

4.8.5 Coleta de Amostras para Análise Bioquímica

Após o fim do tratamento com o extrato, aos 121° dia de experimento, os animais foram submetidos a um jejum de 8h e anestesiados com Dopalen® (45mg/kg), via intramuscular em membro inferior associada com relaxante muscular Anasedan® (7mg/kg). Após constatação de arreflexia profunda, foi realizada a coleta de amostra de sangue por punção cardíaca.

O sangue foi acondicionado em tubos Vacutainer® sem anticoagulante, para obtenção do soro para avaliação dos parâmetros bioquímicos.

4.8.6 Análise do Perfil Bioquímico

Foram realizados exames bioquímicos após a eutanásia, com dosagem no soro de: Glicemia, ureia, TGO, TGP, creatinina, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, LDL e VLDL. Esses exames foram realizados no laboratório Central do Hospital das Clínicas, através do aparelho *AU680 Chemistry Analyzer*, analisador de dosagens bioquímicas que utiliza sistema analítico químico totalmente automatizado. As amostras de sangue foram suficientes para todos os exames preconizados.

4.8.7 Peso e Volume dos Órgãos e da Gordura Mesentérica

Após a eutanásia, o fígado, o rim e a gordura mesentérica foram coletados e pesados. A partir da pesagem dos órgãos foi realizado o cálculo da massa relativa dos órgãos de cada animal dividindo-se o peso de cada órgão (g) pelo peso corporal de cada animal no dia da coleta multiplicando o resultado por 100. Tendo assim um resultado expresso em g/100 g de peso vivo (g/100g p.v.) (Cunha *et al.* 2013).

Para obtenção dos volumes dos órgãos foi utilizado o 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: $V = \sum P \times (a / p) \times t$. 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).

4.9 Métodos de Análise

Os dados foram registrados em planilhas do Excel para análise dos dados paramétricos: média e desvio padrão. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov Smirnov. Com a finalidade de verificar diferenças nos valores médios e entre os grupos, foi utilizado o teste estatístico, segundo efeito dos fatores testados, *One way* ou *Two-Way* e medidas repetitivas (ANOVA RM), complementado pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni. O teste t de student pareado foi realizado para verificar diferenças quando cada grupo era controle de si próprio. Utilizado o programa estatístico Graphpad Prism® v.5.0.1. Todos os resultados foram considerados significantes com $p < 0,05$.

5 AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE ANTI-OBESIDADE DO EXTRATO AQUOSO DOS FRUTOS DE *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz EM RATOS WISTAR

Cleidiane Silva Vieira de Souza¹, Silvana Tavares Paes², Ivone Antônia de Souza³, Luiz Alberto Soares⁴, Manuela Figueiroa Lyra de Freitas⁵.

¹Bióloga, Mestranda em Patologia, Pospat - UFPE

²Bióloga, Mestranda em Patologia, Técnica em Histologia, Pospat – UFPE

³Farmacêutica, Doutora em Ciências Farmacêuticas, Professora Associada Depto de Farmácia – UFPE

⁴Farmacêutico, Doutor em Ciências Farmacêuticas, Professor Associado do Depto de Farmácia - UFPE

⁵Médica Veterinária, Doutora em Nutrição, Professora Adjunta Depto de Anatomia – UFPE

Resumo

Libidibia ferrea, conhecida popularmente como “jucá” ou “pau ferro” 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, anti-hipertensiva e anti-inflamatória. O presente estudo teve como objetivo avaliar a atividade antiobesidade do extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz em ratos wistar. Foram utilizados 30 ratos machos, os quais foram divididos em 3 grupos: Grupo Controle (GC), Grupo Obeso Tratado com Extrato (GOTE) e Grupo Obeso Não Tratado com Extrato (GONTE). A obesidade nos grupos GOTE e GONTE foi induzida através de dieta hipercalórica, oferecida aos animais a partir do 21º dia de vida (desmame) até o 120º dia de experimento (final do período experimental) e o GC recebeu ração comercial da marca Presence® durante o mesmo período de tempo. Através do ensaio de toxicidade aguda oral utilizando a metodologia da OECD (OECD 423), foi possível determinar a dose a ser utilizada no experimento. O tratamento crônico com o extrato aquoso dos frutos de jucá foi realizado durante 30 dias consecutivos por via intragástrica (gavagem) utilizando a dose de 2000mg/Kg, a qual foi administrada uma vez por dia, a partir do 90º até o 120º

dia de experimento. Após o término do tratamento, os animais foram anestesiados e passaram pelo procedimento de coleta de sangue para posterior análise bioquímica. Em seguida, foram submetidos à perfusão e à eutanásia. Após esse processo, fígados e rins foram coletados para a realização da análise histológica. A análise comparativa mostrou que os ratos obesos tratados com extrato de jucá, não apresentaram redução significativa de peso corporal, nem das circunferências torácica e abdominal. Também não foram observadas atividades anti-hiperlipemiante e anti-hiperglicêmica, bem como, não houve alteração dos níveis séricos de glicose, triglicerídeos, de colesterol e suas frações. O extrato aquoso de jucá promoveu redução da gordura mesentérica e a manutenção do volume dos tecidos renal e hepático de ratos wistar obesos, porém, são necessários estudos complementares para uma melhor compreensão e elucidação de sua ação no tratamento da obesidade.

Palavras-chave: Obesidade. Dieta Ocidental. Plantas Medicinais.

Abstract

Libidibia ferrea popularly known as "jucá" or "pau ferro" has been used in the treatment of various diseases that can be caused by obesity, due to its therapeutic properties, especially anti-hyperglycemic, antihypertensive and anti-inflammatory activities. The present study had as objective to evaluate the antiobesity activity of the aqueous extract of the fruits of *Libidibia ferrea* (Mart.) L.P. Queiroz in wistar rats. Thirty male rats were used, which were divided into three groups: Control Group (CG), Obese Group Treated with Extract (OGTE) and Obese Group Not Treated with Extract (OGNTE). Obesity in the OGTE and OGNTE groups was induced through a hypercaloric diet, offered to the animals from the 21st day of life (weaning) until the 120th day of the experiment (end of the experimental period) and the CG received

commercial feed of brand Presence® during the same period of time. Through the oral acute toxicity test using the OECD methodology (OECD 423), it was possible to determine the dose to be used in the experiment. The chronic treatment with the aqueous extract of jucá fruits was carried out during 30 consecutive days by the intragastric mode (gavage) using the dose of 2000mg / kg, which was administered once a day, from 90th to 120th day of experiment. After the end of the treatment, the animals were anesthetized and after they passed through the blood collection procedure for later biochemical analysis. Then they were submitted to perfusion and euthanasia. After this process, their livers and kidneys were collected for histological analysis. The comparative analysis showed that obese rats treated with jucá extract did not present significant reduction of body weight, nor of the thoracic and abdominal circumferences. Also, no antihyperlipidemic and antihyperglycemic activities were observed, as well as, there was no alteration of the serum levels of glucose, triglycerides, cholesterol and their fractions. The aqueous extract of jucá promoted reduction of mesenteric fat and maintenance of renal and hepatic tissue volumes of obese wistar rats, however, complementary studies are needed to better understand and elucidate their action in the treatment of obesity.

Keywords: Obesity. Diet, Western. Plants, Medicinal.

Introdução

A obesidade é uma condição multifatorial que pode ser caracterizada pelo desequilíbrio entre a quantidade de energia ingerida e a energia dissipada. O resultado desse desequilíbrio leva à estocagem de gordura sob a forma de tecido adiposo (LAMARÃO; FIALHO, 2009).

Excesso de peso e obesidade são termos que podem ser confundidos em sua etiologia, porém, diferem quanto ao grau de gordura corporal acumulada. A Organização Mundial de Saúde (OMS) utiliza o Índice de Massa Corporal (IMC) para medir o nível do acúmulo de gordura corpórea e indicar se o indivíduo encontra-se ou não, dentro do peso considerado saudável. O IMC ideal encontra-se entre 18,5 e 25 kg/m²; o excesso de peso corresponde ao IMC entre 25 e 30 kg/m² e a obesidade equivale a um IMC = 30 Kg/m² (OMS, 2012).

Pesquisas realizadas pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE) constataram que o excesso de peso dos brasileiros vem aumentando nos últimos anos. Entre os anos de 1974 a 2009, o nível de excesso de peso em homens adultos aumentou de 18,5% para 50,1%, e em mulheres, esse número foi de 28,7% para 48%; o grau de obesidade em homens aumentou de 2,8% para 12,4% e em mulheres, de 8% para 16,9%, dentro do mesmo período de tempo (IBGE, 2010).

Alguns indivíduos com obesidade utilizaram a medicina alternativa com o objetivo de emagrecer e/ou reduzir efeitos das doenças ocasionadas por essas condições. Essa busca por meios alternativos pode ser explicada pelo fato de que boa parte dos fármacos antiobesidade está associada com reações adversas, logo, esses indivíduos recorrem ao uso de plantas medicinais, porque estas, apresentam, geralmente, poucos efeitos indesejáveis comparados aos dos fármacos utilizados no tratamento da obesidade (WON, 2010).

De acordo com seus mecanismos de atuação, produtos naturais que atuam em tratamentos antiobesidade, encontram-se organizados nas seguintes categorias: diminuição da lipogênese e aumento da lipólise, aumento do gasto da absorção energética, diminuição da absorção de lipídeos, diminuição na absorção de

carboidratos, diminuição da diferenciação e proliferação de pré-adipócitos (WON, 2010).

Libidibia Ferrea (Mart. Ex Tul) L.P. Queiroz cujo nome vulgar encontra-se registrado como 'jucá ou 'pau-ferro' é uma árvore leguminosa nativa do Brasil, com ampla distribuição, encontrada principalmente nas regiões Norte e Nordeste, (LORENZI, 2002). A composição química das cascas, folhas e frutos, é composta de flavonoides, saponinas, taninos, cumarinas, esteroides e compostos fenólicos (GONZALEZ et al, 2004; VASCONCELOS et al, 2011).

Entre as suas propriedades terapêuticas descritas estão: atividade antiulcerogênica e anti-inflamatória (BACCHI; SERTIE, 1994); propriedades analgésicas de extratos dos frutos e caule da planta (THOMAS et al, 1988); atividade antimicrobiana in vitro do extrato e de frações obtidas a partir de caules da planta (FRASSON, 2002); no tratamento de ferimentos e contusões, bem como alívio de tosse crônica e asma (HASHIMOTO, 1996); ação antibacteriana (SOUZA et al, 2011); utilização dos frutos no tratamento de diabetes e prevenção do câncer .(NAKAMURA et al, 2002); antidiarreicos (MAIA,2004). As raízes do Jucá são utilizadas como antipiréticas; efeito cicatrizante (PIO CÔRREA, 1984; LEWIS, 1987; SOARES et al, 2003; MAIA, 2004; OLIVEIRA et al, 2011); os frutos e cascas do tronco são utilizados como agentes anti-hiperglicemiantes (VASCONCELOS et al, 2011).

Devido a essa variedade de propriedades, o Jucá tem sido explorado como uma possível alternativa no tratamento de obesidade, principalmente por causa do seu efeito anti-hiperglicemiante (VASCONCELOS et al, 2011), bem como, devido as propriedades biológicas desempenhadas por seus compostos químicos, como atividades hepatoestimulante, antibacteriana, antiviral, anti-inflamatório, antioxidante,

hipocolesterolêmica, analgésico tópico e hepatoprotetor (CARVALHO et al. 2003), tornando-se uma alternativa viável no futuro, para o desenvolvimento de produtos fitoterápicos que auxiliem no controle da obesidade e doenças associadas.

Metodologia

Animais Experimentais

Foram utilizados para a pesquisa 30 ratos machos e 12 fêmeas da linhagem Wistar procedentes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da UFPE (CONCEA), obedecendo às normas de manuseio e cuidado com os animais. Este trabalho foi submetido à Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, recebendo parecer favorável sob protocolo nº 23076.057395/2014-48 (ANEXO 1).

Dieta dos Animais

A dieta padrão utilizada consistiu de ração comercial desenvolvida para ratos de laboratório da marca Presence®, composta de: farelo de trigo, farelo de milho, farelo de soja, carbono de cálcio, fosfato, bicálcio, cloreto de sódio, aminoácido e premix mineral vitamínico.

A ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) consiste numa mistura de alimentos que tem maior teor de lipídeos, açúcar simples e sódio, e tenta mimetizar o consumo populacional de uma dieta ocidental. Os ingredientes que constituem a dieta ocidentalizada foram moídos, misturados e oferecidos para consumo na forma de pellets.

Material Vegetal

As amostras do jucá foram coletadas em Limoeiro (PE) e levadas a empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) para identificação. O extrato bruto dos frutos de *Libidibia ferrea* foi obtido através do método de turbólise, no qual o material seco foi moído com o auxílio de um almofariz, pesado, levado ao liquidificador industrial e misturado com água destilada. Esse processo durou 20 minutos, com intervalos de 30 segundos para cada ciclo extrativo de 5 minutos. Para cada 50g de droga vegetal, seca e moída, foram empregados 500 ml de água destilada como líquido extrator, na porção inicial de planta/solvente de 10%. Após esse processo, o material foi filtrado utilizando-se bomba a vácuo e em seguida o material foi levado ao freezer – 80°C. Após 3 dias o material congelado foi levado ao liofilizador, obtendo-se assim o extrato bruto liofilizado (EB). O extrato bruto foi processado e obtido no Laboratório de Farmacognosia do Departamento de Farmácia da UFPE.

Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (Dose Única) do Extrato Aquoso dos Frutos de *Libidibia ferrea*

Para avaliar os possíveis efeitos tóxicos do extrato aquoso (EA) foram realizados testes de toxicidade aguda oral (dose única). Para este teste foram utilizados 3 ratos albinos da linhagem wistar com 60 dias de idade e peso variável entre (180- 200g), adotando-se a metodologia preconizada pelo guia para testes de químicos da OECD-423 (OECD, 2001), que determina as doses a serem utilizadas no estudo (5 mg/kg, 50 mg/kg, 300 mg/kg ou 2000 mg/kg) e o número de animais por dose (três ratos).

Para realização do teste, os animais foram submetidos a jejum nutricional por 8h (período noturno), sendo mantido acesso livre a água. Após esta etapa, os ratos foram pesados individualmente e após os cálculos para determinar as doses, o extrato

aquoso do fruto de *Libidibia ferrea* foi diluído em água destilada para ser administrado via oral (intra-gástrica) com o auxílio de uma agulha de gavagem curva para ratos em dose única. Os animais foram observados após a administração do extrato, por cerca de 1 hora e periodicamente em 2, 4, 8, 12 e 24 horas, (com atenção especial durante as primeiras 4h), e diariamente depois disso, num total de 15 dias.

Na primeira hora do ensaio foi realizada uma triagem farmacológica, ou também conhecida como teste de Irwin ou teste hipocrático, através de observações comportamentais sistemáticas, e teve a finalidade de fornecer uma estimativa geral da toxicidade aguda de 2000mg/Kg de peso sobre o estado geral, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos, atividades sobre o SNC e sistema nervoso autônomo de ratos wistar adultos (CUNHA, *et al.* 2009).

Os animais foram examinados quanto aos parâmetros: (1) Estado de consciência e disposição (aparência geral, vocalização, irritabilidade), (2) Coordenação (atividade geral, resposta ao toque, resposta ao aperto da cauda, andar contorcido, reflexo de endireitamento), (3) Tônus muscular (tônus das pernas, do corpo, da força para agarrar, ataxia), (4) Reflexos (córnea e coclear), (5) Atividade do sistema nervoso central (tremores, convulsões, salivação, sedação, hipnose, anestesia), (6) Atividade do sistema nervoso autônomo (lacrimejamento, ptose, defecar, urinar, piloereção, hipotermia, respiração) e (7) Alterações no peso corporal (ingestão de água e alimentos, produção fecal). A quantificação dos efeitos foi apresentada, como: (-) sem efeito (+) efeito diminuído; (++) efeito moderado (+++) efeito intenso.

No 15º dia, os animais foram anestesiados com xilazina (50mg/kg) e ketamina (25mg/Kg) por via intramuscular e em seguida foram eutanasiados por decapitação com o auxílio de guilhotina.

Tratamento Crônico com Extrato Aquoso dos Frutos de *Libidibia ferrea* em Ratos Wistar Obesos

Os grupos experimentais foram obtidos por 30 filhotes machos que formaram 3 grupos: Grupo Controle (GC) constituído de 10 filhotes que após o desmame foram alimentados com ração padrão de biotério (Presence®) até o final do experimento e foram tratados com água destilada ao 90º dia até o 120º dia experimental; Grupo Obeso Não Tratado com Extrato (GONTE), constituído de 10 filhotes que após o desmame foram alimentados com ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) até o final do experimento e foram tratados com água destilada ao 90º dia até o 120º dia experimental; Grupo Obeso Tratado com Extrato (GOTE) constituído de 10 filhotes, que após o desmame foram alimentados com ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) até o final do experimento e foram tratados com EAFLF ao 90º dia até o 120º dia experimental.

Análise do Consumo Alimentar

A mensuração do consumo alimentar foi iniciada três vezes por semana, logo após o desmame até o final do experimento. Neste período o grupo GC (n=10) recebeu ração comercial padrão de biotério Presence®; o grupo GOTE (n=10) recebeu ração hipercalórica (dieta ocidentalizada) e o grupo GONTE (n=10) recebeu ração hipercalórica (dieta ocidentalizada). O alimento foi removido e pesado para obtenção do consumo por diferença entre a quantidade oferecida e a rejeitada. Todos os animais receberam água *ad libitum*.

Evolução Ponderal dos Animais

O peso corporal dos animais foi coletado a partir do 21º dia pós-natal, três vezes por semana até o 120º dia do experimento. Para mensuração do peso, foi utilizada balança eletrônica com capacidade para 4 Kg e sensibilidade 0,1g (Marte, modelo S-4000®).

Comprimento Naso-Anal, Perímetros Abdominal e Torácico e Índice de Massa Corporal (IMC)

As medidas de comprimento naso-anal, perímetros abdominal e torácico foram mensuradas com auxílio de fita métrica, antes do início do tratamento e após o término do mesmo (no 90º e no 121º dias de experimento). Para obtenção do índice de massa corporal (IMC) foi utilizado o Índice de Lee, o qual corresponde à razão da raiz cúbica do peso corporal (em gramas) sobre o CNA (em centímetros), multiplicados por 1000.

Análise Bioquímica

As análises bioquímicas foram realizadas em amostras séricas, onde o soro foi obtido por centrifugação do sangue em microtubos contendo acelerador de coagulação e sem anticoagulantes, a 3500 rpm por 5 minutos. Foram utilizados para as avaliações espectrofotométricas dos seguintes parâmetros bioquímicos: Glicemia, ureia, TGO, TGP, creatinina, triglicerídeos, colesterol total, colesterol HDL, LDL e VLDL. Esses exames foram realizados no laboratório Central do Hospital das Clínicas-UFPE, através do aparelho *AU680 Chemistry Analyzer*, analisador de dosagens bioquímicas que utiliza sistema analítico químico totalmente automatizado.

Peso e Volume dos Órgãos e da Gordura Mesentérica

Após a eutanásia, o fígado, o rim e a gordura mesentérica foram coletados e pesados. A partir da pesagem dos órgãos foi realizado o cálculo da massa relativa dos órgãos de cada animal dividindo-se o peso de cada órgão (g) pelo peso corporal de cada animal no dia da coleta multiplicando o resultado por 100. Tendo assim um resultado expresso em g/100 g de peso vivo (g/100g p.v.) (Cunha *et al.* 2013).

Para obtenção dos volumes dos órgãos foi utilizado o 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: $V = \sum P \times (a / p) \times t$. 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).

Análise do Perfil Histológico

Esta análise teve como objetivo avaliar o padrão histológico dos órgãos dos ratos submetidos ao Ensaio de Toxicidade Aguda Oral. Para tal, fígado e rins foram coletados e processados, com posterior confecção de lâminas histológicas, as quais foram analisadas por microscopia óptica possibilitando a verificação de alterações e/ou danos histológicos nos referidos tecidos.

Massa Relativa dos Órgãos

Após o processo de eutanásia dos animais, os órgãos (rins e fígado) foram retirados e pesados. Em seguida foi realizado o cálculo da massa relativa dos órgãos de cada animal dividindo-se o peso de cada órgão (g) pelo peso corporal de cada

animal no dia da coleta (14^o dia), e multiplicando-se o resultado por 100. Tendo assim um resultado expresso em g/100 g de peso vivo (g/100g p.v.) (Cunha *et al.* 2013).

Análise Estatística

Os dados foram registrados em planilhas do Excel para análise dos dados paramétricos: média e desvio padrão. A normalidade dos dados foi avaliada pelo teste de Kolmogorov Smirnov. Com a finalidade de verificar diferenças nos valores médios e entre os grupos, foi utilizado o teste estatístico, segundo efeito dos fatores testados, *One way* ou *Two-Way* e medidas repetitivas (ANOVA), complementado pelo teste de comparação múltipla de Bonferroni. Esses testes foram realizados através do programa estatístico Graphpad Prism® v.5.0.1. Todos os resultados foram considerados significantes com $p < 0,05$.

Resultados

Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (dose única)

Antes de iniciar o tratamento do grupo experimental com o EAFLF, foi necessário realizar um Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (dose única de 2000mg/Kg) para averiguar os possíveis efeitos tóxicos ocasionados pelo extrato, bem como, para obtenção da dose utilizada no experimento. A dose única do EAFLF foi administrada em três ratas (R1, R2 e R3) que ficaram em observação, inicialmente por 1h, para análise de possíveis sinais clínicos, e depois por mais 13 dias, onde foi possível avaliar a variação no consumo alimentar e no peso corporal. Os efeitos farmacológicos apresentados pelos 3 animais estão dispostos no quadro 1.

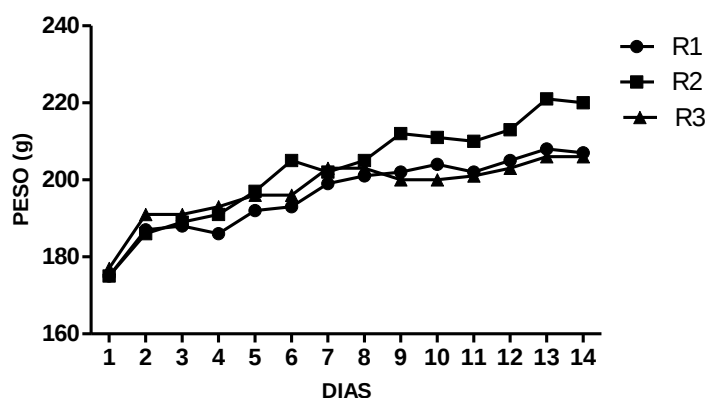
Quadro 1. Principais reações comportamentais relacionadas à dose administrada (2000mg/Kg) do EAFLF na avaliação da toxicidade aguda por via oral (VO) em 3 ratos wistar fêmeas adultas.

ATIVIDADE FARMACOLÓGICA	QUANTIFICAÇÃO DOS EFEITOS (+) Efeito moderado, (++) Efeito Intenso, (+++) Efeito Muito Intenso					
	R1		R2		R3	
	Até 30 min	Até 1h	Até 30 min	Até 1h	Até 30 min	Até 1h
1. Piloereção	+	-	+	+	+	-
2. Movimento de Vibrissas	+	-	+++	-	-	-
3. Palidez	++	-	+	-	++	-
4. Movimento Circular	-	-	+	+	-	-
5. Tremores Finos	-	-	+	-	-	-
6. Resposta ao Toque Diminuído	+	-	+	++	-	-
7. Ereção de Cauda	-	-	+	-	-	++
8. Sonolência	+++	++	-	+	-	-
9. Escalar (Comportam. de Fuga)	+++	+	++	++	++	+
10. Estereotipia	+	+	+++	+++	+++	++
11. Movimento do Pavilhão Auricular	-	-	-	+	-	+
12. Refluxo	+	-	+++	+	+++	+
13. Exoftalmia	-	+	++	-	+	+
14. Postura Estática	-	+	+	+	++	++
15. Lacrimejamento	-	-	+	-	+	-
16. Autolimpeza	-	-	+	-	-	-
17. Abdução das Patas Posteriores	-	-	+	-	-	-
18. Hiperatividade	-	-	-	-	++	-
19. Agressividade	-	-	+	++	-	-
20. Levantar	-	-	-	++	-	-
21. Fotofobia	++	++	-	-	-	-
22. Ptose Palpebral	++	++	-	-	-	-
23. Prostração	-	-	-	-	-	-
24. Micção	+	-	-	-	-	-
25. Ondulação de Cauda	-	-	-	-	-	++
26. Aumento do Reflexo	-	-	-	-	-	+
27. Cianose	-	-	-	-	+	-
28. Postura de Ataque	-	-	-	-	++	++
29. Espasmo	-	-	-	-	++	-
30. Postura em Garra	-	-	-	-	+++	+

Apesar das atividades individuais apresentadas, quando foi analisada a média de cada animal, observou-se que os efeitos sobre seu comportamento não foram significantes, tendo-se em vista que nenhum dos animais veio a óbito nas primeiras 24 horas do ensaio, o que possibilitou determinar que a dose testada no ensaio (2000mg/Kg) fosse igualmente utilizada no tratamento de obesidade dos grupos experimentais.

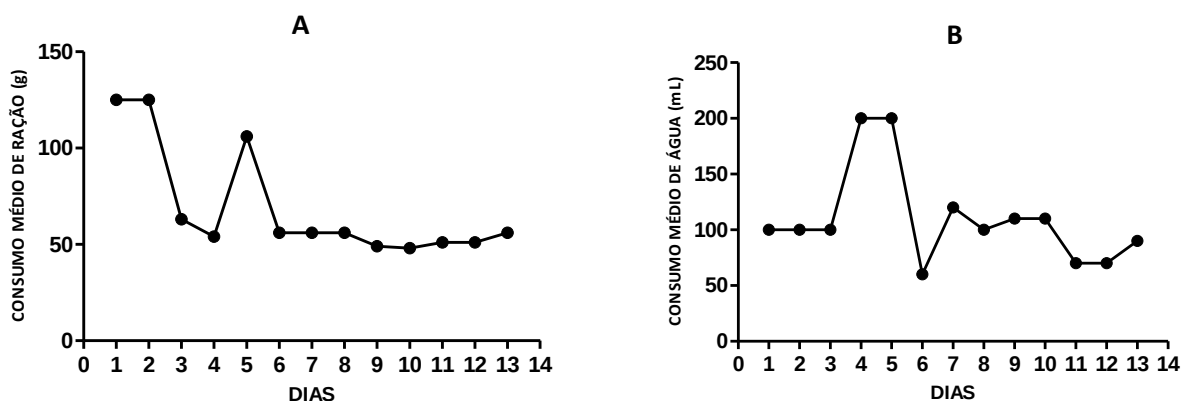
O acompanhamento da evolução ponderal e do consumo alimentar foi realizado diariamente. Após 14 dias da aplicação de 2000mg/Kg da solução por via oral (VO), o animal R1 apresentou ganho de peso ponderal de 32g (16,2% de aumento), o R2 aumentou 45g (22,2%) e o R3, 29g (14,6%). Apesar da variação no ganho de peso do 1º ao 14º dia, o EAFLF não alterou de forma significativa a massa corpórea dos animais após 14 dias da aplicação em dose única da solução, conforme demonstrado no gráfico 1.

Gráfico 1– Evolução ponderal durante 14 dias após aplicação da solução do EAFLF em 3 animais (R1, R2, R3) submetidos ao Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (dose única) por via oral. Valores expressos como média $\pm$ erro padrão. g = grama. Não houve diferença significativa no ganho de peso corporal ($p < 0,05$).



Durante os 14 dias após aplicação em dose única da solução do EAFLF, verificou-se que houve uma maior irregularidade na ingestão de ração pelos animais nos primeiros 6 dias ($88,16 \pm 34,25$), do 7º ao 14º dia, a ingestão tornou-se regular. Os animais ingeriram uma maior quantidade de ração no 5º dia e de água entre o 4º e 5º dias (Gráfico 2).

Gráfico 2– Consumo de ração (A) e de água (B) durante 14 dias após aplicação da solução do EAFLF em 3 animais (R1, R2, R3) submetidos ao Ensaio de Toxicidade Aguda Oral (dose única) por via oral.



No 15º dia, os animais foram anestesiados com xilazina (50mg/kg) e ketamina (25mg/Kg) por via intramuscular e em seguida foram submetidos à eutanásia por decapitação com o auxílio de guilhotina. Após a eutanásia, foram coletados fígado e rins para posterior análise histológica.

Os resultados histológicos mostraram algumas alterações nos rins e fígados coletados após a eutanásia.

Os resultados das análises histológicas revelaram que os 3 animais apresentaram no fígado: congestão vascular (Figura 1), presença de linfócitos (Figura 2) e intensa picnose nuclear (Figura 3). Foram encontrados ainda, neutrófilos no tecido hepático do animal R3 (Figura 4). A presença constante de picnose nos 3 animais pode indicar morte celular, porém, como não foram constatadas inflamações adjacentes nem extravasamento de enzimas para o meio extracelular, acredita-se que tenha ocorrido morte por apoptose, podendo ser um indicativo de regeneração.

A análise histológica dos rins revelou alterações apenas no animal R3, onde foram constatadas áreas de congestão tubular, sinais de hemorragia (Figuras 5 e 6), presença de uma grande quantidade de linfócitos (Figura 7) e picnose nuclear nos túbulos renais (Figura 8). Os glomérulos renais não apresentaram alterações (Figura 9).

Figura 1– Fígado com congestão vascular (seta).Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado corado com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral.

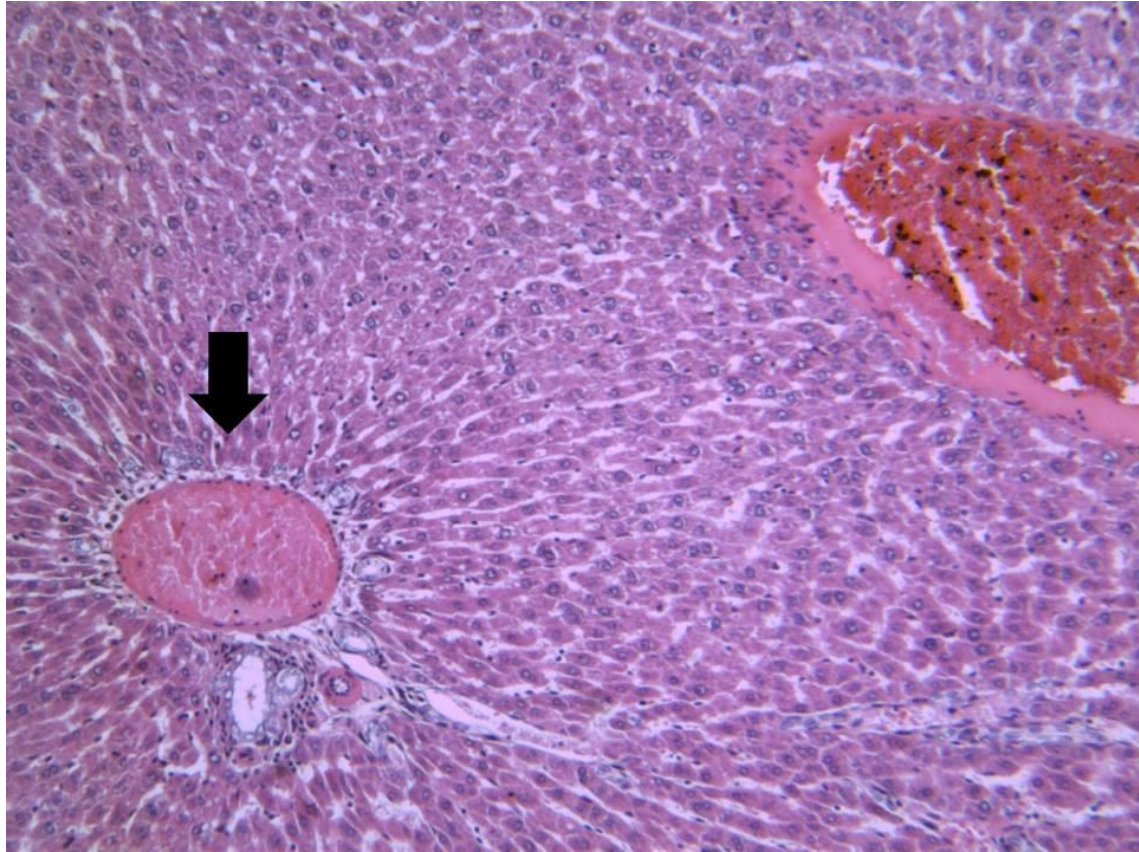


Figura 2– Presença de linfócitos (setas).Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado corado com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral.

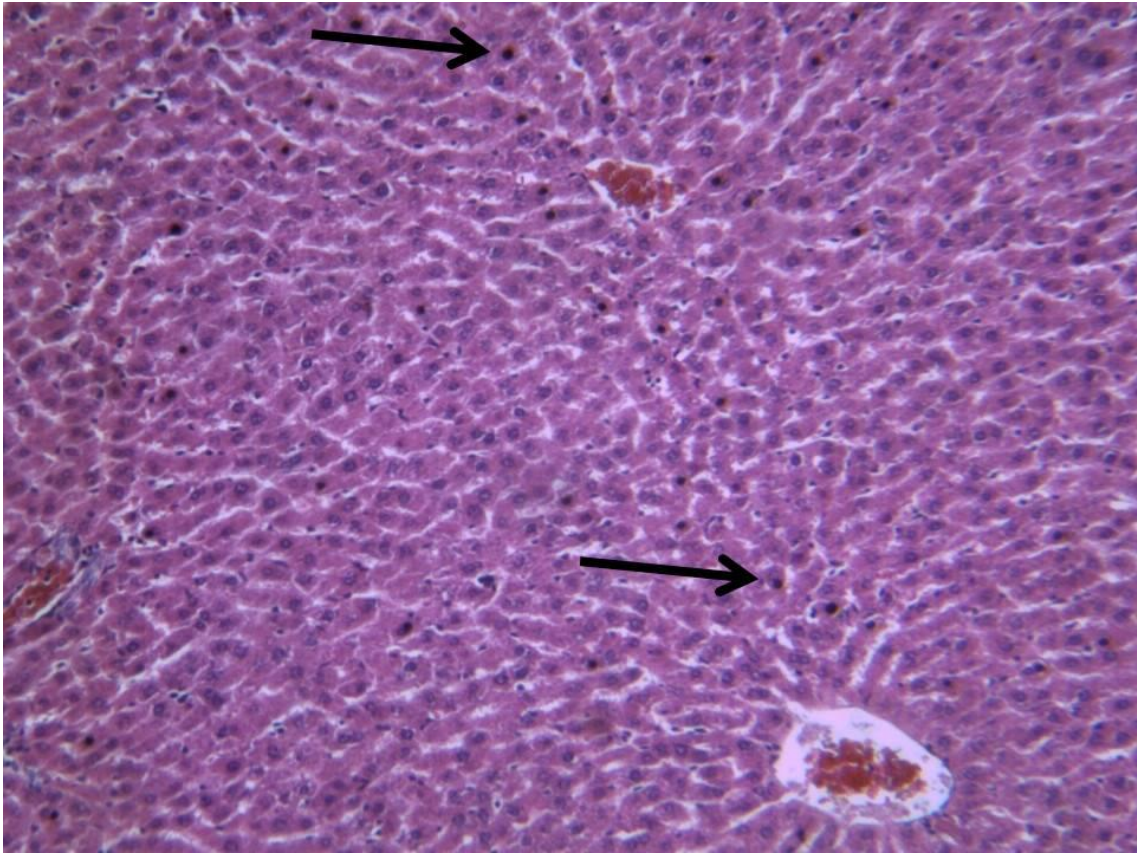


Figura 3— Intensa picnose nuclear (seta). Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado corado com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral.

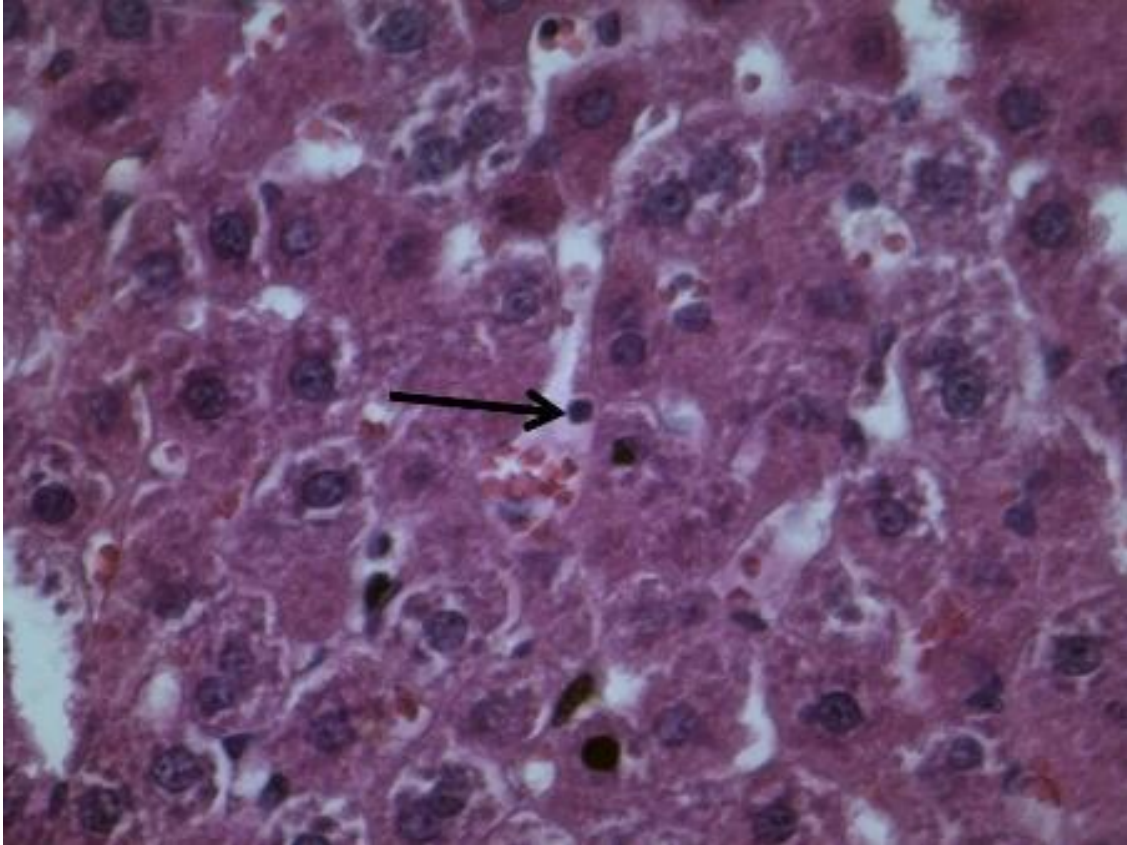


Figura 4– Presença de neutrófilos no animal R3 (setas). Fotomicrografia da lâmina histológica de fígado corado com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral.

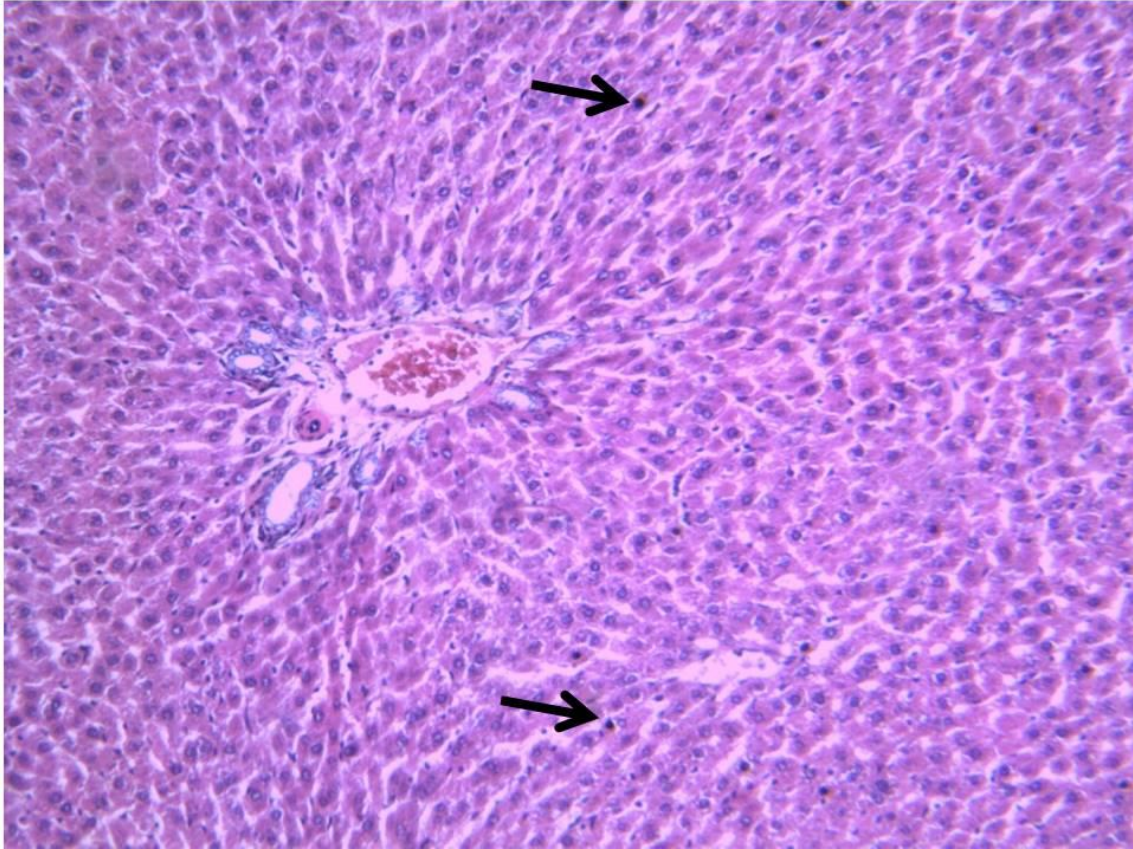


Figura 5– Áreas de congestão tubular, com indícios de hemorragia (seta). Fotomicrografias de lâmina histológica de rins corados com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral com EAFLF na dose de 2000mg/Kg.

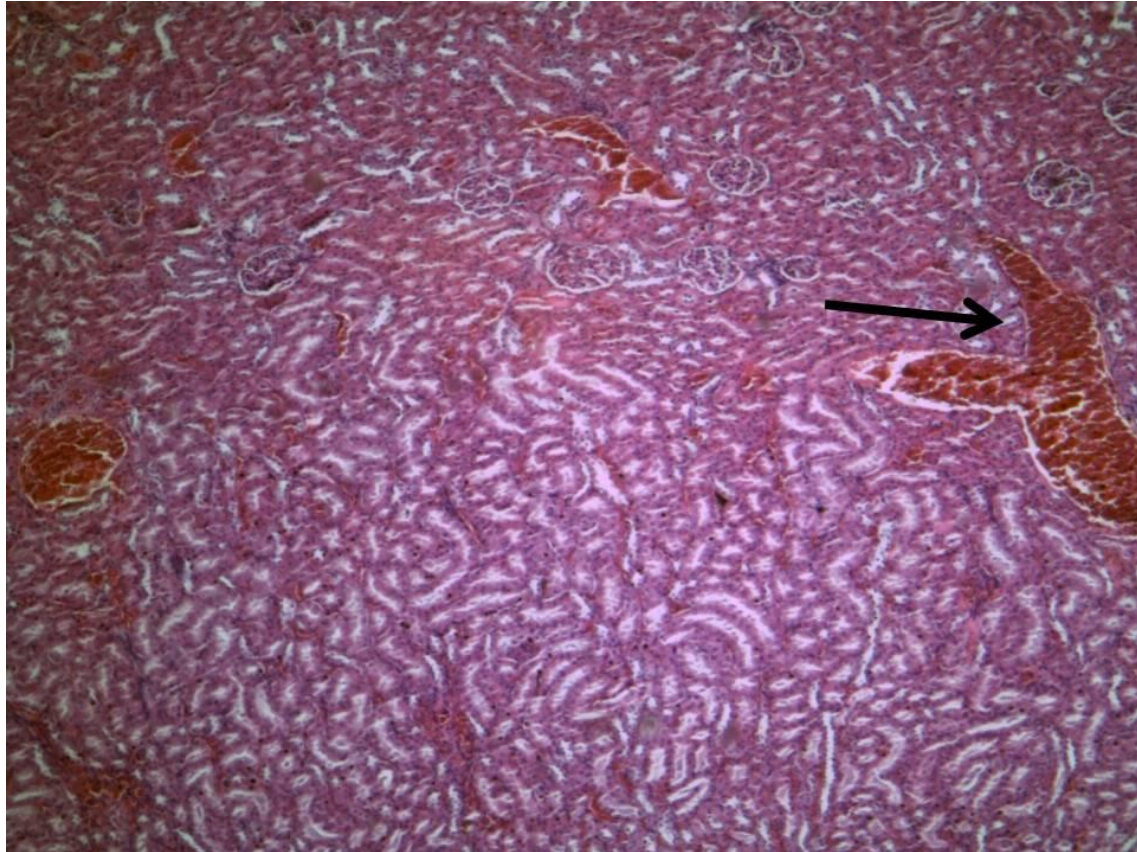


Figura 6– Áreas de congestão tubular, com indícios de hemorragia (seta). Fotomicrografias de lâmina histológica de rins corados com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral com EAFLF na dose de 2000mg/Kg.

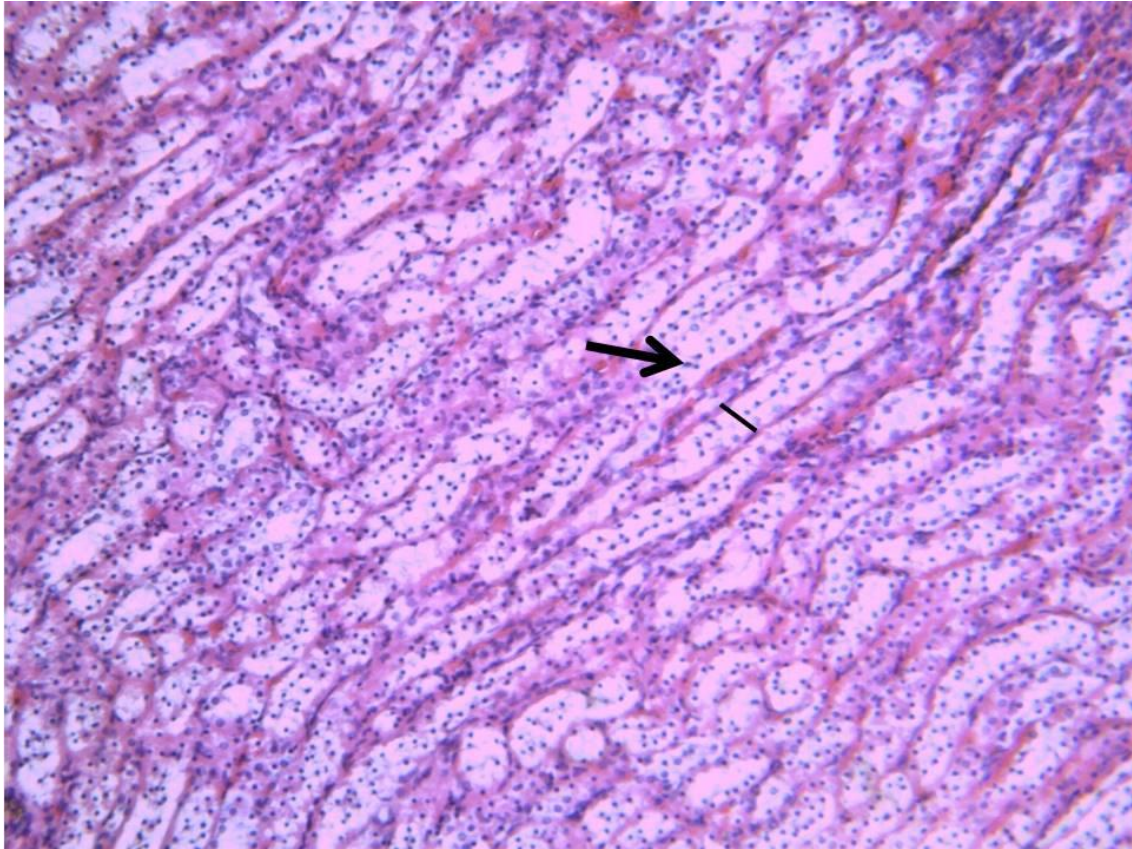


Figura 7– Presença de grande quantidade de linfócitos nos túbulos renais e de picnose nuclear (seta). Fotomicrografias de lâmina histológica de rins corados com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral com EAFLF na dose de 2000mg/Kg.

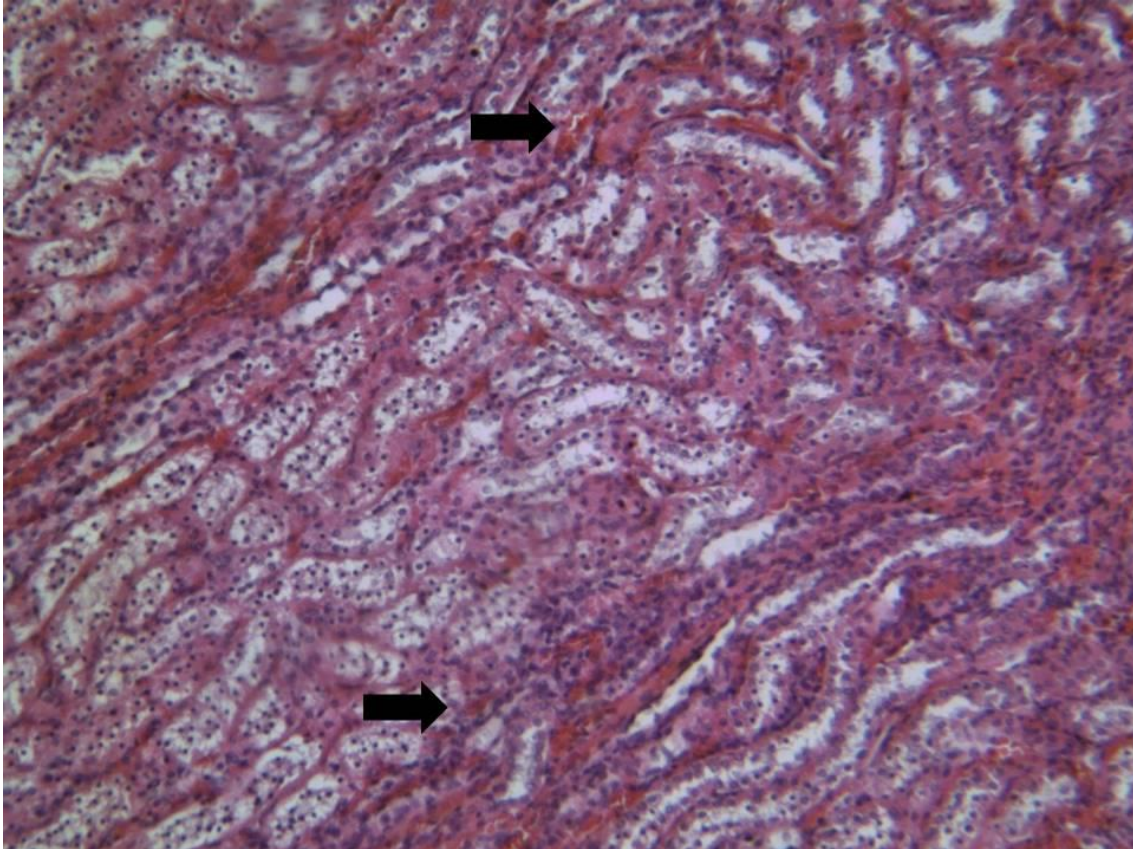


Figura 8— Presença de picnose nuclear nos túbulos renais (seta). Fotomicrografias de lâmina histológica de rins corados com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral com EAFLF na dose de 2000mg/Kg.

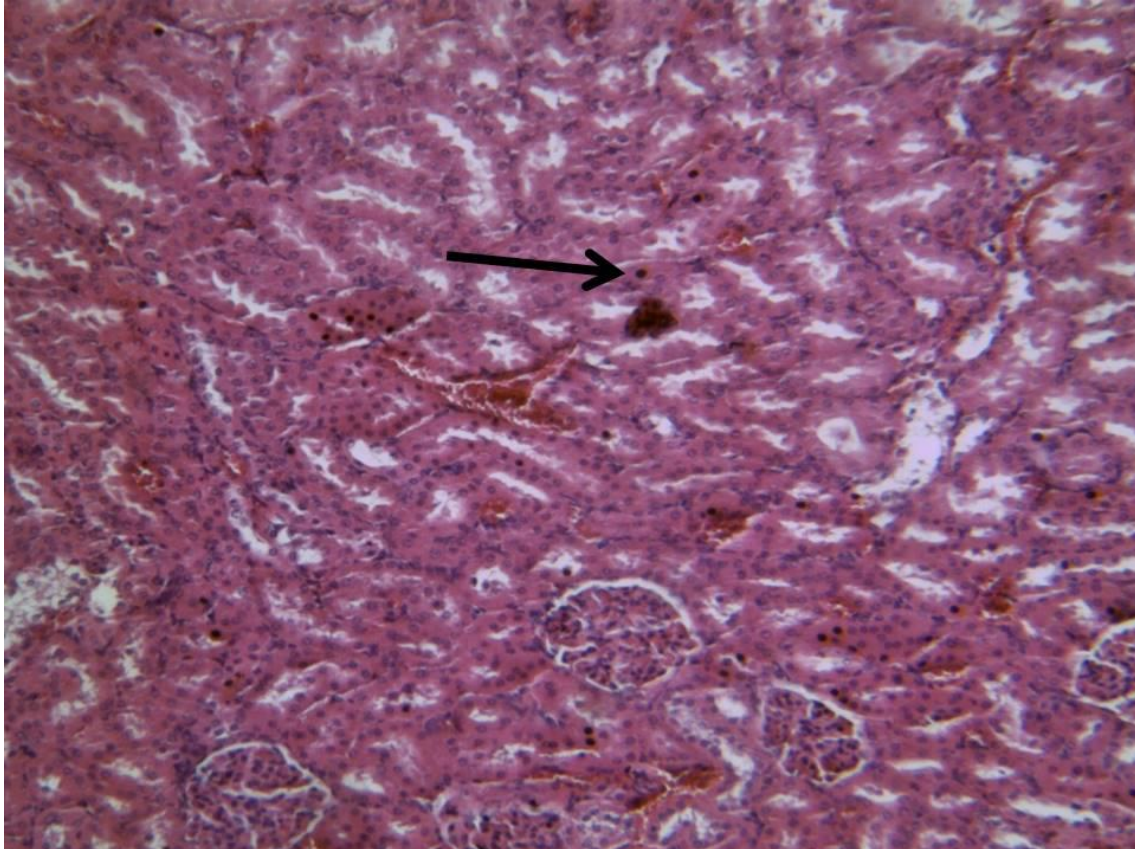
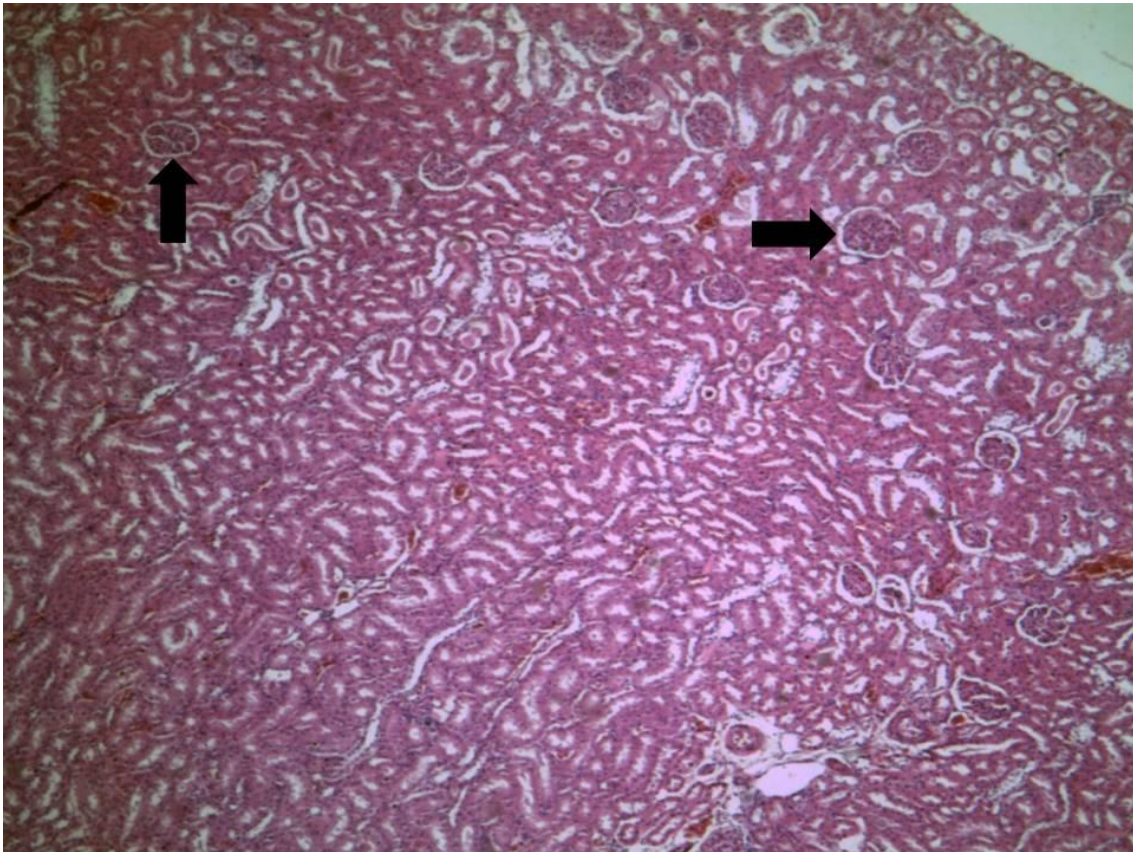


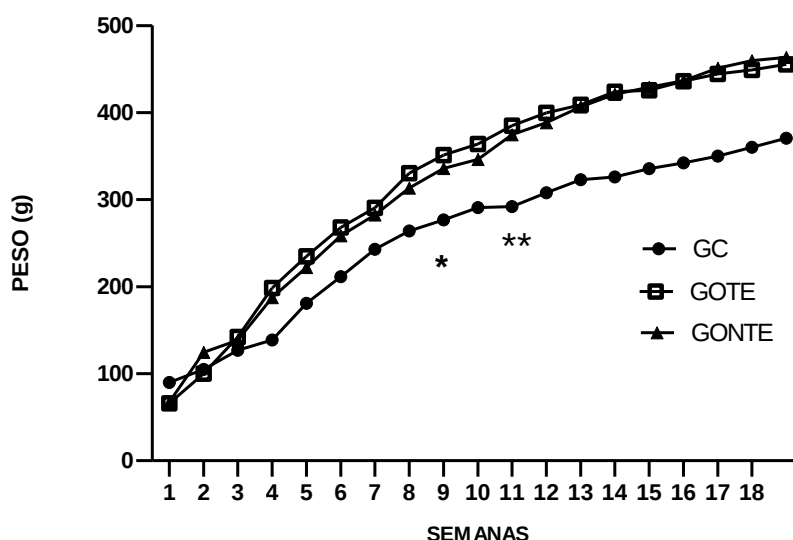
Figura 9— Glomérulos renais sem alterações (setas). Fotomicrografias de lâmina histológica de rins corados com hematoxilina e eosina (HE) de ratos wistar submetidos ao teste de toxicidade aguda oral com EAFLF na dose de 2000mg/Kg.



Experimento Obesidade

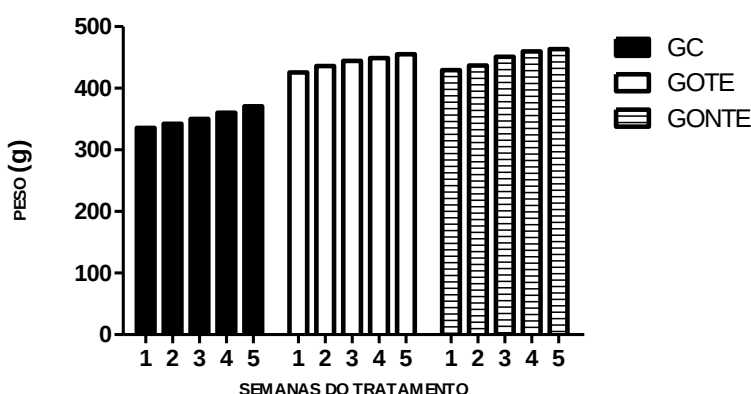
Após o ensaio de toxicidade, foi iniciada a criação dos grupos experimentais. A obesidade dos animais dos grupos GOTE e GONTE foi constatada através de acompanhamento da evolução ponderal dos grupos, a partir do desmame dos animais (1ª semana), comparando-se semanalmente a diferença de peso entre os grupos obesos e grupo controle. Foi possível observar diferença significativa de peso a partir da 9ª semana entre o grupo controle (GC) e os grupos obesos (GONTE e GOTE), onde estes, apresentam um ganho de peso corporal significativamente maior (12%), alcançando diferença percentual de 22% a partir da 12ª semana ($p < 0,05$) (Gráfico 3).

Gráfico 3. Evolução ponderal dos grupos experimentais por 18 semanas. Peso dos Grupos obesos estatisticamente significativo em relação ao grupo controle a partir da 9ª semana. $P < 0,05$. Teste two way ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni. GONTE e GOTE * $P < 0,05$ vs GC.



Ao analisar o efeito do tratamento do extrato sobre a evolução ponderal dos animais, não foi observada perda de peso corporal significativa no grupo tratado GOTE, quando comparado aos demais grupos que receberam água destilada. Foi possível observar que o peso dos grupos – tanto os que não receberam tratamento com extrato quanto o que recebeu – foi regular ao longo das semanas de tratamento (Gráfico 4).

Gráfico 4. Evolução do peso corporal (g) de cada grupo GC, GOTE e GONTE durante 30 dias consecutivos de tratamento (do 90º - 120º dia) com extrato aquoso dos frutos de *L. ferrea*. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós- teste de Bonferroni ($p < 0,05$).



Ao longo de todo experimento, não houve diferença significativa no consumo alimentar entre os grupos obesos. O consumo alimentar dos grupos que ingeriram dieta hipercalórica mostrou-se significativamente maior a partir da 9ª semana com relação aos animais que fizeram ingestão de ração padrão (Gráfico 5), coincidindo com aumento do peso corporal (12%). Porém, é interessante notar que a partir da 10ª semana, o consumo do GC passou a ser maior do que o dos grupos GOTE e GONTE, mesmo que o peso destes tenha aumentado em 21% a partir da 11ª semana. Durante o tratamento, houve redução do consumo de dieta hipercalórica nos grupos GOTE e GONTE a partir da 3ª semana, porém, essa redução não foi significativa entre os

grupos obesos. O grupo controle (GC) manteve o nível de consumo regular durante o tratamento (Gráfico 6).

Gráfico 5. Avaliação do consumo alimentar durante todo período experimental (120 dias). Início do tratamento: 15ª semana. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós- teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

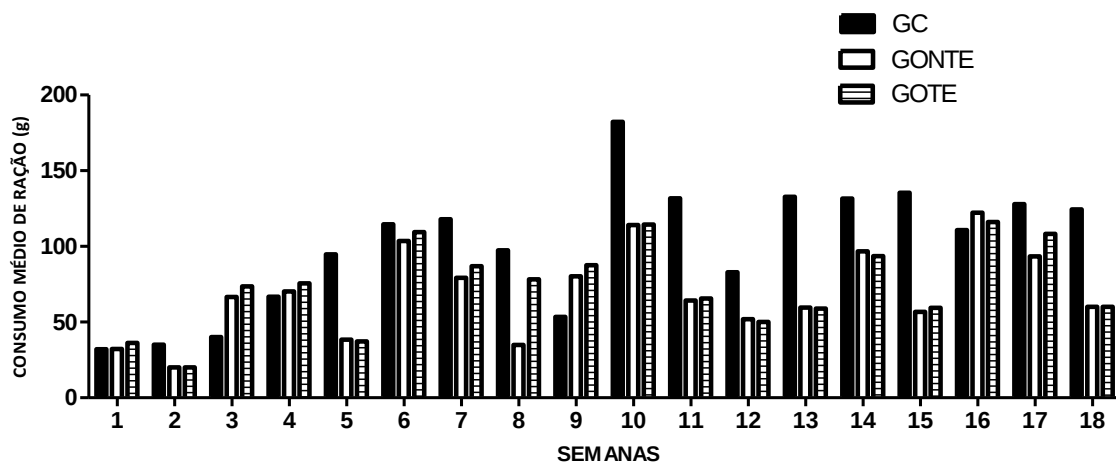
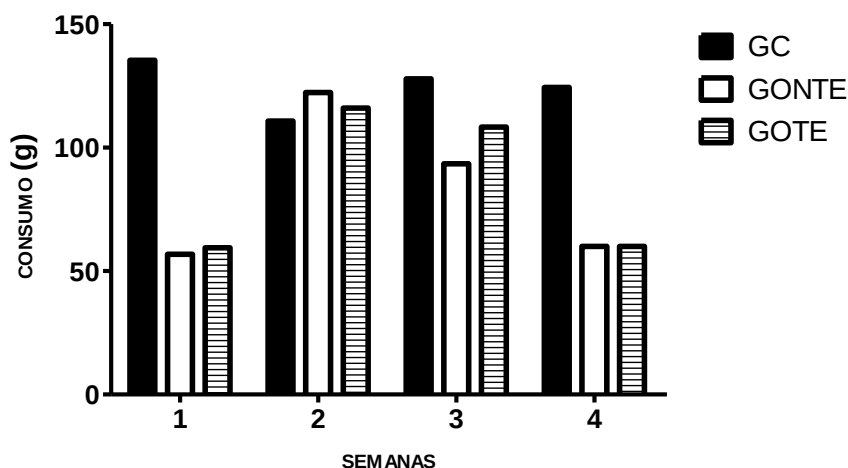


Gráfico 6. Evolução do consumo alimentar dos grupos GC, GOTE e GONTE durante 30 dias consecutivos de tratamento (do 90º - 120º dia) com extrato aquoso dos frutos de *L. ferrea*. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós- teste de Bonferroni ($p < 0,05$).



As medidas murinométricas de circunferência torácica (CT) e circunferência abdominal (CA) não mostraram diferenças significativas entre os grupos após o

período de tratamento, com relação as medidas obtidas antes de iniciar a administração do extrato (Gráficos 7 e 8).

Gráfico 7 - Medidas de circunferência torácica (CT) de cada grupo GC, GOTE e GONTE antes e depois (D) do tratamento com extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea*. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$).

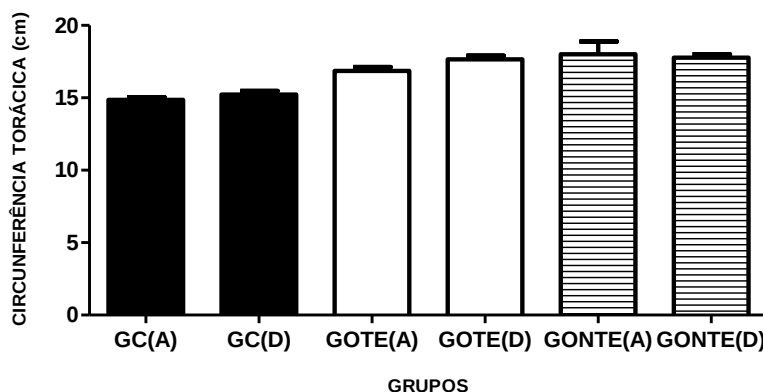
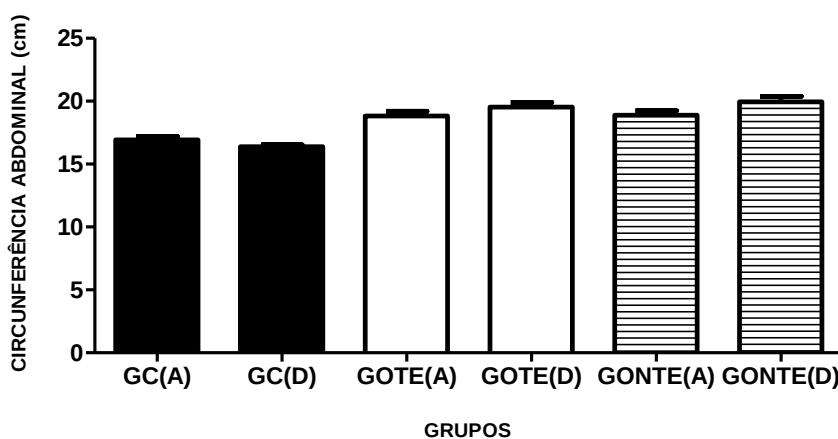


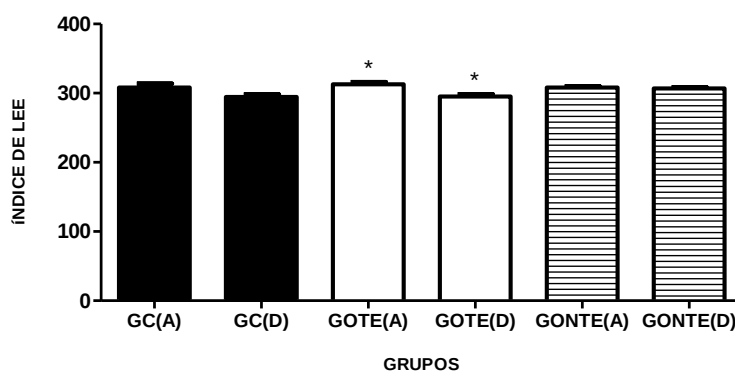
Gráfico 8. Medidas de circunferência abdominal de cada grupo GC, GOTE e GONTE antes e depois (D) do tratamento com extrato aquoso dos frutos de *Libidibia ferrea*. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$).



Os animais tiveram seu peso e comprimento naso-anal (CNA) medidos e utilizados para obtenção do índice de massa corpórea, através do cálculo do Índice

de Lee, que consiste da razão da raiz cúbica do peso corporal (em gramas) sobre o CNA (em centímetros) multiplicado por 1000. Os resultados demonstraram que o GOTE apresentou redução significativa do IMC ($17,59 \pm 3,6$) após o tratamento com o extrato, com relação ao início do mesmo (Gráfico 9).

Gráfico 9. IMC dos grupos GC, GOTE e GONTE antes (A) e depois (D) do tratamento com extrato aquoso dos frutos de *L. ferrea*. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni (* $p < 0,05$).



Os exames laboratoriais dos animais foram expressos em tabela (tabela 1). Não foram observadas alterações significativas da função hepática ou renal em nenhum dos grupos do estudo. Houve diferença expressiva na dosagem de colesterol HDL e de triglicerídeos, bem como no nível de glicose do GC com relação aos demais grupos, GOTE e GONTE.

Tabela 1. Valores bioquímicos dos ratos após trinta dias consecutivos de tratamento com extrato aquoso dos frutos de *L. ferrea* (GOTE) e água destilada (GC e CONTE).

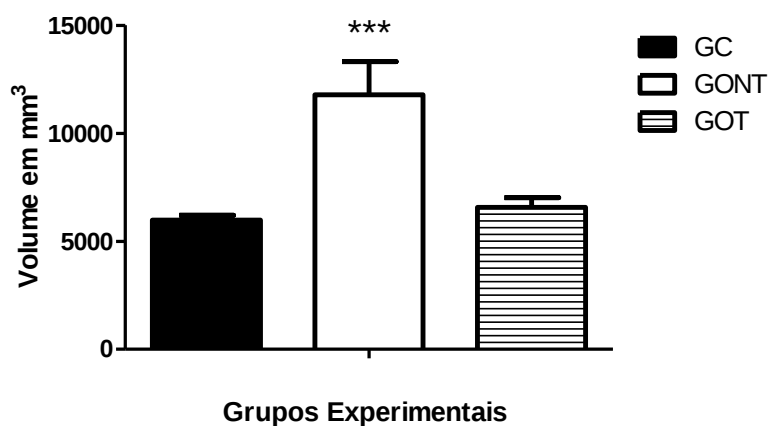
Exames (mg/dl)	GC n=9	GONTE n=9	GOTE n=9	P
Glicose*	168,0 ± 9,25*	278,0±12,45*	242,37±12,39*	*p <0,05
Ureia	33,9 ± 1,50	25,2 ± 2,27	26,53± 1,88	p < 0,05
Creatinina	0,47 ± 0,02	0,33 ± 0,02	0,35 ± 0,04	P < 0,05
TGP/ALT	47,14 ±2,68	32,92 ± 1,73	34,91 ± 2,21	p < 0,05
TGO/AST	137,5 ± 9,02	134,3±10,40	115,1625± 13,15	P < 0,05
Triglicerídeos*	57,02 ± 5,34*	83,50± 2,71*	89,6 ± 2,94*	*p <0,05
Colesterol total	65,34 ± 5,88	50,78 ± 3,19	52,72 ± 4,43	P < 0,05
Colesterol HDL*	44,66 ± 2,19*	16,61 ± 1,98*	18,78 ± 3,26*	*p <0,05
Colesterol LDL	8,875 ± 5,54	17,5± 6,39	15 ± 10,46	P < 0,05
Colesterol VLDL	14,22± 1,11	16,62± 0,24	23,0 ± 0,33	p <0,05

Grupos: GC (grupo controle). GONTE (grupo obeso não tratado com extrato). GOTE (grupo obeso tratado com extrato). Os valores representam a média ± E.P.M (n= grupos de 9 animais). *Estatisticamente diferentes do grupo controle (ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni, p< 0,05).

Fonte: Dados da pesquisa.

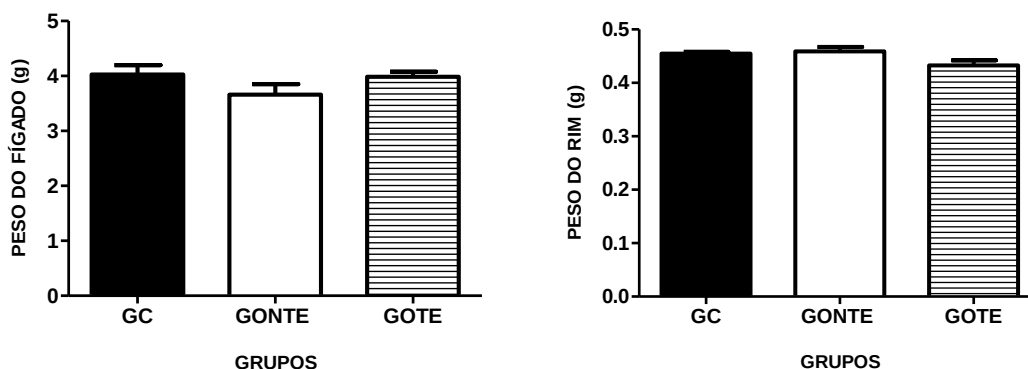
A pesagem da gordura mesentérica realizada após a coleta do Intestino, demonstrou que o grupo obeso GONTE apresentou uma maior quantidade dessa gordura (2.70 ± 0.13) quando comparado ao GC (1.06 ± 0.09) e ao GOTE (1.77 ± 0.11) que pode ser observado no gráfico 10.

Gráfico 10. Pesos das gorduras mesentéricas de Ratos Wistar que receberam EAFLF (GOTE) e água destilada (GC e GONTE) durante 30 dias de tratamento. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($*p<0,05$).



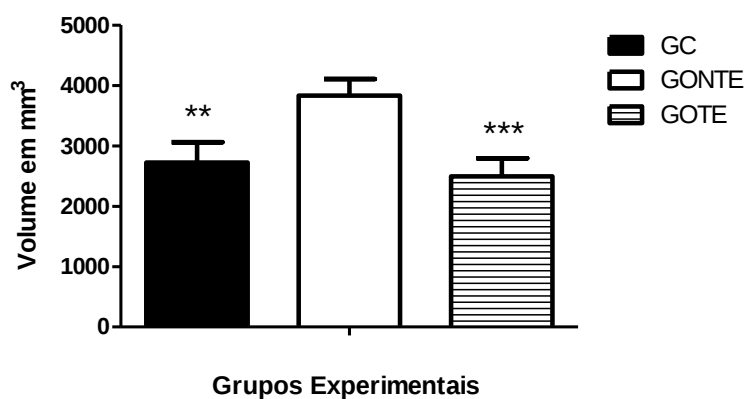
Quanto ao peso relativo do fígado e rins dos grupos, não foram constatadas diferenças significantes, como observado nos gráficos 11A e 11B.

Gráficos 11A e 11B. Pesos dos fígados (A) e Rins (B) de Ratos Wistar que receberam EAFLF (GOTE) e água destilada (GC e GONTE) durante 30 dias de tratamento. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p<0,05$).



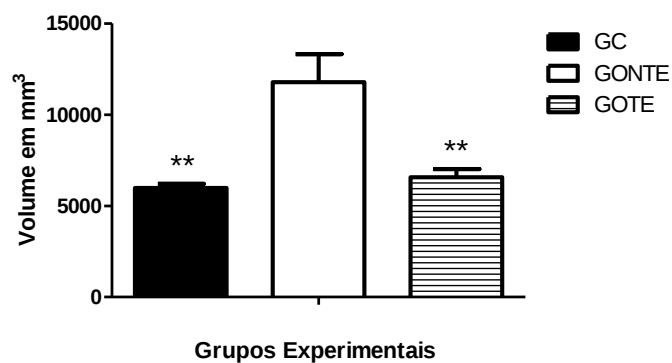
Com relação ao volume dos fígados dos animais, a média dos volumes dos fígados foi consideravelmente maior no GONTE (3831 $\pm$ 137.7) com relação ao GC (2722 $\pm$ 168.8) e ao GOTE (2496 $\pm$ 148.7), como demonstrado no gráfico 12.

Gráfico 12. Análise do volume dos fígados de animais (Ratos Wistar) dos grupos: GC (Grupo Controle), GONTE (Grupo Obeso Não Tratado com Extrato) GOTE (Grupo Obeso Tratado com Extrato) que receberam água destilada ou EAFLF (Jucá) por via oral (gavagem) por 30 dias. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). ** ($p < 0,05$) GC vs GONTE ; ***($p < 0,05$) GOTE vs GONTE.



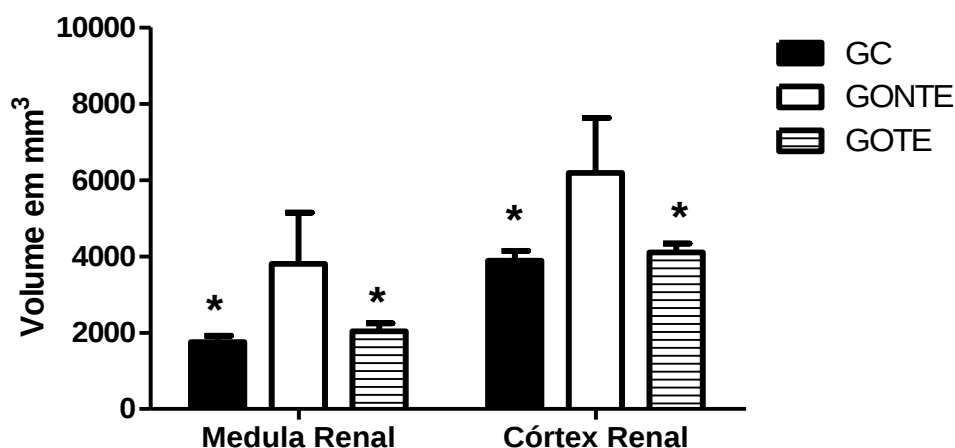
Da mesma forma, os volumes totais dos rins do GC (5981 $\pm$ 126.8) e do GOTE (6565 $\pm$ 260.0) foram significativamente menores do que os do GONTE (11790 $\pm$ 885.1) (Gráfico 13).

Gráfico 13. Análise do volume dos rins de animais (Ratos Wistar) dos grupos: GC (Grupo Controle), GONTE (Grupo Obeso Não Tratado com Extrato) GOTE (Grupo Obeso Tratado com Extrato) que receberam água destilada ou EAFLF (Jucá) por via oral (gavagem) por 30 dias. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). ** ($p < 0,05$) GC vs GONTE ; **($p < 0,05$) GOTE vs GONTE.



Quando analisados separadamente, o volume medular e o volume cortical renal também demonstraram diferença significativas do grupo obeso não tratado com extrato com relação aos demais. Os valores do volume medular expressos em GC (1754 ± 165) e GOTE (2038 ± 207) foram significativamente menores com relação ao volume medular visto em GONTE (3803 ± 1345). Quanto ao volume do córtex renal, foi observando-se o mesmo resultado ao analisar o volume do córtex renal, onde em GC (3887 ± 259) e GOTE (4108 ± 226) esses valores foram significativamente menores do que em GONTE (6188 ± 1439) (Gráfico 14).

Gráfico 14. Análise do volume da medula e do córtex renal dos animais (Ratos Wistar) dos grupos: GC (Grupo Controle), GONTE (Grupo Obeso Não Tratado com Extrato) GOTE (Grupo Obeso Tratado com Extrato) que receberam água destilada ou EAFLF (Jucá) por via oral (gavagem) por 30 dias. Os valores estão representados por $\pm$ E.P.M. Significância obtida a partir do teste *two way* ANOVA seguido do pós-teste de Bonferroni ($p < 0,05$). * ($p < 0,05$) GC vs GONTE ; *($p < 0,05$) GOTE vs GONTE.



Discussão

Antes de iniciar o tratamento no modelo experimental, foi realizado um Ensaio de Toxicidade Aguda Oral, para obter uma estimativa relativa à toxicidade aguda do extrato aquoso dos frutos de jucá na dosagem de 2000mg/Kg. Para tal, foi realizado o teste de Irwin ou teste hipocrático, que consiste de uma triagem farmacológica que foi executada através de observações comportamentais após a administração do extrato por via intragástrica (gavagem). Essa análise permitiu obter informações sobre o estado geral, atividade e coordenação do sistema motor, reflexos, atividades sobre o SNC e sistema nervoso autônomo de ratos Wistar adultos (CUNHA et al., 2009). Apesar dos sinais farmacológicos observados, nenhum dos animais veio a óbito durante ou ao término do ensaio de toxicidade aguda oral, o que possibilitou designar que a dose testada (2000mg/Kg) poderia ser utilizada no experimento.

A redução de peso corporal de animais submetidos a tratamento utilizando alguma substância, pode ser um indicativo de toxicidade ocasionada pela administração da mesma (HIREMATH et al., 1997). Tal situação não foi evidenciada neste estudo, pois não houve redução de peso corporal dos animais tratados.

Os rins são os órgãos responsáveis pela manutenção volumétrica e pela composição do fluido extracelular de um indivíduo dentro dos limites fisiológicos conciliáveis com a vida. Eles desempenham suas funções através da filtração glomerular, reabsorção e secreção tubular, levando à excreção das substâncias indesejadas na urina (GUYTON; HALL, 2006; AIRES, 2008). Alterações percebidas região tubular renal do animal R3 submetido ao ensaio de toxicidade aguda oral, pode indicar nefrite tubular. A função do túbulo contorcido proximal, bem como, do rim como um todo, pode ser afetada por agentes tóxicos. Pois, a ação destes, podem levar à interrupção na produção de energia para os mecanismos ativos de transporte, ou alterações nas funções de enzimas e transportadores de membrana, acarretando danos ao túbulo proximal (SCHNELLMANN 2001). Porém, não é correto afirmar que essas alterações provêm da ação do extrato, visto que apenas um dos três animais submetidos ao ensaio apresentou esse quadro.

Grande parte dos casos de obesidade em seres humanos é ocasionada pelo consumo de alimentos com alto teor calórico (VELLOSO et al., 2009). Em animais de laboratório, a indução da obesidade através de dieta hipercalórica tem sido bastante utilizada devido à semelhança da gênese da obesidade nesses animais com a de seres humanos (TSCHÖP & HEIMAN, 2001). Porém, a obesidade e o aumento de sobrepeso parecem não ser totalmente explicados apenas pelo aumento de consumo alimentar, energético ou de elevada quantidade de gordura, mas deve-se considerar

também, a proporção dos tipos de nutrientes, como a quantidade de gordura saturada presente na alimentação ou a contribuição calórica proveniente de carboidratos refinados como sacarose e/ou frutose (GRAY-DONALD et al., 2000; STORLIEN et al., 2001; BASCIANO et al., 2005; LEVY-COSTA; SICHIERI, 2005;).

Durante o período experimental, houve um significativo aumento de peso após a 9ª semana entre o grupo GC (Grupo Controle) e os Grupos Obesos (GOTE e GONTE), induzidos à obesidade através de dieta hipercalórica, corroborando com estudos realizados por Ribeiro (2016) que observou diferença significativa de peso entre os animais normonutridos e obesos a partir da 11ª semana de ingestão de dieta hipercalórica para indução da obesidade. Bem como em estudos realizados por Silva et al. (2010), os quais relataram aumento de peso corporal em ratos wistar que fizeram uso de dieta hipercalórica e hiperlipídica durante um período de três meses e obtiveram aumento significativo de massa corporal quando comparados com animais que foram alimentados com ração padrão para roedores. Porém, Jacob et al. (2013) em seus estudos, não observaram aumento de peso utilizando esse tipo de dieta, pois mesmo com um maior consumo energético, relataram que os animais consumiram 30% a menos do que o grupo alimentado com ração comercial.

Neste estudo, não houve redução significativa de peso corporal e de consumo alimentar no grupo tratado com extrato, GOTE, diferente do encontrado na literatura em estudos que utilizam extratos constituídos de saponinas e taninos, compostos capazes de reduzir a perda de peso (DICKEL, et al., 2007), além de possuir atividade antioxidante, hipocolesterolêmicas, antiinflamatória e imunomodulatória, de produzir efeito broncoprotetor, de melhorar a circulação sanguínea, aumentar a diurese e reduzir o apetite (DALONSO 2010; MAHAN, 2010; MARTINS, 2010). Além disso, às

saponinas, são atribuídas propriedades anti-inflamatórias e hipocolesterolêmicas (GNOATTO, 2005).

No presente estudo, foram coletadas medidas da circunferência torácica (CT) e abdominal (CA), antes e após a administração do extrato para avaliar o nível emagrecimento dos ratos. A circunferência abdominal (CA) constitui uma das medidas murinométricas mais relevantes na identificação da obesidade, pois a distribuição anatômica da gordura corporal é considerada como uma importante indicação de sobrepeso, já que a localização da adiposidade no segmento superior do corpo (gordura visceral) pode estar associada a fatores de risco desencadeadores de doenças cardiovasculares (MARTINS, 2003; ALMEIDA, 2009; PELEGRINI et al., 2015).

Assim, ao analisar essas medidas, foi observado, como esperado, que tanto CT quanto a CA foram maiores nos grupos GOTE e GONTE do que no GC, considerando-se a ingestão de dieta hipercalórica pelos grupos obesos. Porém, não foram observadas diferenças significativas dessas medidas no GOTE após o tratamento, quando comparadas às medidas obtidas antes do início do mesmo, diferente de resultados encontrados por Kurian et al. (2007), que constataram diminuição da CA em indivíduos tratados com extrato *Caralluma fimbriata*, que assim como os frutos de *L. ferrea*, possuem flavonóides — compostos atuantes na redução de gordura abdominal — em sua composição.

O IMC é uma medida utilizada em todo mundo como forma de diagnosticar alterações alimentares que podem implicar diretamente na saúde do indivíduo (NOVELLI et al., 2007; JACQUES, 2012; PELEGRINI et al., 2015). Em ratos, para

obtenção do índice de massa corporal pode-se utilizar o Índice de Lee, o qual corresponde à razão da raiz cúbica do peso corporal (em gramas) sobre o CNA (em centímetros), multiplicados por 1000.

Segundo Novelli et al. (2007) o índice de Lee equivale ao IMC em humanos, mostrando correlação significativa e positiva para o diagnóstico de obesidade. Na presente pesquisa, foi verificado que o GOTE apresentou redução significativa do IMC após o tratamento, quando comparado com o IMC obtido antes do início deste (Gráfico 6) corroborando com pesquisas que utilizaram extratos ricos em compostos atuantes na obesidade e na redução do IMC, como saponinas, e compostos fenólicos, também presentes nos frutos de jucá.

Dentre esses estudos, Yoshizume et al. (2006) observaram supressão de ganho de peso em ratos obesos utilizando o extrato de *Acanthopanax sessiliflorus*; Kim et al. (2005) e Soo et al. (2008) fizeram uso do extrato de *Panax ginseng* e constataram redução de peso corporal e ratos obesos. Tanto a *Acanthopanax sessiliflorus* como a *Panax ginseng*, são plantas compostas por saponinas. Já Yoshikawa et al. (2002) relataram redução no ganho de peso corporal em ratos, utilizando a *Salacia reticulada*, rica em compostos polifenólicos.

Os exames laboratoriais dos animais demonstraram que houve diferença na dosagem de colesterol HDL e de triglicerídeos entre o GC e os grupos obesos. O nível de triglicerídeos foi menor no GC do que nos demais grupos (GOTE e GONTE) e o HDL foi maior, demonstrando que um menor valor de HDL com aumento de triglicerídeos nos grupos obesos pode estar relacionado com o elevado teor calórico da dieta ocidentalizada, corroborando Woods et al. (2003), os quais relataram através

de sua pesquisa, que o desenvolvimento de dislipidemias pode estar associado ao consumo excessivo de dieta calórica por um longo período de tempo. Porém, há divergências em alguns estudos, relatando que não há um padrão de referências quanto ao perfil lipídico com o uso de dietas elevadas em lipídios, pois algumas pesquisas mostram que houve aumento de colesterol, LDL-c e glicose, mas não de VLDL-c e triglicérides (JACOB et al., 2013). Mesmo com resultados que mostraram maior taxa de triglicerídeos plasmáticos nos grupos obesos, ainda se encontra dentro dos níveis bioquímicos normais para ratos wistar machos.

Ao avaliar os níveis de glicose de acordo com a tabela de parâmetros bioquímicos para ratos wistar machos, foram constatados elevados índices nos grupos obesos com relação ao grupo controle, não sendo observado no presente estudo ação anti-hiperglicemiante dos frutos de jucá, divergindo de resultados obtidos em diversos estudos que atestaram atuação dos frutos desse extrato na atividade antidiabética, através da ação de compostos fenólicos como o ácido elágico e o ácido elágico 2- (2,3,6-trihidroxi-4-carboxifenil), os quais atuaram minimizando complicações ocasionadas pelo diabetes, bem como na atividade anti-hiperglicêmica, constatada pela presença de flavonoides (UEDA et al., 2001; SOUZA et al., 2006; OLIVEIRA, 2008; CAZAROLLI et al., 2009).

A pesagem da gordura mesentérica, realizada após a coleta do intestino, demonstrou que os grupos obesos GOTE e GONTE apresentaram maior quantidade dessa gordura quando comparada ao grupo controle. Porém, também foi possível observar que no grupo GOTE essa medida foi inferior quando comparada ao GONTE, sugerindo que houve atuação do extrato diminuindo a quantidade de gordura mesentérica em ratos obesos, apresentando um resultado relevante relacionado ao

quadro de obesidade, pois a obesidade do tipo visceral apresenta maior risco de mortalidade ao indivíduo do que a obesidade periférica, visto que o tecido adiposo visceral é mais ativo metabolicamente do que o tecido adiposo subcutâneo, causando maior produção de glicose no fígado, e, conseqüentemente, diabetes tipo 2 e hipersulinismo, onde este, pode aumentar a retenção de sódio resultando em hipertensão arterial sistêmica (ROSA et al., 2005; SBC, 2007; ZIMMET, 2008).

O aumento no volume renal do grupo GONTE sugere a existência de alterações renais. Os mecanismos por meio dos quais a obesidade contribui para a evolução das nefropatias não estão bem elucidados. Mas de acordo com estudos realizados, a perda da função renal pode ser estimulada e acelerada devido a alterações hemodinâmicas determinadas por hiperfluxo e hipertensão intraglomerular, as quais são capazes de induzir glomeruloesclerose e proteinúria (DE PAULA et al., 2006). Segundo Juncos (1993), é possível que a lesão renal seja decorrente de alterações hormonais e metabólicas observadas na obesidade. Como exemplo, a hiperinsulinemia, que promove vasoconstrição da arteríola eferente e aumento da expressão de fatores de crescimento, alterações estas responsáveis por hiperfiltração e expansão mesangial.

O aumento no volume medular e cortical renal do grupo GONTE sugere que houve dilatação tubular, corroborando com estudos realizados por Hall et al. (1993) e Chagnac et al. (2000), os quais relataram em suas pesquisas o aumento da reabsorção tubular proximal de sódio como consequência do aumento do fluxo sanguíneo renal, hiperfiltração renal e hipertensão intraglomerular tanto em animais como em indivíduos obesos. É possível dizer também que o tratamento com o extrato aquoso dos frutos de jucá, conseguiu manter os padrões de filtração renal, tensão

intraglomerular e conseqüentemente, o padrão de reabsorção tubular renal, já que não houve diferença significativa nos volumes medular e cortical renal, entre o Grupo Controle e o Grupo Obeso Tratado com Extrato.

O aumento no volume do fígado observado nos animais do grupo GONTE, alimentados com dieta ocidentalizada, parece refletir um acúmulo de gordura nesse tecido, provavelmente, resultante do elevado teor de lipídios presente na mesma, já que o consumo de dieta rica lipídeos resulta num aumento da infiltração lipídica no tecido hepático (GAUTHIER et al., 2004). Porém, o grupo GOTE apresentou volume hepático próximo ao do GC, sugerindo que o tratamento com EAFLF pode ter revertido possíveis alterações ocasionadas pela ingestão da dieta hipercalórica.

Diante do exposto, conclui-se que o extrato aquoso de jucá não promoveu alterações significativas no peso e no perfil bioquímico de animais obesos, porém, são necessários estudos mais aprofundados, com a aplicação de técnicas histológicas, para uma melhor elucidação da ação do extrato.

6 CONCLUSÕES

- O tratamento com jucá não promoveu redução significativa de peso corporal e de consumo alimentar nos animais obesos, mesmo com redução do consumo de dieta ocidentalizada durante o período de tratamento. Também não induziu redução das circunferências torácica e abdominal, porém, promoveu redução do IMC nos animais;
- O extrato de jucá não desenvolveu atividade anti-hiperglicemiante, bem como, não atuou diminuindo os níveis de colesterol e de triglicerídeos nos animais obesos. No entanto, o extrato atuou positivamente na redução da gordura mesentérica e dos volumes renal e hepático do grupo experimental, o que constitui um fator importante no que diz respeito às doenças associadas à etiologia da obesidade, que podem ser ocasionadas por alterações nesses tecidos.
- São necessários estudos complementares com a aplicação de técnicas histológicas para elucidar e confirmar esses dados.

REFERÊNCIAS

- ALMEIDA V. Factores de Motivação Para o Emagrecimento em Adultos Obesos, Universidade do Porto. [monografia de Internet]. 2009 [citado 2011 Nov 02]; p.4. Disponível em: http://repositorioaberto.up.pt/bitstream/10216/54824/1/130837_0953TCD53.pdf
- BACCHI EM, SERTIÉ JAA. Antiulcer action of *Styrax camporum* and *Caesalpinia ferrea* in rats. **Planta Medica**. v.60, p.118–120, 1994.
- BASCIANO, H., FEDERICO, L., ADELI, K. Fructose, insulin resistance, and metabolic dyslipidemia. **Nutrition & metabolism**, v. 2, n.5, 2005.
- CUNHA LC, AZEREDO FS, MENDONÇA ACV, VIEIRA MS, PUCCI LL, VALADARES MC, FREITAS HOG. SENA, A.A.S.; LINO JUNIOR, R.S. 2009. Avaliação da toxicidade aguda e subaguda, em ratos, do extrato bruto etanólico das folhas e do látex de *Synadenium umbellatum* Pax. **Rev. Bras. Farmacognosia**. V. 19, n.2ª, p. 403-411.
- DALONSO N. Polissacarídeos Das Sementes De Guaraná (*Paullinia cupana* Kunth): Análises Estruturais, Reológicas e Atividade Antioxidante. Universidade Federal do Paraná. Pós-Graduação em Ciências - Bioquímica da Universidade Federal do Paraná. [monografia na Internet] 2010 [citado 2011 Out 15]; p. 19-25. Disponível em: <http://dspace.c3sl.ufpr.br/dspace/bitstream/handle/1884/23518/Dissertacao%20Nicol%20Dalonso.pdf?sequence=1>
- DE PAULA, R.B; FERNANDES, N., Carmo, V.M.P, ANDRADE, L.C.F; BASTOS, M.G. Obesity and Chronic Kidney Disease . **J Bras Nefrol** Vol. XXVIII, nº 3, p. 159-164, 2006.
- DICKEL ML, RATES SM, RITTER MR. Plants popularly used for loosing weight purposes in Porto Alegre, South Brazil. **J Ethnopharmacol**. 2007;109:60-71.
- DUNCAN BB, SCHMIDT MI, POLANCZYK CA, HOMRICH CS, ROSA RS, ACHUTTI AC. Fatores de risco para doenças não-transmissíveis em áreas metropolitanas na região sul do Brasil: prevalência e simultaneidade. **Rev Saúde Pública** 1993; 27:143-8.
- FRANCISCHI RPP, PEREIRA LO, FREITAS CS, KLOPFER M, SANTOS RC, VIEIRA P, et al. Obesidade: atualização sobre etiologia, morbidade e tratamento. **Rev Nutr** 2000; 13:17-28.

FRASSON APZ. Caracterização físico-química e biológica e avaliação antimicrobiana do extrato do caule de *Caesalpinia ferrea* Mart. [dissertação de mestrado]. Santa Maria: Universidade Federal de Santa Maria, 2002.

GNOATTO SC, SCHENKEL EP, BASSANI VL. HPLC method assay total saponins in *Ilex paraguariensis* aqueous extract. **J Braz Chem Soc.** 2005;16:723- 5.

GONZALEZ FG, BARROS SBM, BACCHI EM. Atividade Antioxidante e perfil fitoquímico de *Caesalpinia ferrea* Mart. In: IX Semana da Farmacêutica de Ciência e Tecnologia, 2004, São Paulo. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**; v.40, n.79, 2004.

GUYTON AC; HALL JE. Text Book of Medical Physiology. 11^a ed. **Filadelfia: Elsevier Saunders**, 2006.

GRAY-DONALD, K., JACOBS-STARKEY, L., JOHNSON-DOWN, L. Food habits of Canadians: reduction in fat intake over a generation. **Can J Public Health** v. 91, n.5, p. 381–385, 2000.

HASHIMOTO G. Illustrated Encyclopedia of Brazilian Medicinal Plants. Kamakura: Abokk Press, 1996. P. 171—7.

HEBE BRAND J, HINNEY A. Environmental and genetic risk factors in obesity. *Child Adolescent Psychiatric Clinical N Am* 2009;18:83-94.

HIREMATH, I.G.; AHN, Y.J. AND KIM, S.I. (1997), Insecticidal activity of Indian plant extracts against *Nilaparvata lugens* (Lepidoptera: Yponomeutidae). **Appl. Entomol. Zool.** 32, 533-538.

IBGE - INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. *Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009 : avaliação nutricional da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil*. Rio de Janeiro, 2010.

JACOB, P.S., FUJII , T.M.M., YAMADA , M., BORGES , M.C., PANTALEÃO , L.C., BORELLI , P., FOCK , R., ROGERO, M.M. Isocaloric intake of a high-fat diet promotes insulin resistance and inflammation in Wistar rats. **Cell Biochem Funct**, v. 31, n.3, p. 244–253, 2013.

JACQUES, F.O.; TIYO, R. Tratamento da obesidade com sibutramina. **Uningá Review**, v. 11(2), p.32-47, 2012.

JUNCOS LA, ITO S: Disparate effects of insulin on isolated rabbit afferent and efferent arterioles. **J Clin Invest** 1993; 92:1981-5.

KIM, J.H; HAHM, D.H; YANG, D.C; KIM, J.H; LEE, H.J; SHIM, L. Effect of Crude Saponin of Korean Red Ginseng on High-Fat Diet-Induced Obesity in the Rat. **J. Pharmacol. Sci**, v. 97, 2005, p. 124-131.

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

LAMARÃO, R.C.; FIALHO, E. Aspectos funcionais das catequinas do chá verde no metabolismo celular e suas relações, **Revista de Nutrição**, v. 22 (2), p. 257-269, 2009.

LEVY-COSTA, R.B., SICHIERI, R., PONTES, N.S., MONTEIRO, C.A. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974- 2003). **Rev Saude Publica**, v. 39, n.4, p.530-40, 2005.

LEWIS GP. Legumes of Bahia. Kew: Royal Botanical Gardens, 1987.

LORENZI, H. Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. Nova Odessa: Instituto Plantarum. p. 381, 2002.

MAIA GN. Caatinga: árvores e arbustos e suas utilidades. São Paulo: D&Z Computação Gráfica, Leitura & Arte, 2004.

MARTINS I. S.; MARINHO, S.P. The potential of central obesity antropometric indicators as diagnostic tools. **Revista de Saúde Pública**, v. 37 (6), p. 760-767, 2003.

MARTINS CA. Avaliação da Atividade Antioxidante In Vitro E In Vivo do Guaraná (Paullinia cupana) em Pó. Universidade de São Paulo. Faculdade de Saúde Pública. [monografia na Internet]. 2010 [citado 2011 Jul 16]; p. 16-23. Disponível em: <http://bases.bireme.br/cgi-bin/wxislind.exe/iah/online/?IsisScript=iah/iah.xis&src=google&base=LILACS&lang=p&nextAction=lnk&exprSearch=594056&indexSearch=ID>

MAHAN KL, STUMP SE. KRAUSE Alimentos, Nutrição e Dietoterapia. 12ª Ed. Rio de Janeiro (RJ): Elsevier; p. 401, 2010.

MELO ME, MANCINI MC. Obesidade. **Revista Brasileira de Medicina**; v. 66, n.12, 2009.

MENEZES IAC, MOREIRA IJA, CARVALHO AA, ANTONIOLLI AR, SANTOS MRV. Cardiovascular effects of the aqueous extract from Caesalpinia ferrea: involvement of ATP-sensitive potassium channels Vascular Pharmacology, v.47, p. 41–47, 2007.
MORO CO, BASILE G. Obesity and medicinal plants. **Fitoterapia**, 2000.

NAKAMURA ES, KUROSAKI F, ARISAWA M, MUKAINAKA T, OKUDA M, TOKUDA H, et al. Cancer chemopreventive effects of constituents of *Caesalpinia ferrea* and related compounds. **Cancer Letters** 2002; 177(2): 1194-24.

NISSEN LP, VIEIRA LH et al. Intervenções para tratamento da obesidade: revisão sistemática. **Revista Brasileira de Medicina de Família e Comunidade**, v. 7, n.24, p.184-90, 2012.

NOVELLI, ELB; DINIZ, YS GALHARDI, CM; EBAID, GMX; RODRIGUES, HG; MANI, F. Anthropometrical parameters and markers of obesity in rats. **Laboratory Animals**, v. 41, p. 111-9, 2007.

OECD (Organization for economic co-operation and development) Guideline for Testing of Chemicals: Acute Oral Toxicity-Acute Toxic Class Method. Guideline: p.423, 2001.

OLIVEIRA, A.F. Avaliação da atividade cicatrizante da *Caesalpinia ferrea* (tul.) Martius (Jucá) em lesões cutâneas de caprinos [dissertação]. Mossoró: Universidade Federal Rural do Semi-Árido, 2008.

OLIVEIRA TWS, et al. A perinatal palatable high-fat diet increases food intake and promotes hypercholesterolemia in adult rats. **Lipids**. v.46, n.11, p.1071-4, 2011.

ORGANIZAÇÃO MUNDIAL DA SAÚDE. World Health Statistics 2012. Disponível em:<<http://www.who.int/gho/publications/worldhealthstatistics/ENWHS2012Brochure.pdf>>. Acesso em: 30 mai de 2014.

PARK MY, LEE KS, SUNG MK. Effects of dietary mulberry, Korean red ginseng, and banaba on glucose homeostasis in relation to PPAR- α , PPAR- γ , and LPL mRNA expressions. **Life Sciences**, v. 77, n. 26, p. 3344-3354, 2005.

PARK, K.S; KONG, H; KYU, L; YOUNG, K.B; HAK, J.C; Effect of ginsam, a vinegar extract from *Panax ginseng*, on body weight and glucose homeostasis in an obese insulin-resistant rat model. **Metabol**, v. 58, 2008.

PELEGRINI, A.; SILVA, D.A.S.; SILVA, J.M.F.L.; GRIOLLO L.; PETROSKI, E.L. Indicadores antropométricos de obesidade na predição de gordura corporal elevada em adolescentes. Disponível em: <www.rpped.com.br>. Acesso em: 31 jan. 2016.

PICKLER, T.B. Ensaios Pré-Clínicos da Exposição Materna à *Caesalpinia ferrea* [dissertação]. São Paulo: Universidade de Sorocaba, 2015

PIO CORREA M. Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas, Rio de Janeiro: Imprensa Nacional. 1984. P. 490-492.

ROSA, E. C.; ZANELLA, M. T.; RIBEIRO, A. B.; JUNIOR, O. K. Obesidade visceral, hipertensão arterial e risco cárdio-renal: uma revisão. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**.v.49,n.2,apr.2005.

SECRETARIA DE POLÍTICAS PÚBLICAS DE SAÚDE, Ministério da Saúde. Programa nacional de promoção da atividade física "Agita Brasil": atividade física e sua contribuição para a qualidade de vida. **Rev Saúde Pública** 2002; 36:254-6.

SILVA DCT et al, Influência do Tempo de Exposição à Obesidade Induzida por Dieta Hiperlipídica sobre os Colágenos Tipo I e III Miocárdico. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, 2014, vol.102, n.2, pp. 157-164.

SILVA, MB et al. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. **Revista Brasileira de Farmacognosia** [online]. 2010, vol.20, n.4, pp. 549-562. ISSN 0102-695X.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz brasileira sobre dislipidemias e prevenção da aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 88, p. 1-18, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE ENDOCRINOLOGIA E METABOLOGIA, 2012. Disponível em: <<http://www.endocrino.org.br/prevalencia-da-obesidade-no-brasil/>>. Acesso em: 17 mai de 2014.

SOUZA SP. et al. Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera* (Less.) DC, Asteraceae: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 450-455, 2011.

SOARES VM, GARCIA-SOUZA EP, et al. Early life overfeeding decreases acylated ghrelin circulating levels and upregulates GHSR1a signaling pathway in white adipose tissue of obese young mice. **Regulatory peptides**, v.174, p.6-11, 2013.

SOUZA SP. et al. Inhibition of pancreatic lipase by extracts of *Baccharis trimera* (Less.) DC, Asteraceae: evaluation of antinutrients and effect on glycosidases. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 21, n. 3, p. 450-455, 2011.

SOO, L; YOON, J.W; HEE, C.S; CHO, J.B; JUN, K.T; SOON, H.C; SEON, P.H;

PARK, K.S; KONG, H; KYU, L; YOUNG, K.B; HAK, J.C; Effect of ginsam, a vinegar extract from *Panax ginseng*, on body weight and glucose homeostasis in an obese insulin-resistant rat model. **Metabol**, v. 58, 2008.

STEIN CJ, COLDITZ GA. The epidemic of obesity. **Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, 2004;89(6):2522-5.

STORLIEN, L.H., HUANG, X.F., LIN, S., XIN, X., WANG, H.Q., ELSE, P.L. Dietary fat subtypes and obesity. *World Rev Nutr Diet* v. 88, p.148–154, 2011.

THOMAS G, ARAÚJO CC, SOUZA OS 1988. Avaliação das atividades antiinflamatória, analgésica e antipirética dos extratos aquosos de *Caesalpinia ferrea*, *Plantago major*, *Polygonum acre* e *Pterodon polygaeflorus*. *Tenth Brazilian Symposium in Medicinal Plants*. São Paulo, Brasil.

UEDA H, KAWANISHI K, MORIYASU M. Effects of ellagic acid and 2-(2,3,6-trihydroxy-4-carboxyphenyl) ellagic acid on sorbitol accumulation in vitro and in vivo. **Biol Pharm Bull** 2004 Oct; 27(10):1584-7.

VASCONCELOS CFB, MARANHÃO HML, BATISTA TM, CARNEIRO EM, FERREIRA F, COSTA J, SOARES LAL, SÁ MDC, SOUZA TP, WANDERLEY AG. Hypoglycaemic activity and molecular mechanisms of *Caesalpinia ferrea* Martius bark extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 137, p. 1533-1541, 2011.

YOSHIKAWA, M; SHIMODA, H; NISHIDA, N; TAKADA, M; MATSUDA, H. Salacia reticulata and Its Polyphenolic Constituents with Lipase Inhibitory and Lipolytic Activities Have Mild Antiobesity Effects in Rats. **J. Nutri**, vol. 132, 2002, p. 1819-1824.

YOSHIZUME, K; KAORU,H; HIDEHIRO, A; HIRAI, Y; YDA,Y; TSUJI, T; TAMOTSU, T; SATOUCHI, K; TERAJO,J. Lupane-Type Saponins from Leaves of *Acanthopanax sessiliflorus* and Their Inhibitory Activity on Pancreatic Lipase. **J. Agric. Food Chem**, vol 2, 2006, p. 335–341.

WOODS, S.C., SEELEY, R.J., RUSHING, P.A., D´ALESSIO, D., TSO, P. A. controlled high-fat diet induces an obese syndrome in rats. **J Nutr**. v.133, n.4, p.1081-7, 2003.

ZIMMET, P. A. G. The metabolic syndrome: progress towards onde definition for an epidemic o four time. **Nature**, v.4, n. 5, p. 19-25, 2008.

ANEXOS

ANEXO 1. Certificado de Aprovação do Comitê de Ética



Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
 50670-420 / Recife - PE - Brasil
 telefone: (51) 311 2126 8540 / 2126 8151
 fax: (51) 311 2126 8350
 www.ccb.ufpe.br

Recife, 05 de março de 2015.

Ofício nº 18/15

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
 Para: **Prof.ª Manuela Figueiroa Lyra de Freitas**
 Departamento de Anatomia – Centro de Ciências Biológicas
 Universidade Federal de Pernambuco
 Processo nº 23076.057395/2014-48

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **“Avaliação da atividade antiobesidade do extrato aquoso dos frutos de *Libidibia Férrea* (Mart.) L.P. Queiroz em ratos Wistar.”**

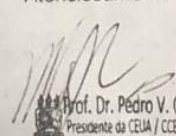
Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição - UFPE. Animais: ratos. Linhagem: Wistar. Idade: 60 dias e 21 dias pós-natal. Peso: 250g e 50g. Sexo: machos; Nº total de animais: 42

Atenciosamente



Prof. Dr. Pedro V. Carelli
 Presidente da CEUA / CCB - UFPE
 SIAPE 1801584

CCB: Integrar para desenvolver

ANEXO 2. 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

C. M. Lima et al., Scientia Plena 10, 034601 (2014)

4

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

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

*Analisador bioquímico ARCHITECT C8000 (ABBOTT)