



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA MULTICÊNTRICO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS  
FISIOLÓGICAS**

**EFEITO DO EXTRATO LÍQUIDO CONCENTRADO OBTIDO DOS RE-  
SÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DOS FRUTOS DE *MYRCIARIA CAULI-  
FLORA* SOBRE PARÂMETROS CARDIOMETABÓLICOS DE RATOS  
WISTAR SUBMETIDOS AO MODELO DE OBESIDADE INDUZIDA  
POR GLUTAMATO MONOSSÓDICO**

**MONATHA NAYARA GUIMARÃES TEÓFILO**

**GOIÂNIA - GO  
2020**



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

## TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO (TECA) PARA DISPONIBILIZAR VERSÕES ELETRÔNICAS DE TESES

### E DISSERTAÇÕES NA BIBLIOTECA DIGITAL DA UFG

Na qualidade de titular dos direitos de autor, autorizo a Universidade Federal de Goiás (UFG) a disponibilizar, gratuitamente, por meio da Biblioteca Digital de Teses e Dissertações (BDTD/UFG), regulamentada pela Resolução CEPEC nº 832/2007, sem ressarcimento dos direitos autorais, de acordo com a [Lei 9.610/98](#), o documento conforme permissões assinaladas abaixo, para fins de leitura, impressão e/ou download, a título de divulgação da produção científica brasileira, a partir desta data.

O conteúdo das Teses e Dissertações disponibilizado na BDTD/UFG é de responsabilidade exclusiva do autor. Ao encaminhar o produto final, o autor(a) e o(a) orientador(a) firmam o compromisso de que o trabalho não contém nenhuma violação de quaisquer direitos autorais ou outro direito de terceiros.

#### 1. Identificação do material bibliográfico

Dissertação      Tese

#### 2. Nome completo do autor

Monatha Nayara Guimarães Teófilo

#### 3. Título do trabalho

Efeito do Extrato Líquido Concentrado Obtido dos Resíduos Agroindustriais dos Frutos de *Myrciaria Cauliflora* sobre Parâmetros Cardiometabólicos de ratos Wistar submetidos ao modelo de obesidade induzida por Glutamato Monossódico.

#### 4. Informações de acesso ao documento (este campo deve ser preenchido pelo orientador)

Concorda com a liberação total do documento  SIM      NÃO<sup>1</sup>

[1] Neste caso o documento será embargado por até um ano a partir da data de defesa.

Após esse período, a possível disponibilização ocorrerá apenas mediante:

**a)** consulta ao(à) autor(a) e ao(à) orientador(a);

**b)** novo Termo de Ciência e de Autorização (TECA) assinado e inserido no arquivo da tese ou dissertação.

O documento não será disponibilizado durante o período de embargo.

Casos de embargo:

- Solicitação de registro de patente;
- Submissão de artigo em revista científica;
- Publicação como capítulo de livro;
- Publicação da dissertação/tese em livro.

**Obs. Este termo deverá ser assinado no SEI pelo orientador e pelo autor.**



Documento assinado eletronicamente por **Andre Henrique Freiria De Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 28/04/2020, às 17:10, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **MONATHA NAYARA GUIMARÃES TEÓFILO, Discente**, em 29/04/2020, às 10:33, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1300406** e o código CRC **00D34B1F**.

**MONATHA NAYARA GUIMARÃES TEÓFILO**

**EFEITO DO EXTRATO LÍQUIDO CONCENTRADO OBTIDO DOS RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS DOS FRUTOS DE *MYRCIARIA CAULIFLORA* SOBRE PARÂMETROS CARDIOMETABÓLICOS DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO MODELO DE OBESIDADE INDUZIDA POR GLUTAMATO MONOSSÓDICO**

Dissertação apresentada ao Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goiás, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciências Fisiológicas.

Área de Concentração: Fisiologia

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Freiria-Oliveira

Co-orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Graziela Torres Blanch

**GOIÂNIA - GO**

**2020**

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor, através do Programa de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da UFG.

Teófilo , Monatha Nayara Guimarães

Efeito do extrato líquido concentrado obtido dos resíduos agroindustriais dos frutos de *Myrciaria cauliflora* sobre parâmetros cardiometabólicos de ratos wistar submetidos ao modelo de obesidade induzida por glutamato monossódico [manuscrito] / Monatha Nayara Guimarães Teófilo . - 2020.

XV, 36 f.: il.

Orientador: Prof. Dr. André Henrique Freiria Oliveira ; co-orientadora Profª. Drª. Graziela Torres Blanch.

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Goiás, Instituto de Ciências Biológicas (ICB), Programa de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas, Goiânia, 2020.

Bibliografia.

Inclui siglas, abreviaturas, gráfico, tabelas, lista de figuras, lista de tabelas.

1. Extrato. 2. Jabuticaba. 3. Obesidade. 4. Núcleo Arqueado. 5. Metabolismo. I. Oliveira , André Henrique Freiria, orient. II. Título.

CDU 612



UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
**ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO**

Ata nº 15 da sessão de Defesa de Dissertação de **Monatha Nayara Guimarães Teófilo**, que confere o título de Mestre(a) em Ciências Fisiológicas.

Ao/s treze dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte, a partir da(s) 14:00 h, no(a) Anfiteatro do Instituto de Ciências Biológicas V, realizou-se a sessão pública de Defesa de Dissertação intitulada “Efeito Do Extrato Líquido Concentrado Obtido Dos Resíduos Agroindustriais Dos Frutos De *Myrciaria Cauliflora* Sobre Parâmetros Cardiometabólicos De Ratos Wistar Obesos Por Glutamato Monossódico”. Os trabalhos foram instalados pelo(a) Orientador(a), Professor(a) Doutor(a) Andre Henrique Freiria de Oliveira (ICB/UFG) com a participação dos demais membros da Banca Examinadora: Professor(a) Doutor(a) Daniel Alves Rosa (ICB/UFG), membro titular interno; Professor(a) Doutor(a) James Oluwagbamigbe Fajemiroye (ICB/UFG), membro titular interno. Durante a arguição os membros da banca **fizeram** sugestão de alteração do título do trabalho. A Banca Examinadora reuniu-se em sessão secreta a fim de concluir o julgamento da Dissertação, tendo sido(a) o(a) candidato(a) **aprovada** pelos seus membros. Proclamados os resultados pelo(a) Professor(a) Doutor(a) Andre Henrique Freiria de Oliveira (ICB/UFG), Presidente da Banca Examinadora, foram encerrados os trabalhos e, para constar, lavrou-se a presente ata que é assinada pelos Membros da Banca Examinadora, ao(s) treze dias do mês de fevereiro de dois mil e vinte.

TÍTULO SUGERIDO PELA BANCA

Efeito do Extrato Líquido Concentrado Obtido dos Resíduos Agroindustriais dos Frutos de *Myrciaria Cauliflora* Sobre Parâmetros Cardiometabólicos de Ratos Wistar Submetidos ao Modelo de Obesidade Induzida por Glutamato Monossódico



Documento assinado eletronicamente por **Andre Henrique Freiria De Oliveira, Professor do Magistério Superior**, em 13/02/2020, às 16:57, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **James Oluwagbamigbe Fajemiroye, Professor do Magistério Superior**, em 13/02/2020, às 17:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Daniel Alves Rosa, Professor do Magistério Superior**, em 13/02/2020, às 17:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **1157574** e o código CRC **6787E11C**.

Dedico este trabalho aos meus pais e minha irmã por todo o apoio e amor durante todas as fases da minha vida, ao meu namorado, familiares e amigos e a todos aqueles que foram fundamentais na construção deste.

## AGRADECIMENTOS

Á Deus por me abençoar com sabedoria e conhecimento, por estar à frente de todas as minhas escolhas e por permitir os melhores profissionais e companhias durante a minha jornada acadêmica.

Ao Programa Multicêntrico de Pós-graduação em Ciências Fisiológicas (PMPGCF) da Universidade Federal de Goiás pelo apoio e oportunidade.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro para o desenvolvimento deste projeto.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. André Henrique Freiria-Oliveira e Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup> Graziela Torres Blanch, por terem me acompanhado com sabedoria, paciência e críticas construtivas. Por me apoiarem e orientar, agradeço as oportunidades e conhecimento que concederam a mim e principalmente por toda a confiança em meu profissionalismo.

Aos professores que colaboraram para o desenvolvimento deste trabalho, Prof. Dr. Clayson Moura Gomes, Prof<sup>a</sup>. Me. Laiza Barros e Prof. Dr. Leonardo Luiz Borges, agradeço pela dedicação, sabedoria, orientação e contribuição em meu conhecimento científico. Ao Prof. Dr. Edemilson que concedeu o extrato da jabuticaba.

Á todos os professores, mestres, doutores, alunos de IC e técnicos do Centro de Pesquisa em Neurociência e Fisiologia Cardiovascular da UFG e do Laboratório de Fisiologia Experimental da PUC-Goiás, por todo o auxílio, orientação prestados, além das conversas e momentos juntos.

Á minha família minha mãe, ao meu pai, minha irmã por todo o incentivo, amor e força. Pelo apoio e confiança em minhas decisões para formação acadêmica/profissional.

Ao meu namorado, Diarley por todo companheirismo, pelos momentos de sabedoria, e por me apoiar, ser meu ouvinte e porto seguro.

Aos meus amigos Aryanne, Thuanny e Gabriel por terem me ajudado em vários experimentos deste trabalho. A Lara por me auxiliar no criostato e a Keilah por me ensinar as análises histológicas. A Thais por vários momentos me orientar em relação as disciplinas e outros aspectos do PMPGCF, Ariel, Kássia, Florência e Rafael por momentos de descontração e conversas. Muito obrigada.

Aos meus amigos, pela amizade e pelos conselhos em muitos momentos os quais levarei comigo, e familiares que de alguma maneira me apoiaram durante este período.

*“Não desista nas primeiras tentativas,  
a persistência é amiga da conquista”  
(Bill Gates)*

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS</b> .....	X
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	XII
<b>LISTA DE TABELAS</b> .....	XIII
<b>RESUMO</b> .....	XIV
<b>ABSTRACT</b> .....	XV
<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	6
2.1. Objetivo Geral.....	6
2.2. Objetivo Específico .....	6
<b>3. MATERIAIS E METÓDOS</b> .....	7
3.1. Material Vegetal e Obtenção do Extrato .....	7
3.2. Determinação do Teor de Sólidos .....	7
3.3. Doseamento de Fenóis e Flavonoides Totais.....	7
3.4. Modelo Animal .....	8
3.5. Tratamento com o Extrato .....	9
3.6. Parâmetros Biométricos.....	9
3.6.1. Acompanhamento do Peso Corporal e Avaliação da Massa Corpórea.....	9
3.6.2. Índice Cardíaco e Peso dos Órgãos.....	9
3.7. Parâmetros Cardiovasculares.....	10
3.7.1. Registro da Pressão Arterial .....	10
3.7.2. Análise Histológica .....	10
3.8. Parâmetros Hematológicos.....	11
3.9. Parâmetros Bioquímicos.....	11
3.10. Análise Estatística .....	12
<b>4. RESULTADOS</b> .....	13
4.1 Caracterização do Extrato Líquido Concentrado da <i>Myrciaria cauliflora</i> .....	13
4.2 Parâmetros Biométricos.....	14
4.3 Parâmetros Cardiovasculares.....	18
4.4 Parâmetros Hematológicos.....	24
4.5 Parâmetros Bioquímicos .....	26
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	30
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....	35
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	36

**LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS**

AgRP	Proteína Relacionada ao Agouti
ANOVA	Análise de Variância
ARC	Núcleo Arqueado
BE	Balanço Energético
CEUA	Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de Experimentação
CHCM	Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média
CLAE	Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CLT	Colesterol Total
CT	Controle
CT+E	Controle Tratados com o Extrato da Jabuticaba
CTs	Referente aos grupos CT e CT+E
ECJ	Extrato Líquido Concentrado da Jabuticaba
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-acético
ELISA	Ensaio Imunoenzimático
EM	Eminência Mediana
EPM	Erro Padrão da Média
FC	Frequência Cardíaca
GH	Hormônio do Crescimento
GHRH	Hormônio Liberador do Hormônio do Crescimento
Hb	Hemoglobina
HCM	Hemoglobina Corpuscular Média
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HL	Área Lateral
Hm	Hemácias
Ht	Hematócrito
IC <sub>50</sub>	Metade da Concentração Inibitória Máxima
IL-10	Interleucina 10
IL-4	Interleucina 4
IL-6	Interleucina 6

KCN	Cianeto de Potássio
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MSG	Glutamato Monossódico
MSG+E	Glutamato Monossódico Tratados com o Extrato da Jabuticaba
MSGs	Referente aos grupos MSG e MSG+E
NPS	Nitroprussiato de Sódio
NPY	Neuropeptídio Y
OCDE	Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico
PA	Pressão Arterial
PAM	Pressão Arterial Média
PAP	Pressão Arterial Pulsátil
POMC	Pró-ópio-melanocortina
PUC Goiás	Pontifícia Universidade Católica de Goiás
PV/CT	Peso dos Ventrículos (PV) dividido pelo Comprimento da Tíbia (CT)
PVN	Núcleo Paraventricular
RDW	<i>Red Cell Distribution Width</i>
SD	Desvio Padrão
SG	Sistema Gustatório
SNC	Sistema Nervoso Central
TG	Triglicérides
TGI	Trato Gastrointestinal
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral-alfa
VCM	Volume Corpuscular Médio
VLDL	Lipoproteína de Muita Baixa Densidade
$\alpha$ -MSH	Hormônio Estimulante Alfa-melanócito

**LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1.</b> Vias de sinalização envolvidas no balanço energético.....	2
<b>Figura 2.</b> Imagem ilustrativa dos frutos da Jabuticaba - <i>Myrciaria cauliflora</i> (Arquivo pessoal).....	4
<b>Figura 3.</b> Esquema representativo do delineamento experimental.....	12
<b>Figura 4.</b> Variação do Peso Corporal no decorrer de 60 dias.....	14
<b>Figura 5.</b> Parâmetros Biométricos .....	15
<b>Figura 6.</b> Peso Relativo das Gorduras.....	16
<b>Figura 7.</b> Índice Cardíaco e Peso Relativo dos Órgãos.....	17
<b>Figura 8.</b> Pressão Arterial Media (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) Basais .....	18
<b>Figura 9.</b> Barorreflexo, Infusão de Fenilefrina.....	20
<b>Figura 10.</b> Barorreflexo, Infusão de Nitroprossiato de Sódio .....	21
<b>Figura 11.</b> Quimiorreflexo, Infusão de Cianeto de Potássio .....	22
<b>Figura 12.</b> Avaliação Histológica do Tecido Cardíaco .....	23
<b>Figura 13.</b> Perfil Lipídico Plasmático .....	27
<b>Figura 14.</b> Citocinas Plasmáticas .....	28
<b>Figura 15.</b> Perfil Renal Plasmático .....	29

**LISTA DE TABELAS**

<b>Tabela 1.</b> Composição do Extrato Líquido Concentrado da <i>Myrciaria cauliflora</i> .....	13
<b>Tabela 2.</b> Parâmetros Eritrocitários e Plaquetarios .....	24
<b>Tabela 3.</b> Parâmetros Leucocitários .....	25

## RESUMO

A obesidade é uma doença multifatorial que se desenvolve a partir do desequilíbrio no balanço energético (BE). A lesão no núcleo arqueado do hipotálamo em roedores promove desequilíbrio no BE, bioquímico e hormonal resultando no excesso de armazenamento de gordura corporal no organismo. O extrato líquido concentrado do resíduo do fruto da jabuticaba – *Myrciaria cauliflora* (ECJ) tem se tornado promissor na prevenção/tratamento de doenças crônicas, como a obesidade, por apresenta compostos bioativos e propriedades antioxidantes. O propósito deste trabalho foi de analisar os efeitos do ECJ (3%) sobre a massa corporal, pressão arterial, parâmetros hematológicos e bioquímicos em ratos obesos por glutamato monossódico (MSG). Nos primeiros dias de vida, os ratos receberam injeções subcutâneas na região cervical posterior de MSG (4 mg/g) e ratos controle injeções de salina isotônica (0,9%). Após o período de desmame (21 dias), os animais foram distribuídos em 4 grupos experimentais, tratados ou não por 60 dias com o ECJ (3%) por gavagem, grupo 1: controle (CT); grupo 2: controle tratado com o extrato (CT+E); grupo 3: glutamato monossódico (MSG); grupo 4: glutamato monossódico tratado com o extrato (MSG+E). Em nosso estudo os ratos que receberam injeções do MSG com ou sem o ECJ (3%) apresentaram: menor ganho de peso corporal e comprimento naso/anal, maior índice de Lee e peso das gorduras: retroperitoneal, inguinal e epididimal, menor índice cardíaco, menor peso do fígado e dos rins e linfocitopenia. Os ratos que receberam somente o MSG, apresentaram aumento da pressão arterial média (PAM), aumento dos níveis de triglicerídeos (TG) e lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), leucopenia, aumento relativo de monócitos, eosinófilos e basófilos. O grupo MSG+E demonstrou valores da PAM, dos TG, VLDL e leucócitos semelhantes dos animais CT+E e menor nível da lipoproteína de baixa densidade (LDL). Não foram observadas diferenças significativas histológicas no tecido cardíaco, no colesterol total, lipoproteína de alta densidade, e nos níveis de fator de necrose tumoral alfa, interleucina 6, interleucina 4 e interleucina 10, nos animais. A partir disto, concluímos que o MSG foi eficaz em induzir o modelo de obesidade e que o tratamento com o ECJ (3%) por 60 dias demonstrou ação protetiva benéfica mediante a PAM, TG, VLDL e LDL alterados pela obesidade.

Palavras-chave: Extrato; Jabuticaba; Obesidade; Núcleo Arqueado; Metabolismo.

## ABSTRACT

Obesity is a multifactorial disease that develops from an imbalance in the energy balance (EB). The lesion in the arcuate nucleus of the hypothalamus in rodents causes an imbalance in EB, biochemical and hormonal resulting in excess body fat storage in the body. The concentrated liquid extract of the residue of the fruit of the jaboticaba - *Myrciaria cauliflora* (ECJ) has become promising in the prevention/treatment of chronic diseases, such as obesity, due to its bioactive compounds and antioxidant properties. The purpose of this work was to analyze the effects of ECJ (3%) on body mass, blood pressure, hematological and biochemical parameters in obese rats with monosodium glutamate (MSG). In the first days of life, the rats received subcutaneous injections in the posterior cervical region of MSG (4 mg/g) and control rats injected with isotonic saline (0.9%). After the weaning period (21 days), the animals were distributed in 4 experimental groups, treated or not for 60 days with the ECJ (3%) by gavage, group 1: control (CT); group 2: control treated with the extract (CT+E); group 3: monosodium glutamate (MSG); group 4: monosodium glutamate treated with the extract (MSG+E). In our study, rats that received injections of MSG with or without ECJ (3%) had: lower body weight gain and nasal/anal length, higher Lee index, and fat weight: retroperitoneal, inguinal and epididymal, lower cardiac index, lower liver and kidney weight, and lymphocytopenia. The rats that received only MSG showed an increase in mean blood pressure (MAP), increased levels of triglycerides (TG), and very-low-density lipoprotein (VLDL), leukopenia, the relative increase in monocytes, eosinophils and basophils. The MSG+E group demonstrated values of MAP, TG, VLDL, and leukocytes similar to those of animals CT+E and a lower level of low-density lipoprotein (LDL). There were no significant histological differences in cardiac tissue, total cholesterol, high-density lipoprotein, and in levels of tumor necrosis factor-alpha, interleukin 6, interleukin 4 and interleukin 10, in animals. From this, we concluded that the MSG was effective in inducing the obesity model and that the treatment with ECJ (3%) for 60 days demonstrated a beneficial protective action through PAM, TG, VLDL, and LDL altered by obesity.

Keywords: Extract; Jaboticaba; Obesity; Arcuate Nucleus; Metabolism.

## 1. INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença multifatorial emergente na sociedade, de acordo com dados da Organização Mundial da Saúde, a prevalência mundial da obesidade triplicou entre 1975 e 2016, sendo estimado mais de um bilhão de adultos com sobrepeso (1). No Brasil, o Ministério da Saúde demonstrou que a obesidade cresceu cerca de 67% em dez anos, promovendo cada vez mais a instalação de várias doenças como hipertensão arterial, diabetes e problemas respiratórios (2).

De acordo com projeções divulgadas pela Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OCDE), os gastos com o tratamento das doenças predispostas pela obesidade poderão reduzir em 5,5% o Produto Interno Bruto brasileiro, entre 2020 e 2050, prejudicando assim o crescimento econômico do Brasil (3).

A obesidade se desenvolve a partir do desequilíbrio no balanço energético (BE) do organismo. Desta forma tem-se vários aspectos envolvidos em sua gênese, desde que o BE resulta da interação entre ambiente, genes, fatores emocionais e sistema nervoso central (SNC) (4–6). O SNC tem papel fundamental no controle do equilíbrio energético, envolvendo um conjunto de mecanismos, que abrange desde a parte sensorial como, olfato e paladar até a parte do processamento energético/metabólico dos nutrientes (6).

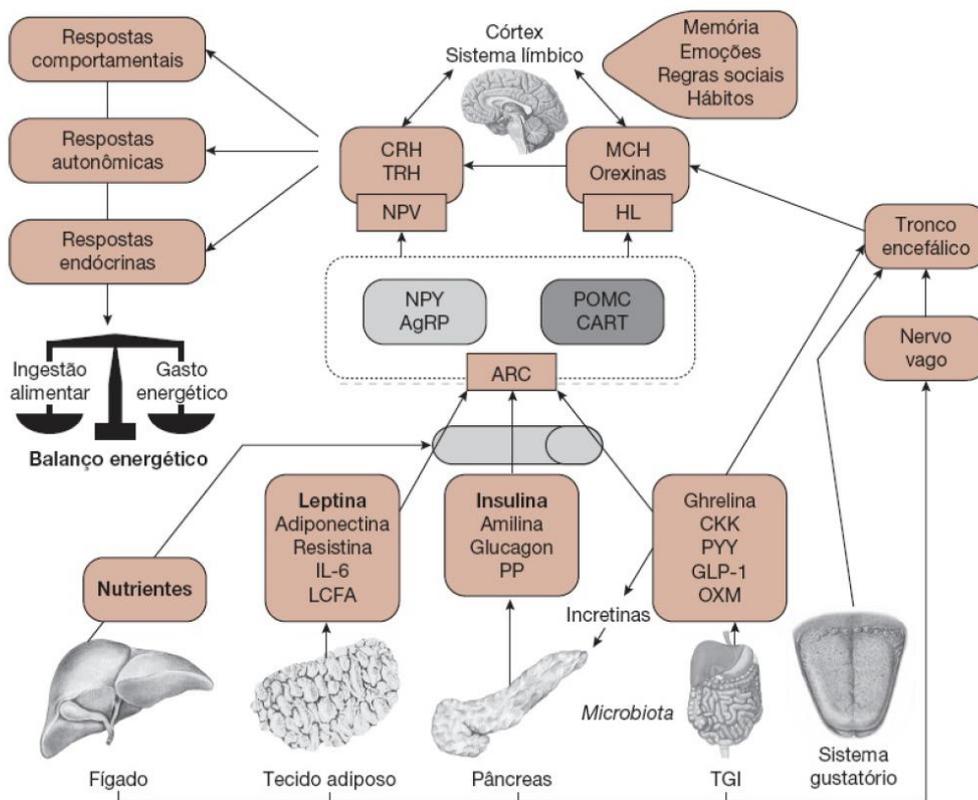
O controle da ingestão e do gasto energético é mediado pelo SNC, através de sinais periféricos provindos de órgãos como, tecido adiposo, sistema gustatório (SG), fígado, trato gastrointestinal (TGI) e pâncreas que indicam como estão os estoques de gordura/energia no organismo (7) (Fig.1). Os sinais metabólicos como hormônios e nutrientes, chegam ao SNC através da circulação, atravessam a barreira hematoencefálica e ligam-se em receptores localizados em populações de neurônios no núcleo arqueado (ARC) no hipotálamo (8,9).

Dentre estes hormônios podemos citar: a grelina produzida por células do estômago atuando em receptores de neurônios do ARC, estimulando o apetite gerando sensação de fome. A leptina, liberada por adipócitos que atuam no ARC promovendo a diminuição da ingestão de alimentos e a insulina liberada por células betas pancreáticas, que semelhante a leptina proporciona a sensação de saciedade (10).

O ARC está localizado próximo a eminência mediana (EM) e é composto por dois tipos diferentes de populações neuronais, denominados de neurônios de 1º ordem, que são: os neurônios que estimulam o apetite através da secreção do neuro-

peptídio Y (NPY) e da proteína relacionada ao Agouti (AgRP); e a população de neurônios que inibem o apetite através da pró-ópio-melanocortina (POMC) e do hormônio estimulante alfa-melanócito ( $\alpha$ -MSH), ambos com funções antagônicas (8,11). Destes neurônios, partem conexões para outros núcleos do hipotálamo, como, para a área lateral (HL) e para o núcleo paraventricular (PVN) que constituem os neurônios de 2º ordem (9).

A maioria dos sinais metabólicos periféricos principalmente provindos do TGI e do SG chegam ao SNC através de aferentes vagais e do tronco encefálico. O córtex e o sistema límbico também fazem parte dos mecanismos de controle, pois proporcionam a associação entre memórias, emoções, regras sociais e hábitos. Assim, a integração de todos estes mecanismos proporcionam respostas comportamentais, autonômicas e endócrinas que resultam no equilíbrio do balanço energético (7) (Fig.1).



Tratado de obesidade / Marcio C. Mancini et. al. – Capítulo 9, 2. ed. - Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2015.

**Figura 1.** Vias de sinalização envolvidas no balanço energético.

Além de integrar os mecanismos que fazem parte do controle do balanço energético, o ARC também participa do controle do hormônio do crescimento (GH) (12). Os neurônios que sintetizam o hormônio liberador do hormônio do crescimento (GHRH) estão distribuídos no núcleo ventromedial e principalmente no ARC sendo considerado a fonte primária de GHRH, além disso, por estar localizado próximo a EM favorece a comunicação do sistema porta hipotálamo – hipofisário (13). O GH é sintetizado por células hipofisárias, regulado por hormônios hipotalâmicos (GHRH e somatostatina) e exerce funções lipolíticas e anabólicas no metabolismo energético (12).

O aumento da ingestão calórica e o menor gasto energético promovem um balanço energético positivo no organismo, que contribui no armazenamento crônico de gordura corporal (4,5). Por muitos anos, as mudanças nos hábitos de vida da sociedade, como o consumo de alimentos industrializados e a falta de exercício físico, foram um dos fatores que contribuíram para a prevalência da obesidade (14). Porém, como citado anteriormente, sabe-se que vários mecanismos estão envolvidos no balanço energético, principalmente o ARC do hipotálamo.

Portanto, alterações funcionais ou inflamatórias, á nível do núcleo arqueado promovem desequilíbrio no balanço energético, bioquímico e hormonal, que auxilia no excesso de armazenamento de gordura corporal e inflamação de baixo grau no organismo (9). Em roedores, a lesão do ARC promove alterações no metabolismo energético característicos ao da obesidade, podendo assim serem utilizados em estudos (15,16). Essa lesão pode ser feita através do uso de agentes químicos como o glutamato monossódico (MSG) (17).

No organismo, o glutamato faz parte da classe de aminoácidos não essenciais metabolizados pelo fígado e participa de várias funções biológicas relacionadas ao metabolismo celular, sendo um dos principais neurotransmissores do SNC (18,19). Já nos alimentos está presente a partir de sua forma ionizada glutamato monossódico (glutamato ligado à molécula de sódio), que ao longo dos anos se tornou muito utilizada pela indústria alimentícia por proporcionar um sabor saboroso - “umami”- aos alimentos (18).

Assim, ao ser aplicado de forma subcutânea na região cervical posterior em ratos e camundongos recém-nascidos o MSG tem a capacidade de dissociar-se e desencadear funções de neurotransmissor excitatório. Sendo assim, em altas con-

centrações o MSG tem a capacidade de danificar as populações neuronais do ARC, resultando no desenvolvimento de uma obesidade neurogênica, com alterações na reprodução, no metabolismo e no crescimento, observados na fase adulta (16,20). Dentre essas alterações constam: o baixo consumo de alimentos, a disfunção endócrina, o aumento de parâmetros inflamatórios, resistência à insulina e aumento da gordura corporal nestes animais (21,22).

Como a obesidade se tornou um problema de saúde pública, organizações governamentais têm proposto políticas mundiais de prevenção e tratamento, incluindo estratégias diversas, como reeducação alimentar, pesquisas nutricionais e principalmente o estudo com plantas medicinais (fitoterapia) (14,23,24).

Plantas do gênero *Myrciaria* pertencente à família *Myrtaceae* têm sido cada vez mais estudadas por demonstrarem capacidade de desenvolver atividades biológicas no organismo (24). Atividades estas, que estão relacionadas aos diversos metabolitos secundários presentes em diferentes partes das plantas. Entre as espécies frutíferas dessa família podemos destacar a jabuticaba, *Myrciaria cauliflora* (Fig.2), a qual possui compostos fenólicos presentes no fruto (25).



**Figura 2.** Imagem ilustrativa dos frutos da Jabuticaba - *Myrciaria cauliflora* (Arquivo pessoal).

Os frutos da jabuticaba são compostos pela semente, polpa e casca e os principais compostos fenólicos presente são: antocianinas (cianidina-3-O-glicosídeo e delphinidina-3-O-glicosídeo), taninos, ácido gálico, ácido elágico, isoquercitrina, quercitrina, sendo encontrado a maior concentração destes compostos presente na casca (25). Os fenóis são os responsáveis por desencadear as ativida-

des biológicas anti-inflamatória, anti-oxidante, anti-obesidade, hipoglicêmica, e entre outras (26).

O uso do extrato da casca de jabuticaba em modelos experimentais alimentados com dieta rica em gordura demonstrou promover alterações benéficas no perfil glicêmico e lipídico como, diminuição da glicemia, diminuição dos triglicerídeos e aumento nos níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL) (27,28). O estudo de Dragano e colaboradores (2013) (27), observou melhoras na sensibilidade à insulina em camundongos alimentados com uma dieta rica em gordura acrescida do pó da casca da jabuticaba liofilizada. Através em parte da inibição da via NF-kB de sinalização de estresse celular, durante a inflamação evitando o desenvolvimento da resistência a insulina demonstrando assim, um dos efeitos anti-inflamatórios do extrato.

Além do consumo *in natura*, dos frutos também são feitos produtos industrializados como, geleias, sucos e produtos fermentados, como vinhos e licores (29). No processo final de fabricação industrial destes produtos, as cascas do fruto da jabuticaba são descartadas como resíduos. Uma vez que a casca e as sementes constituem 50 % do fruto, o aproveitamento destes resíduos da jabuticaba se tornam promissores, por desenvolverem subprodutos, com compostos essenciais com ações benéficas, sendo de forma sustentável e diminuindo o desperdício alimentar (30).

Desta forma, o subproduto da jabuticaba apresenta ser uma rica fonte de compostos bioativos, como tocoferóis, frações de ácidos graxos poli-insaturados e compostos fenólicos com alta atividade antioxidante (31). As atividades biológicas descritas na literatura são desencadeadas por extratos provindos diretamente dos frutos da jabuticaba, assim nosso estudo, avaliou um extrato líquido concentrado obtido de resíduos agroindustriais de frutos da jabuticaba submetidos a fermentação.

## 2. OBJETIVO

### 2.1 Objetivo Geral:

Analisar os efeitos do extrato líquido dos frutos da *Myrciaria cauliflora*, em modelo de obesidade induzida por glutamato monossódico.

### 2.2 Objetivos Específicos:

Avaliar em ratos obesos, o efeito do extrato líquido dos frutos da jabuticaba, sobre:

- a) Parâmetros biométricos no:
  - acompanhamento do peso corporal e avaliação da massa corpórea;
  - índice cardíaco e peso dos órgãos.
- b) Parâmetros cardiovasculares na:
  - pressão arterial e frequência cardíaca;
  - histologia do tecido cardíaco.
- c) Parâmetros hematológicos no:
  - perfil eritrocitário;
  - perfil leucocitário.
- d) Parâmetros bioquímicos plasmáticos, como no(a):
  - perfil lipídico;
  - presença de citocinas;
  - perfil renal.

### **3. MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1. Material Vegetal e Obtenção do Extrato**

As cascas (resíduos) da jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) foram doadas pela vinícola Jaboticabal de Hidrolândia, Goiás, Brasil (16° 55 '32.35" S;49°21'39.76" W). As cascas foram secas em estufa a 40°C com circulação de ar, o material seco foi pesado e triturado em moinho de facas e armazenado em recipientes protegidos de luz e umidade até o processo de percolação. O processo de percolação consiste no pré-intumescimento do material vegetal com a mistura hidroalcoólica; após esta fase foi realizada a maceração intermediária do material, seguida por último da percolação (fluxo  $\approx$  0,2 mL/min) através de solução hidroalcoólica à 45% (v/v). A concentração do extrato foi obtida através de rotaevaporação do material a 40°C (32). Sendo armazenado na geladeira (2 a -2°C). O extrato líquido concentrado da jaboticaba (ECJ) foi fornecido pelo professor Dr. Edemilson Cardoso da Conceição, da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Goiás.

#### **3.2. Determinação do Teor de Sólidos**

O teor de sólidos do extrato foi obtido através de uma balança de infravermelho (105°C) com lâmpada halógena (IV3100 Gehaka). As análises foram realizadas em triplicata.

#### **3.3. Doseamento de Fenóis e Flavonoides Totais**

Para a análise dos fenóis totais foi utilizado o método de Hagerman e Butler (1978) adaptado Waterman e Mole (1987) (fator de diluição de 500x) (33,34). A quantificação de flavonoides totais foi realizada por meio do método de Rolim e colaboradores (2005)(35).

### 3.4. Modelo Animal

A pesquisa, os protocolos e os cuidados com os animais, foram seguidos de acordo com os princípios, orientações e aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa com Animais de experimentação (CEUA nº 4204250718 – PUC Goiás).

Os ratos Wistar utilizados foram provenientes do biotério setorial da área V, campus I, da Escola de Ciências Médicas, Farmacêuticas e Biomédicas da Pontifícia Universidade Católica de Goiás (PUC Goiás). Todos os animais do experimento ficaram em ambiente específico, com temperatura e iluminação (ciclo claro/escuro 12 horas) controladas, recebendo água e alimento “*ad libitum*”. Esses animais, foram colocados em caixas de polipropileno com maravalha, acondicionados em grupos (máximo 4 animais/caixa) ou individualmente, de acordo com cada período experimental.

Ratas em idade reprodutiva (60 a 70 dias de idade) foram colocadas junto a machos para acasalamento (2:1). Após este período, as ratas foram separadas em caixas para o nascimento dos filhotes. Após o nascimento foram alocados 8 filhotes por fêmea (adaptação da ninhada) para o período de lactação. Para identificar os filhotes machos, utilizados nos protocolos deste projeto, foi realizada identificação da sexagem, baseada na distância ano-genital dos filhotes, sendo a distância no macho bem maior do que na fêmea.

Durante os primeiros cinco dias de vida, os filhotes (machos) foram separados inicialmente em dois grupos: o grupo modelo de obesidade que recebeu injeções subcutâneas na região cervical posterior de glutamato monossódico (4 mg/g) e o grupo controle que recebeu injeções de salina isotônica (0,9%). Depois dos 5 dias de vida, os filhotes ficaram em observação durante todo o período de lactação. Após o desmame (21 dias de vida), os dois grupos iniciais, foram separados novamente, totalizando 4 grupos experimentais, os quais receberam ou não tratamento com ECJ (3%) por meio de gavagem, pelo período de 60 dias, grupo 1: controle (CT); grupo 2: controle tratados com o extrato da jabuticaba (CT+E); grupo 3: glutamato monossódico (MSG); e grupo 4: glutamato monossódico tratados com o extrato da jabuticaba (MSG+E).

### **3.5. Tratamento com o Extrato**

Para ser administrado aos animais, o ECJ foi diluído em água filtrada, para uma solução de 3% do ECJ (3 mL extrato para 100 mL água filtrada), a qual foi armazenada em recipiente e colocada na geladeira (2°C) durante o período experimental.

O ECJ (3%) foi administrado através da via intragástrica (gavagem), que consistiu na introdução de uma sonda (nº 02 - EMBRAMED) pela boca até o estômago do animal, previamente imobilizado para o experimento. A sonda estava acoplada a uma seringa descartável contendo solução de água ou ECJ (3%). Este procedimento foi realizado por 60 dias e cada animal do grupo CT+E e MSG+E receberam 1 mL de extrato (3%), e os animais do grupo CT e MSG receberam 1 mL de água filtrada por dia. A administração do extrato e da água foram realizados em horário padronizado.

### **3.6. Parâmetros Biométricos**

#### **3.6.1. Acompanhamento do Peso Corporal e Avaliação da Massa Corpórea**

Os ratos foram pesados duas vezes por semana em balança digital durante os 60 dias de tratamento. Ao final do experimento a massa corpórea foi avaliada através do Índice de Lee, que consiste na raiz cúbica do peso corporal em gramas (g) dividida pelo comprimento nasal-anal em centímetros (cm) e multiplicando-se o resultado por 1000 ( $\sqrt[3]{g/cm} \times 1000$ ). Além disso, após a eutanásia os animais também tiveram suas gorduras (retroperitoneal, inguinal e epididimal) retiradas e pesadas em balança analítica (GEHAKA - AG200).

#### **3.6.2. Índice Cardíaco e Peso dos Órgãos**

Após a coleta das amostras sanguíneas, os animais tiveram os órgãos, coração, fígado e rins, retirados, limpos e pesados em balança analítica (GEHAKA - AG200). O índice cardíaco foi calculado através do peso dos ventrículos (PV) dividido pelo comprimento da tíbia (CT) (PV/CT- mg/mm). A correção dos pesos dos órgãos, fígado e rins foram feitas através do comprimento da tíbia (peso do órgão dividido pelo comprimento da tíbia), utilizando a unidade de medida de g/cm.

### **3.7. Parâmetros Cardiovasculares**

#### **3.7.1 Registro da Pressão Arterial**

Passados os 60 dias de tratamento os ratos foram anestesiados com cetamina (80 mg/kg – peso corporal) mais xilazina (7 mg/kg de peso corporal) para canulação da veia e artéria femoral, utilizando cateteres de tubos de polietileno (PE-10 e PE-50). Depois da cirurgia os animais receberam intramuscularmente analgésico flunixinina (2 mg/kg). No dia seguinte, a cânula da artéria foi acoplada a um transdutor de pressão, vinculado a dois componentes: um amplificador de sinal (ETH-200 CB SCIENCES INC) e um sistema de análise e aquisição de resultados (PowerLab, ADInstruments). Sendo assim, foi registrada a frequência cardíaca (FC) calculada como a frequência instantânea do sinal de pressão arterial (PA), a pressão arterial pulsátil (PAP) e pressão arterial média (PAM). Após um período basal de registro, foi então injetados intravenosamente fenilefrina (1 µg/mL, 1,5 µg/mL e 2 µg/mL; 0,1 mL. Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) e nitroprussiato de sódio - NPS (10 µg/mL, 15 µg/mL e 20 µg/mL; 0,1 mL. Vetec, Duque de Caxias, RJ, Brasil) para testar o baror-reflexo e cianeto de potássio - KCN (40 µg/mL, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, EUA) para testar o quimirreflexo. Todas as injeções foram realizadas com um intervalo mínimo de 10 minutos, até que a PA e FC retornaram para os valores basais.

#### **3.7.2 Analise Histológica**

Foi realizada a análise histológica do tecido cardíaco. As lâminas das amostras foram confeccionadas através da técnica de processamento histológico em parafina, a qual consiste nas etapas de fixação do material (formol 10%), clivagem, desidratação (série alcoólica), inclusão (em parafina), microtomia dos blocos (corte-5µm- Leica biosystems) e coloração (hematoxilina e eosina). Para avaliar o colágeno no tecido foi feita coloração com o corante Tricrômico de Masson.

A coleta das imagens do tecido cardíaco foi realizada através do software de aquisição de imagens para sistemas operacionais Windows "EZ" Leica (LAS EZ) em associação ao microscópio óptico (objetiva de 40x e 100x). A análise do diâmetro dos cardiomiócitos e da fibrose perivascular foram realizadas através do software de Bio-Imagem Icy (versão 2.0.3.0). A análise da fibrose intersticial foi analisada pelo software Image-Pro Plus (versão 6.0.0.260).

### **3.8. Parâmetros Hematológicos**

Vinte quatro horas após o registro da pressão arterial os ratos foram anestesiados com tiopental (80mg/por peso corporal) por via intraperitoneal, a caixa torácica foi aberta e através da punção cardíaca foram feitas as coletas de amostra de sangue total em tubos de ensaio contendo solução anticoagulante (EDTA).

O hemograma foi realizado a partir de equipamento automatizado (ABX PEN-TRA 60), para os parâmetros: contagem de hemácias (Hm), hemoglobina (Hb), hematócrito (Ht), volume corpuscular médio (VCM), hemoglobina corpuscular média (HCM), concentração de hemoglobina corpuscular média (CHCM), distribuição de volume eritrocitário (RDW), contagem de leucócitos (neutrófilos, linfócitos, monócitos, eosinófilos) e plaquetas.

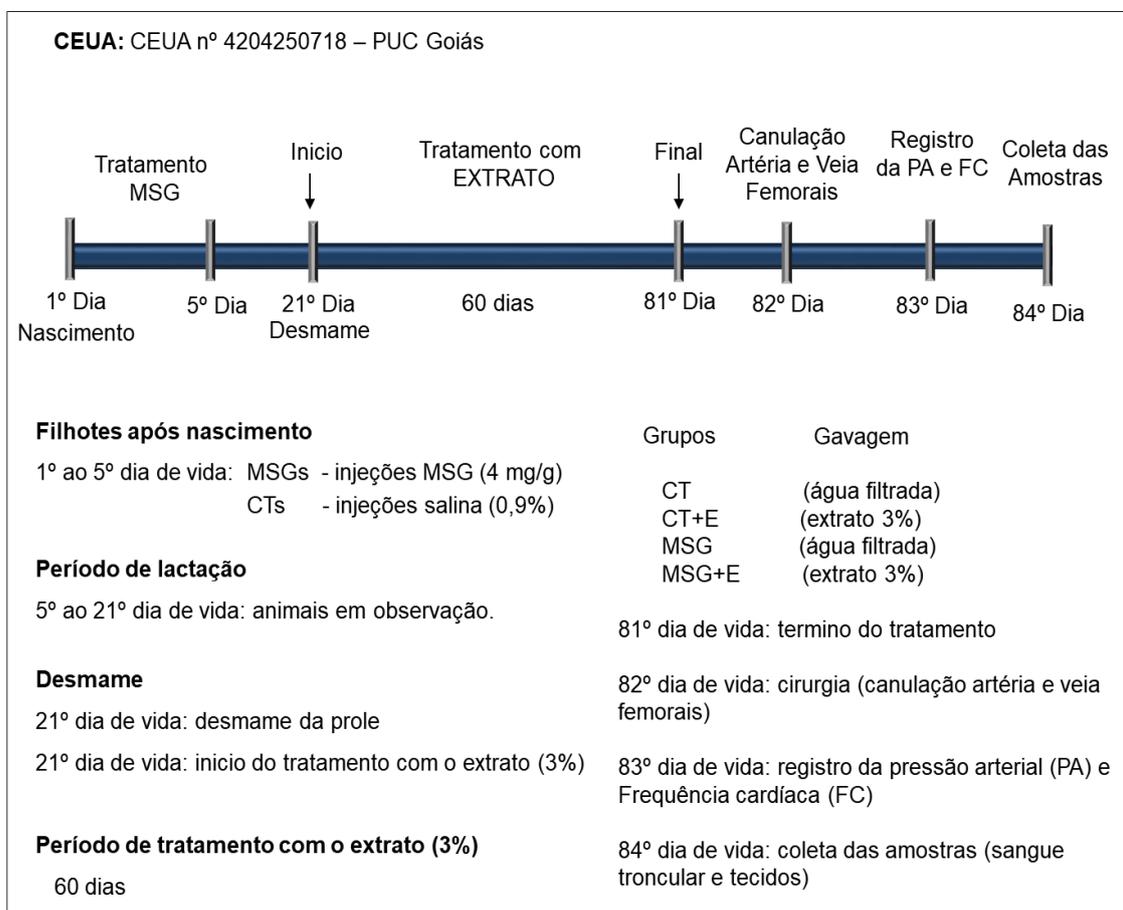
### **3.9. Parâmetros Bioquímicos**

As amostras sanguíneas para as análises bioquímicas foram coletadas em tubos de ensaio estéreis com anticoagulante (heparina) os quais em seguida foram centrifugados (1000g por 10 min.), o plasma foi separado em eppendorfs e as amostras foram congeladas (-20 °C). Os parâmetros avaliados consistiram nos níveis de triglicérides (TG), colesterol total (CLT) e da lipoproteína de alta densidade (HDL) nos animais, as dosagens foram mensuradas através de kits bioquímicos (Labtest Diagnóstica S.A.). A partir destas dosagens foi realizado o cálculo das frações de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL) através da equação de Friedewald (Labtest Diagnóstica S.A.).

As dosagens de creatinina e ureia plasmáticas foram realizadas através de kits bioquímicos de método cinético (Laborclin produtos para laboratórios Ltda). Também foi feita a avaliação de citocinas plasmáticas como o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), interleucina 6 (IL-6), interleucina 4 (IL-4), interleucina 10 (IL-10). Os marcadores citados foram dosados por meio do método de ensaio imunoenzimático (ELISA) kits (BD OptEIA™ Rat), cujas placas foram analisadas através de leitora de ELISA (BIOLISA READER, BIOCLIN ©) à 455/620 nm.

### 3.10. Análise Estatística

As construções dos gráficos foram realizadas através do programa GraphPad Prism 7.0 de acordo com dados tabulados no Microsoft Excel 2016 ®. Os resultados obtidos foram representados através da média  $\pm$  erro padrão da media (EPM), a comparação entre os grupos foram feitas por meio do teste estatístico Análise de Variância (ANOVA) One-way, seguido por teste de Tukey. A análise dos dados da variação do peso corporal foram realizados por Two-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Sendo considerados para todas as análises valores  $p < 0,05$  significativos.



**Figura 3.** Esquema representativo do delineamento experimental.

## 4. RESULTADOS

### 4.1. Caracterização do Extrato Líquido Concentrado da *Myrciaria cauliflora*

A análise físico química do extrato demonstrou teor de voláteis de  $83,6 \pm 1,2\%$ , teor de sólidos  $16,4 \pm 1,2\%$ . Teor de fenóis totais  $4,62\%$  e flavonoides totais  $1,17 \pm 0,02\%$ . Sendo o teor de fenóis e flavonoides totais obtidos a partir do teor de sólidos (Tabela 1).

Tabela 1

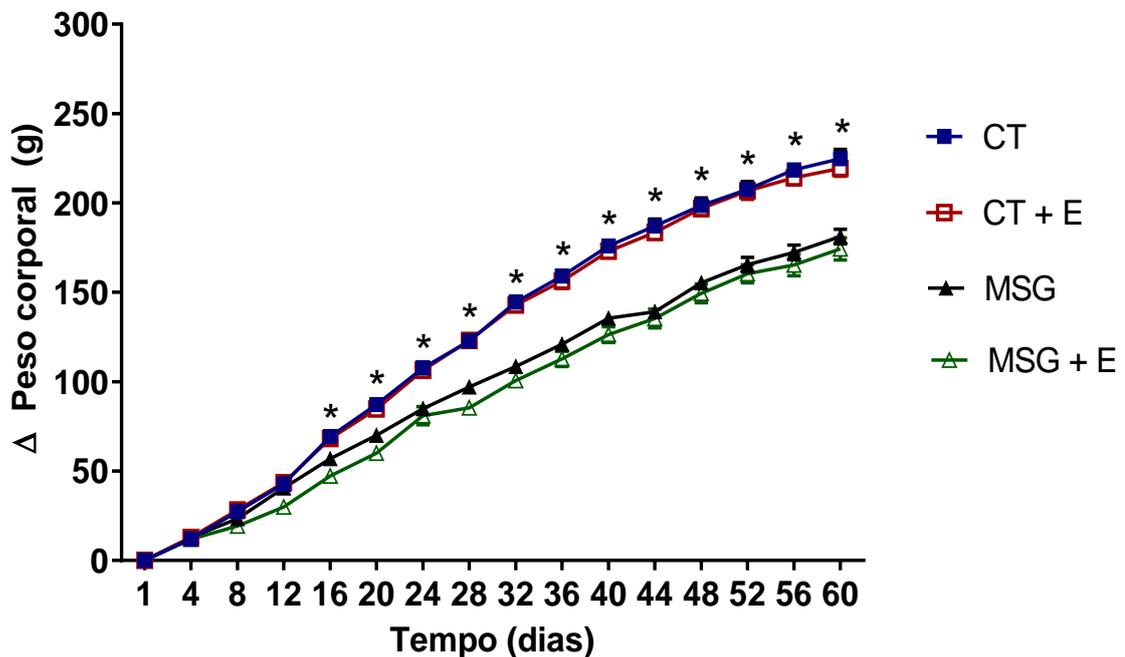
Composição do Extrato Líquido Concentrado da *Myrciaria cauliflora*

Componentes	Média $\pm$ SD
Teor de Sólidos (%)	$16,4 \pm 1,2$
Teor de Fenóis Totais (%)	$4,62 \pm 0,0$
Teor de Flavonoides Totais (%)	$1,17 \pm 0,02$

Tabela 1 - Compostos do extrato líquido concentrado da jabuticaba. Os valores estão expressos em média  $\pm$  desvio padrão (SD).

## 4.2. Parâmetros Biométricos

Durante os 60 dias de experimento foi possível observar que os ratos que receberam injeções subcutâneas na região cervical de glutamato monossódico, MSG ( $\Delta$  peso  $57 \pm 1,0g$ ) e MSG+E ( $\Delta$  peso  $47 \pm 1,7g$ ) demonstraram menor peso corporal começando a partir de 16 dias em relação aos grupos controles, CT ( $\Delta$  peso  $69 \pm 2,0g$ ) e CT+E ( $\Delta$  peso  $68 \pm 3,1g$ ), que receberam salina a 0,9%. (Fig.4).



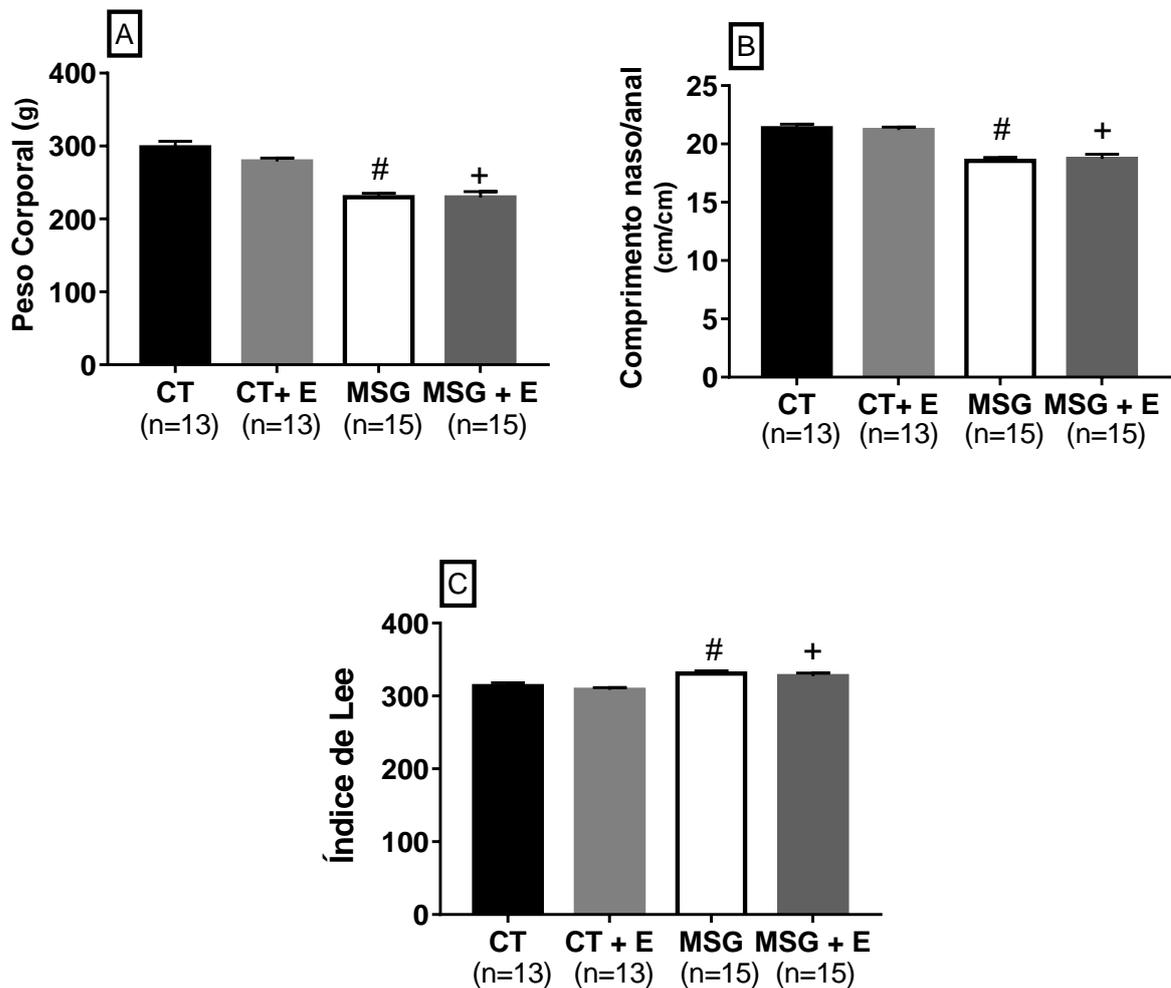
**Figura 4.** Variação do Peso Corporal no decorrer de 60 dias.

Os valores estão expressos em Média  $\pm$  EPM, analisados através do Two-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas:  $*p < 0,05$ . Grupo controle, CT (n=16); controle mais extrato, CT+E (n=15); glutamato monossódico, MSG (n=17); e glutamato monossódico mais o extrato, MSG+E (n=17).

Ao final dos 60 dias os ratos que receberam injeções no período neonatal de MSG independente do tratamento com o extrato, demonstraram menor peso corporal final, quando comparado aos seus respectivos grupos controles (MSG  $229 \pm 5,4$  g vs. CT  $298 \pm 8,3$  g; e MSG+E  $229 \pm 8,1$  g vs. CT+E  $279 \pm 4,7$  g; Fig.5A). Corroborando com o resultado demonstrado anteriormente referente a variação do peso corporal (Fig.4). Os mesmo dois grupos de animais, também demonstraram menor crescimento, constatado através do comprimento naso/anal em relação aos grupos con-

troles (MSG  $19 \pm 0,3$  cm vs. CT  $21 \pm 0,4$  cm; Fig.5B) e (MSG+E  $19 \pm 0,4$  cm vs. CT+E  $21 \pm 0,3$  cm; Fig.5B).

Contudo, quanto ao índice de Lee pode se observar que os grupos MSG ( $331 \pm 3,9$ ) e MSG+E ( $327 \pm 4,2$ ) (Fig.5C), mesmo que tiveram um menor peso corporal, demonstraram aumento da adiposidade corporal comparado aos seus grupos controles, CT ( $314 \pm 4,6$ ) e CT+E ( $308 \pm 3,2$ ) (Fig.5C).

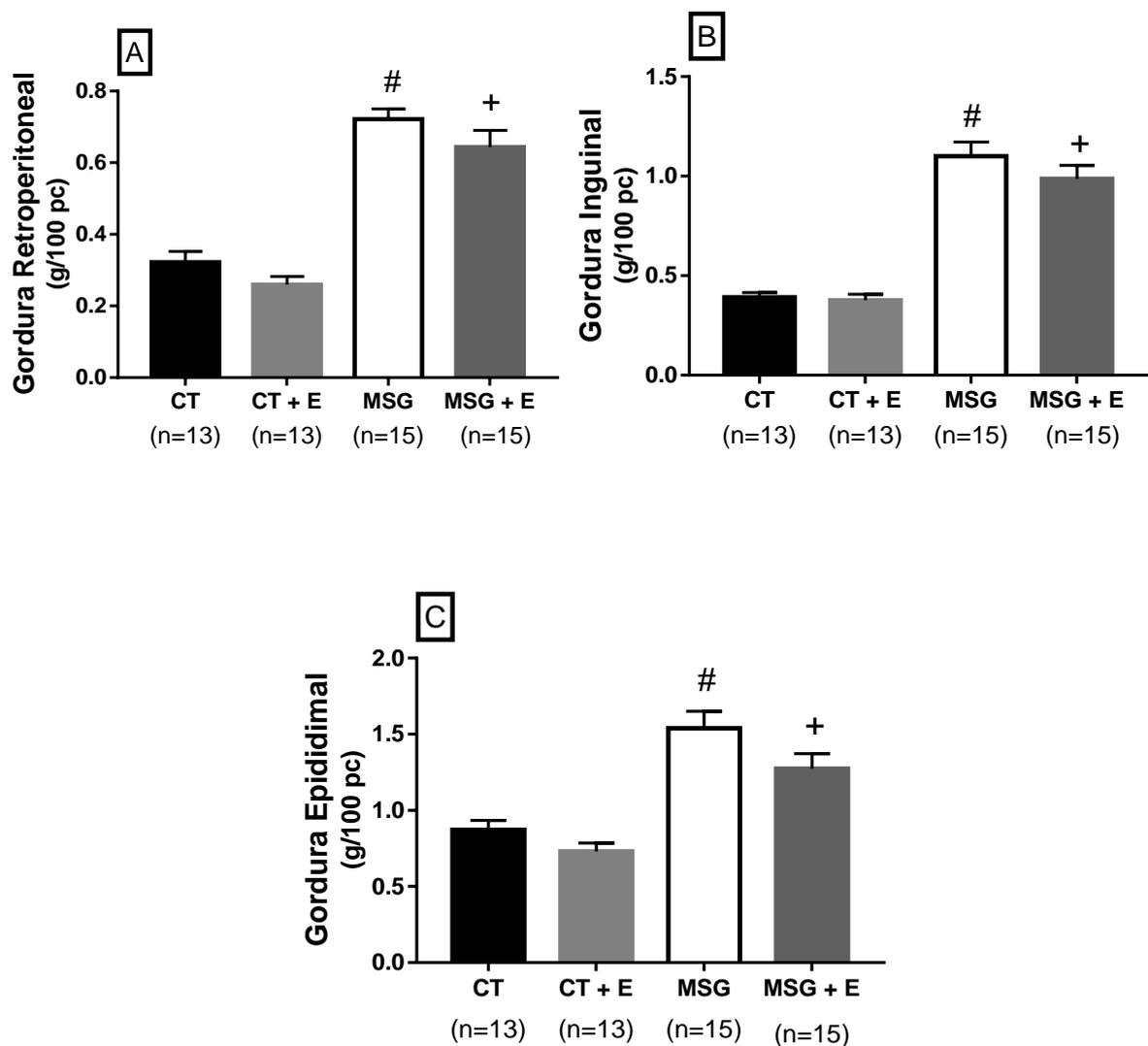


**Figura 5.** Parâmetros Biométricos.

(A) Peso corporal. (B) Comprimento naso/anal. (C) Índice de Lee. Valores expressos em Média  $\pm$  EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas: # $p < 0.05$  vs. grupo CT; + $p < 0.05$  vs. grupo CT+E. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E.

Com relação ao peso relativo das gorduras, os ratos que receberam injeções do glutamato monossódico, demonstraram aumento da gordura retroperitoneal (MSG

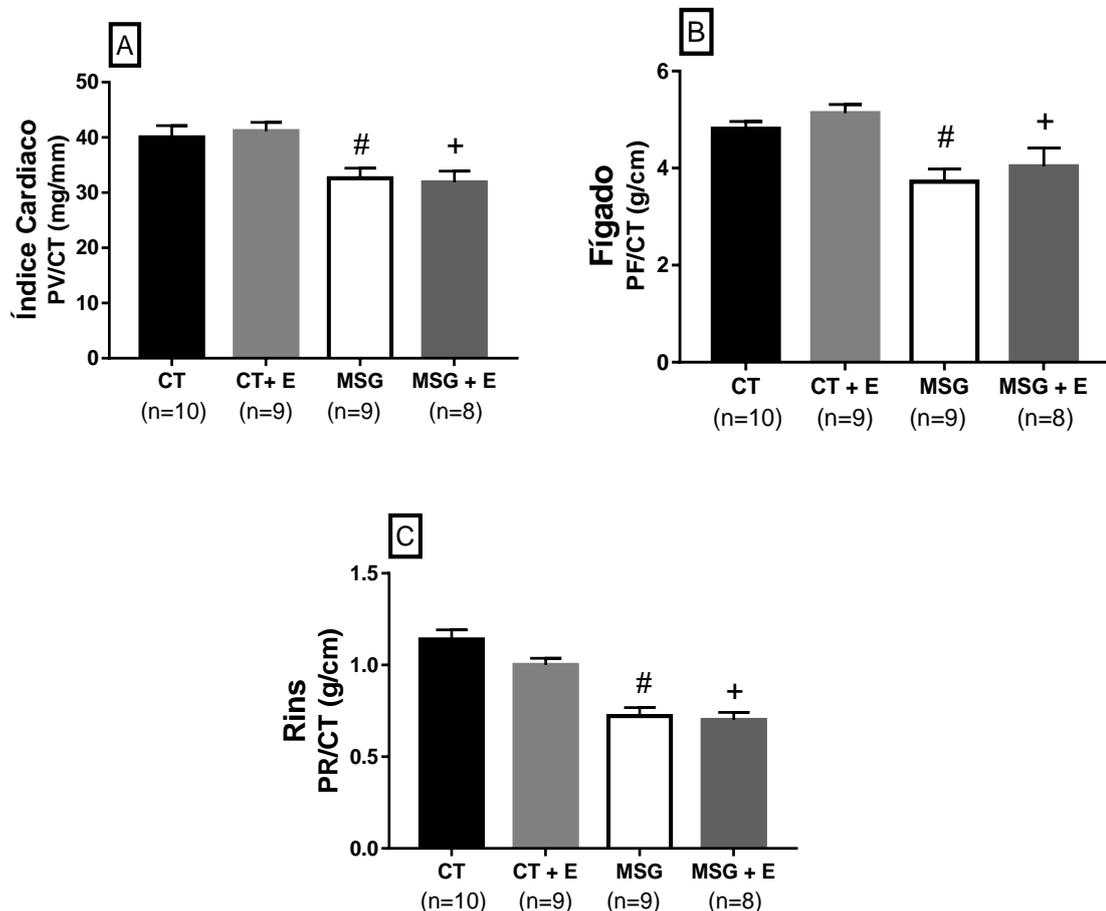
0,72 ± 0,03 g/100pc vs. CT 0,32 ± 0,03 g/100pc; e MSG+E 0,64 ± 0,05 g/100pc vs. CT+E 0,26 ± 0,02 g/100pc; Fig.6A), aumento da gordura inguinal (MSG 1,10 ± 0,07 g/100pc vs. CT 0,40 ± 0,02 g/100pc; e MSG+E 0,98 ± 0,07 g/100pc vs. CT+E 0,37 ± 0,03 g/100pc; Fig.6B) e aumento da gordura epididimal (MSG 1,54 ± 0,11 g/100pc vs. CT 0,87 ± 0,06 g/100pc; e MSG+E 1,28 ± 0,10 g/100pc vs. CT+E 0,75 ± 0,05 g/100pc; Fig.6C). Corroborando, com o resultado do índice de Lee referente a adiposidade, demonstrado anteriormente, sendo considerados desta forma ratos obesos.



**Figura 6.** Peso Relativo das Gorduras.

(A) Retroperitoneal. (B) Inguinal. (C) Epididimal. Valores expressos em Média ± EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas: #p<0.05 vs. grupo CT; +p<0.05 vs. grupo CT+E. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E.

Os ratos obesos por glutamato monossódico independente do tratamento com o extrato demonstraram um menor índice cardíaco (MSG  $32,6 \pm 1,8$  mg/mm vs. CT  $40 \pm 2,1$ mg/mm; Fig.7A) e (MSG+E  $31,9 \pm 2,0$  mg/mm vs. CT+E  $41,1 \pm 1,6$  mg/mm; Fig.7A). O peso do fígado também foi menor nestes animais (MSG  $3,7 \pm 0,3$  g/cm vs. CT  $4,9 \pm 0,2$  g/cm; Fig.7B) e (MSG+E  $4,1 \pm 0,4$  g/cm vs. CT+E  $5,1 \pm 0,2$  g/cm; Fig.7B). Além do mesmo resultado ser observado em relação ao peso dos rins, tanto em relação ao grupo MSG  $0,7 \pm 0,04$  g/cm vs. grupo CT  $1,1 \pm 0,1$ g/cm, quanto ao grupo MSG+E  $0,7 \pm 0,04$  g/cm vs. CT+E  $1,0 \pm 0,04$  g/cm (Fig.7C), ou seja, os ratos obesos demonstraram menor índice cardíaco e menor peso relativos dos órgãos.

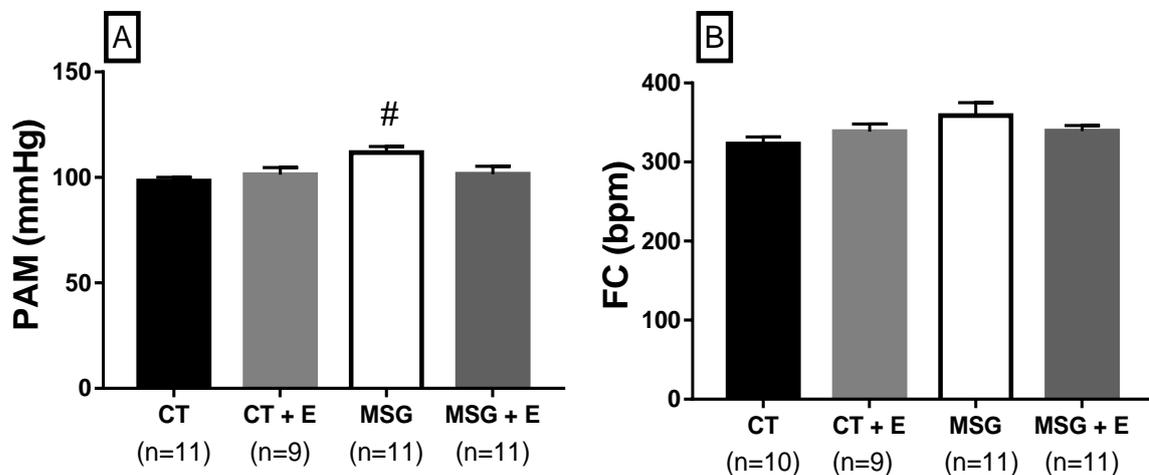


**Figura 7.** Índice Cardíaco e Peso Relativo dos Órgãos.

(A) Índice Cardíaco. (B) Peso Fígado. (C) Peso Rins. Os valores estão expressos em Média  $\pm$  EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas: # $p < 0.05$  vs. grupo CT; + $p < 0.05$  vs. grupo CT+E. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E.

### 4.3. Parâmetros Cardiovasculares

Com relação aos parâmetros cardiovasculares os ratos MSG demonstraram aumento da PAM basal relacionado ao grupo CT (CT:  $98 \pm 2$  vs. MSG:  $112 \pm 3$  mmHg). Já os animais obesos tratados com o extrato (MSG+E:  $106 \pm 3$  mmHg), demonstraram valores de PAM próximos ao dos animais controles (CT+E:  $101 \pm 3$  mmHg) (Fig.8A). Não foram observadas diferenças significativas quanto a FC basal entre os grupos, grupo CT ( $327 \pm 9$  bpm), MSG ( $369 \pm 18$  bpm), CT+E ( $339 \pm 9$  bpm), MSG+E ( $333 \pm 9$  bpm) (Fig.8B).



**Figura 8.** Pressão Arterial Média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC) Basais.

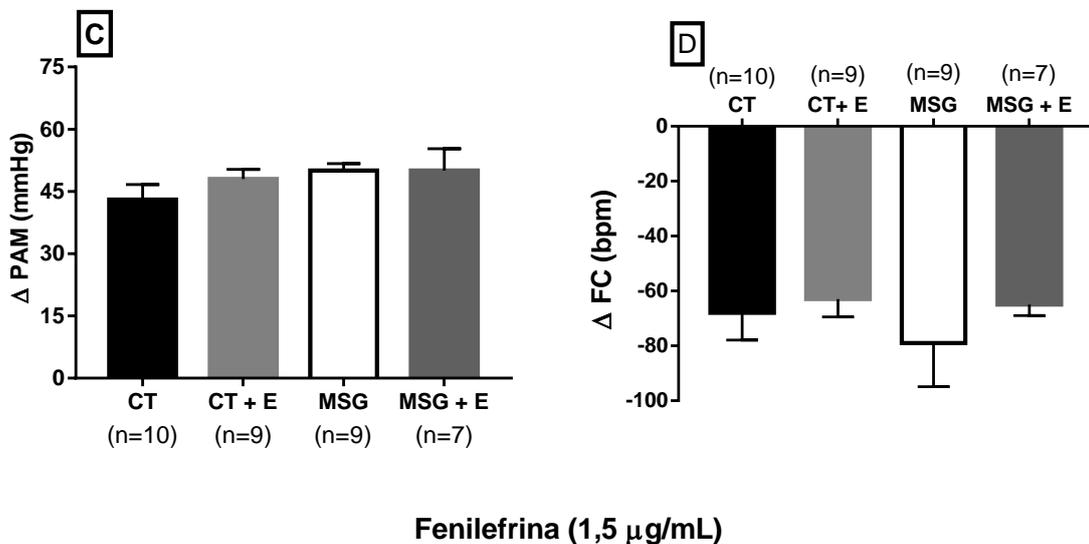
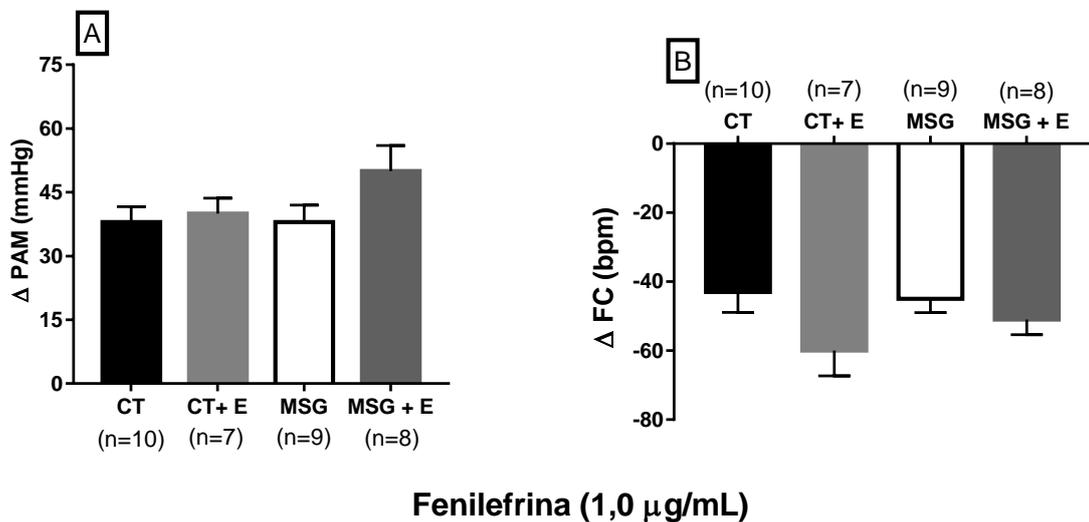
(A) Pressão Arterial Média - PAM. (B) Frequência Cardíaca - FC. Valores expressos em Média  $\pm$  EPM padrão, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas: # $p < 0.05$  vs. grupo CT. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E.

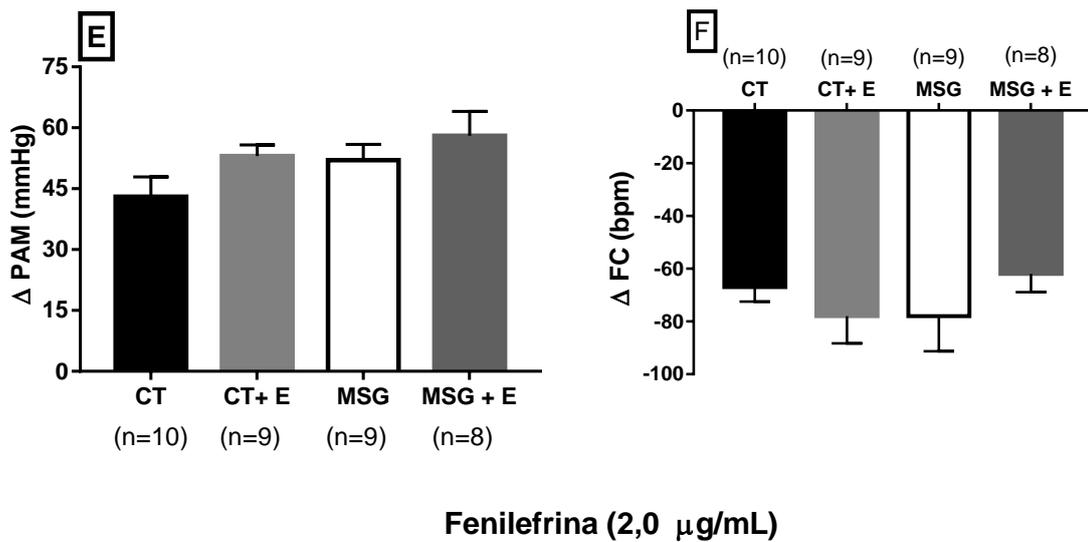
Não foram observadas diferenças significativas no teste do barorreflexo nas diferentes doses de fenilefrina e nitroprossiato de sódio tanto na PAM quanto na FC.

Não houve diferenças significativas na sensibilidade do barorreflexo pela infusão de fenilefrina  $1,0 \mu\text{g/mL}$  na PAM, entre os grupos CT ( $38 \pm 3,6$  mmHg), CT+E ( $40 \pm 3,6$  mmHg), MSG ( $27 \pm 5,6$  mmHg) e MSG+E ( $50 \pm 6,0$  mmHg) (Fig.9A). E na FC entre os grupos CT ( $-43 \pm 5,9$  bpm), CT+E ( $-60 \pm 7,3$  bpm), MSG ( $-41 \pm 7,5$  bpm) e MSG+E ( $-51 \pm 4,4$  bpm) (Fig.9B).

A infusão de fenilefrina 1,5  $\mu\text{g/mL}$  não demonstrou diferenças significativas nos resultados da PAM: CT ( $43 \pm 3,7$  mmHg), CT+E ( $48 \pm 2,3$  mmHg), MSG ( $42 \pm 6,3$  mmHg) e MSG+E ( $50 \pm 5,3$  mmHg) (Fig.9C). E na FC entre os grupos CT ( $-68 \pm 9,9$  bpm), CT+E ( $-63 \pm 6,5$  bpm), MSG ( $-100 \pm 30,9$  bpm) e MSG+E ( $-65 \pm 4,0$  bpm) entre os grupos (Fig.9D).

Não houve diferenças significativas na infusão de fenilefrina 2,0  $\mu\text{g/mL}$  na PAM: CT ( $43 \pm 4,9$  mmHg), CT+E ( $53 \pm 2,8$  mmHg), MSG ( $50 \pm 6,4$  mmHg) e MSG+E ( $58 \pm 6,0$  mmHg) (Fig.9E). E na FC: CT ( $-67 \pm 5,5$  bpm), CT+E ( $-78 \pm 10,3$  bpm), MSG ( $-113 \pm 16,1$  bpm) e MSG+E ( $-62 \pm 6,9$  bpm), entre os grupos (Fig.9F).





**Figura 9.** Barorreflexo, Infusão de Fenilefrina.

(A) PAM e (B) FC - Infusão de fenilefrina 1,0 μg/mL. (C) PAM e (D) FC - Infusão de fenilefrina 1,5 μg/mL. (E) PAM e (F) FC - Infusão de fenilefrina 2,0 μg/mL. Valores expressos Média ± EPM padrão, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E. Pressão arterial média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC).

O mesmo se repetiu com o nitroprossiato de sódio (NPS), 10μg/mL PAM: CT (-27 ± 1,6 mmHg), CT+E (-29 ± 1,9 mmHg), MSG (-32 ± 1,9 mmHg) e MSG+E (-30 ± 2,1 mmHg) (Fig.10A). E na FC: CT (115 ± 8,9 bpm), CT+E (100 ± 8,2 bpm), MSG (93 ± 21,2 bpm) e MSG+E (123 ± 9,0 bpm) (Fig.10B).

NPS 15μg/mL – PAM: CT (-30 ± 2,0 mmHg), CT+E (-36 ± 1,7 mmHg), MSG (-39 ± 1,9 mmHg) e MSG+E (-35 ± 3,5 mmHg) (Fig.10C). E na FC: CT (120 ± 6,9 bpm), CT+E (118 ± 9,8 bpm), MSG (100 ± 22,5 bpm) e MSG+E (134 ± 8,2 bpm) (Fig.10D).

NPS 20 μg/mL – PAM: CT (-35 ± 2,0 mmHg), CT+E (-38 ± 2,4 mmHg), MSG (-42 ± 1,9 mmHg) e MSG+E (-36 ± 3,0 mmHg) (Fig.10E). E na FC: CT (135 ± 7,2 bpm), CT+E (129 ± 9,5 bpm), MSG (121 ± 23,2 bpm) e MSG+E (152 ± 13,3 bpm) (Fig.10F).

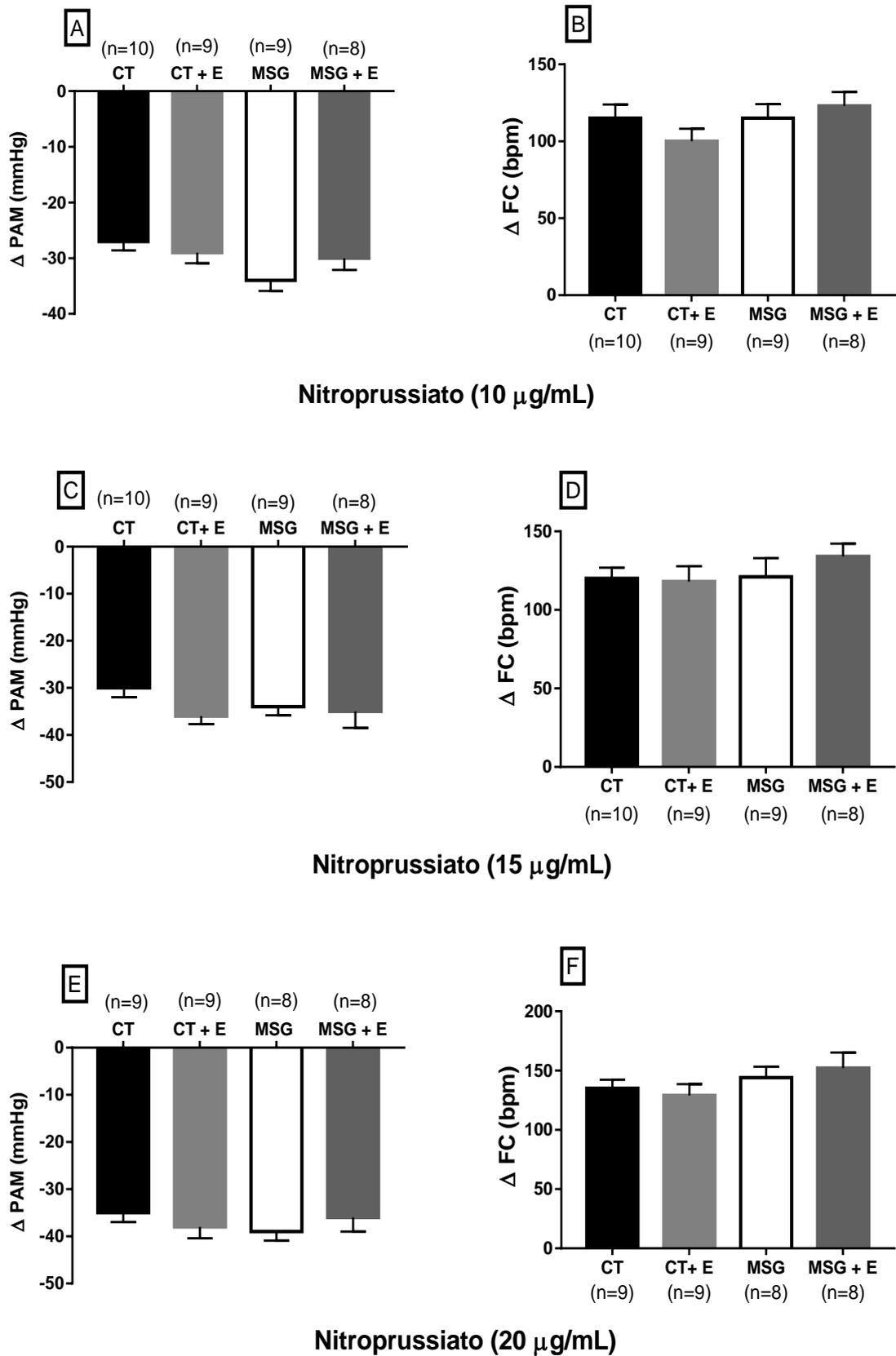
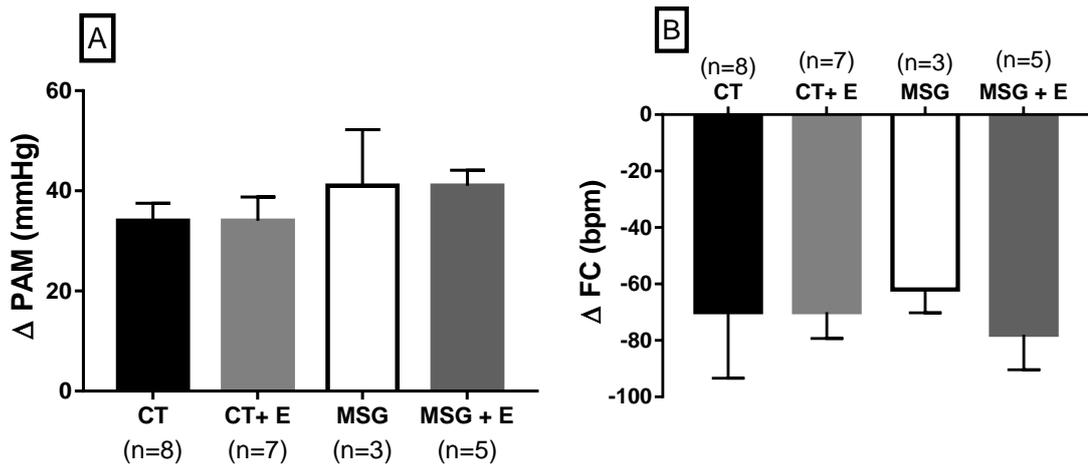


Figura 10. Barorreflexo, Infusão de Nitroprossiato de Sódio.

(A) PAM e (B) FC - Infusão de nitroprossiato de sódio 10 $\mu$ g/mL. (C) PAM e (D) FC - Infusão de nitroprossiato de sódio 15 $\mu$ g/mL. (E) PAM e (F) FC - Infusão de nitroprossiato de sódio 20 $\mu$ g/mL. Valores expressos Média  $\pm$  EPM padrão, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E. Pressão arterial média (PAM) e Frequência Cardíaca (FC).

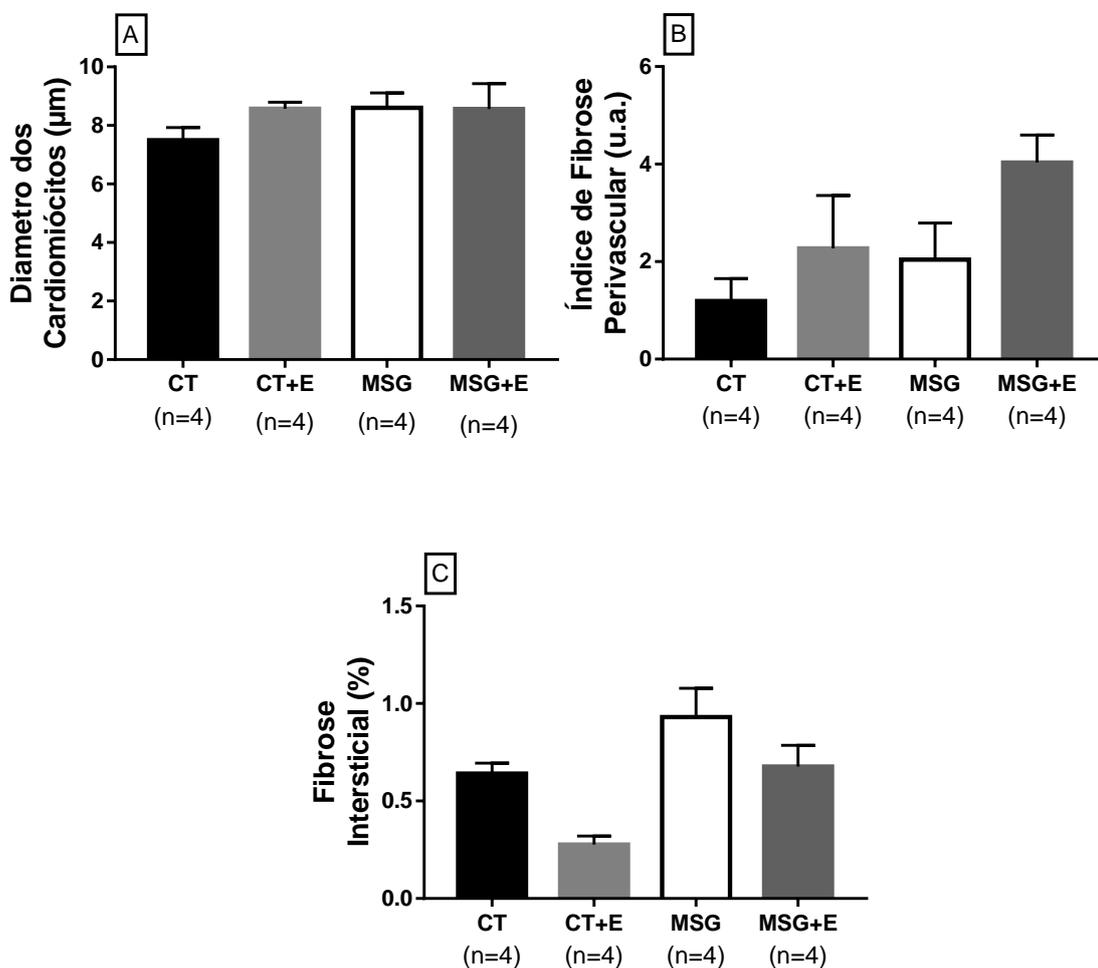
Com relação ao teste do quimiorreflexo, não foi observado diferença significativa na PAM e na FC pela infusão de KCN entre os grupos, CT (34  $\pm$  3,5 mmHg; -70  $\pm$  23,4 bpm), CT+E (34  $\pm$  4,8 mmHg; -70  $\pm$  9,3 bpm), MSG (41  $\pm$  11,2 mmHg; -62  $\pm$  8,2 bpm) e MSG+E (41  $\pm$  3,1 mmHg; -78  $\pm$  12,4 bpm) (Fig.11AB).



**Figura 11.** Quimiorreflexo, Infusão de Cianeto de Potássio.

(A) Pressão arterial média – PAM. (B) Frequência cardíaca – FC. Valores expressos em Média  $\pm$  EPM padrão, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E.

Não foi observado diferença significativa no diâmetro dos cardiomiócitos entre os grupos CT ( $7,4 \pm 0,2 \mu\text{m}$ ), CT+E ( $8,5 \pm 0,8 \mu\text{m}$ ), MSG ( $8,3 \pm 0,4 \mu\text{m}$ ) e MSG+E ( $8,8 \pm 0,8 \mu\text{m}$ ) (Fig.12A). Também não foram observados resultados significativos no índice de fibrose perivascular entre os grupos, CT ( $1,19 \pm 0,5$ ), CT+E ( $2,4 \pm 1,1$ ), MSG ( $2,0 \pm 0,8$ ) e MSG + E ( $4,6 \pm 0,8$ ) (Fig.12B). O parâmetro de fibrose intersticial também não demonstrou resultados significativos entre os grupos, CT ( $1,19 \pm 0,5 \%$ ), CT+E ( $2,4 \pm 1,1 \%$ ), MSG ( $2,0 \pm 0,8 \%$ ), e MSG+E ( $4,6 \pm 0,8 \%$ ) (Fig.12C).



**Figura 12.** Avaliação Histológica do Tecido Cardíaco.

(A) Diâmetro dos Cardiomiócitos. (B) Índice de Fibrose Perivascular. (C) Fibrose Intersticial. Os valores estão expressos em Média  $\pm$  EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT+E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E.

#### 4.4. Parâmetros Hematológicos

Em relação aos parâmetros eritrocitários (Tabela 2), pode se observar que o grupo MSG, demonstrou diminuição da porcentagem do hematócrito (Ht) e do volume corpuscular médio (VCM) em relação aos animais do grupo MSG+E. Não foram observadas diferenças significativas em relação aos outros parâmetros.

Tabela 2  
Parâmetros Eritrocitários e Plaquetarios

Parâmetros	CT	CT + E	MSG	MSG + E
Hemácias ( $10^6/\mu\text{L}$ )	8,2 ± 0,3	8,1 ± 0,6	7,5 ± 0,1	8,0 ± 0,1
Hemoglobina (g/dL)	11,1 ± 0,9	12,5 ± 1,2	10 ± 0,8	11,6 ± 0,8
Hematócrito (%)	42,1 ± 1,6	39,9 ± 0,9	38,9 ± 0,7*	43,5 ± 0,9
VCM ( $\mu\text{m}^3$ )	51,0 ± 0,4	53,1 ± 0,7	51,8 ± 0,5*	54,1 ± 0,7
HCM (pg)	13,4 ± 0,7	15,4 ± 0,9	13,7 ± 1,1	14,4 ± 1,0
CHCM (g/dL)	26,2 ± 1,1	28,9 ± 1,6	26,5 ± 1,8	26,7 ± 1,9
RDW (%)	12,5 ± 0,1	13,3 ± 0,2	12,6 ± 0,2	13,1 ± 0,3
VPM ( $\mu\text{m}^3$ )	6,40 ± 0,1	6,30 ± 0,1	6,40 ± 0,1	6,80 ± 0,2
Plaquetas ( $10^3/\mu\text{L}$ )	533,7 ± 30,4	473,8 ± 47,9	539,6 ± 27,1	495,1 ± 31,1

Os valores estão expressos em Média ± EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas: \* $p < 0,05$  vs. Grupo MSG+E. Grupo controle, CT (n= 10); controle mais extrato, CT+E (n= 8); glutamato monossódico, MSG (n= 9); e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E (n= 8). Volume Corpuscular Médio (VCM). Hemoglobina Corpuscular Média (HCM). Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM). *Red Cell Distribution Width* (RDW).

Foi observado através dos parâmetros leucocitários (Tabela 3) que o grupo MSG demonstrou diminuição na quantidade de leucócitos e porcentagem de linfócitos, e aumento na porcentagem de monócitos, eosinófilos e basófilos em relação ao grupo CT. O grupo MSG+E também demonstrou uma diminuição da porcentagem de linfócitos, mas com a quantidade de leucócitos semelhantes ao grupo CT+E. O grupo MSG ( $2,0 \pm 0,5\%$ ) mostrou aumento na porcentagem de basófilos em comparação ao grupo MSG+E ( $0,7 \pm 0,1\%$ ) (Tabela 3).

Tabela 3

## Parâmetros Leucocitários

Parâmetros	CT	CT + E	MSG	MSG + E
Leucócitos ( $10^3/\mu\text{L}$ )	$7,9 \pm 1,0$	$7,5 \pm 0,7$	$4,3 \pm 0,7^\#$	$5,7 \pm 0,7$
Neutrófilos (%)	$4,7 \pm 0,7$	$3,3 \pm 0,3$	$7,4 \pm 1,2$	$6,5 \pm 1,5$
Linfócitos (%)	$90,9 \pm 0,7$	$93,1 \pm 0,3$	$80,7 \pm 2,8^\#$	$85,1 \pm 2,3^+$
Monócitos (%)	$3,9 \pm 0,6$	$3,1 \pm 0,3$	$9,7 \pm 1,8^\#$	$7,6 \pm 1,4$
Eosinófilos (%)	0	$0,1 \pm 0,02$	$0,2 \pm 0,05^\#$	$0,1 \pm 0,03$
Basófilos (%)	$0,5 \pm 0,2$	$0,6 \pm 0,1$	$2,0 \pm 0,5^\#$	$0,7 \pm 0,1^\&$

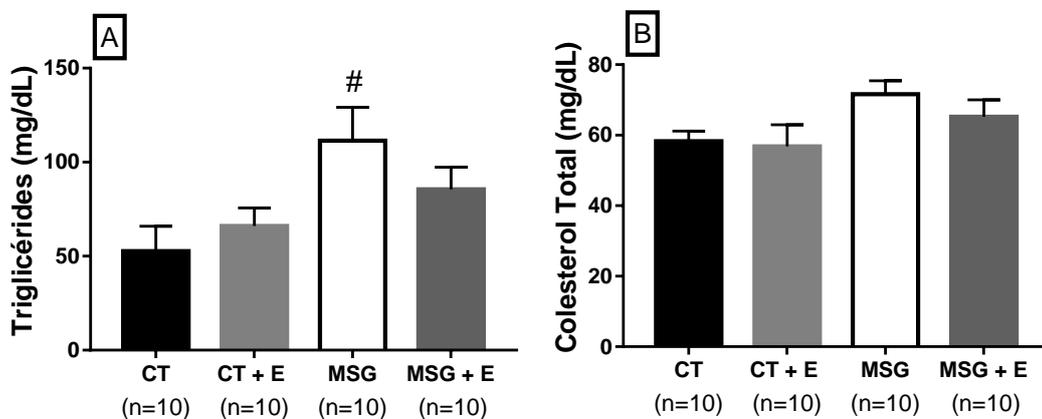
Os valores estão expressos em Média  $\pm$  EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas:  $\#p < 0,05$  vs. grupo CT;  $+p < 0,05$  vs. grupo CT+E;  $\&p < 0,05$  vs. grupo MSG. Grupo controle, CT (n= 10); controle mais extrato, CT+E (n= 8); glutamato monossódico, MSG (n= 9); e glutamato monossódico mais extrato, MSG+E (n= 8).

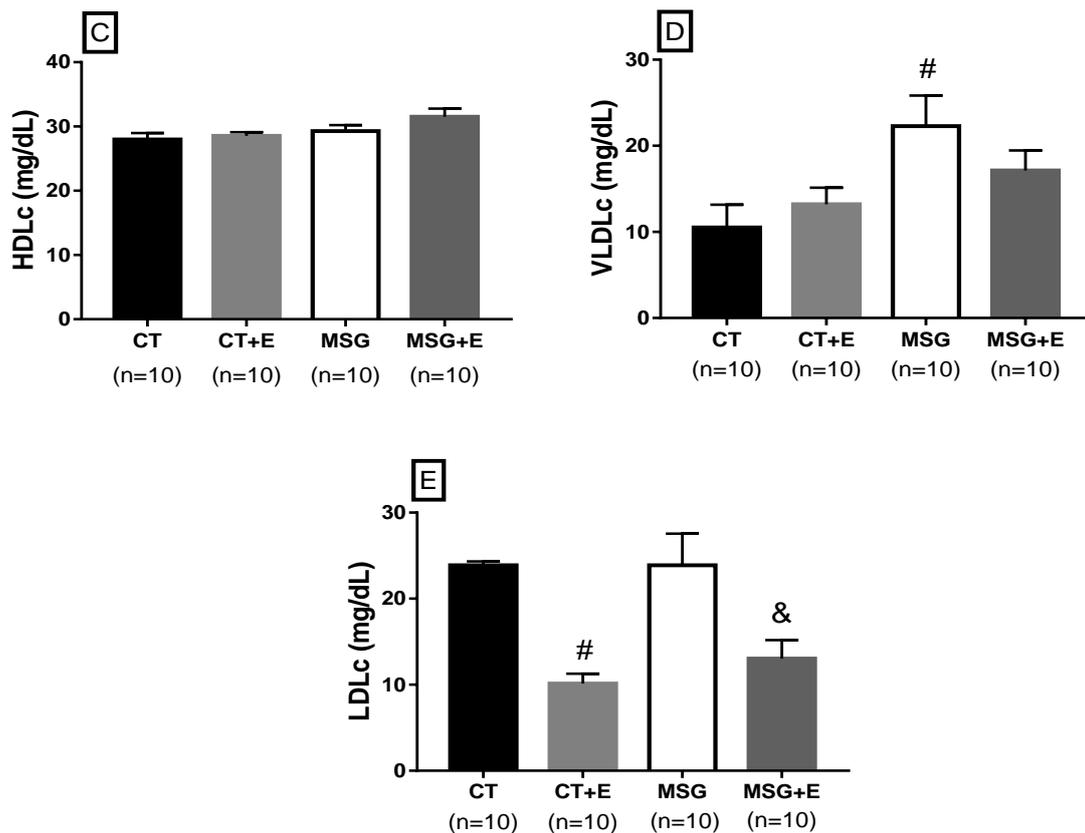
#### 4.5. Parâmetros Bioquímicos

Em relação ao perfil lipídico plasmático, os ratos MSG demonstraram um aumento dos níveis de TG plasmático em relação ao grupo controle (MSG  $111 \pm 17,7$  mg/dL vs. CT  $53 \pm 13,2$  mg/dL). Diferentemente, os ratos MSG+E ( $86 \pm 11,7$  mg/dL) demonstraram níveis semelhantes de TG plasmático em relação ao grupo CT+E ( $66 \pm 9,6$  mg/dL)(Fig.13A). Não foram observadas diferenças significativas quanto aos níveis de colesterol total, entre os grupos, CT ( $58 \pm 2,9$  mg/dL), CT+E ( $57 \pm 6,2$  mg/dL), MSG ( $72 \pm 3,8$  mg/dL) e MSG+E ( $65 \pm 4,8$  mg/dL)(Fig.13B).

Também não foram demonstradas diferenças significativas entre os níveis do HDL colesterol, CT ( $28 \pm 1,0$  mg/dL), CT+E ( $29 \pm 0,6$  mg/dL), MSG ( $32 \pm 1,7$  mg/dL) e MSG+E ( $32 \pm 1,3$  mg/dL) (Fig.13C). Contudo foi observado aumento dos níveis plasmáticos de VLDL nos ratos MSG em relação ao grupo controle (MSG  $22 \pm 3,5$  mg/dL vs. CT  $11 \pm 2,6$  mg/dL). Não foram observadas outras diferenças significativas, CT+E  $13 \pm 1,9$  mg/dL e MSG+E  $17 \pm 2,3$  mg/DI (Fig.13D).

Com relação ao colesterol LDL, pode-se observar que os ratos CT+E demonstraram diminuição dos níveis de LDL em relação ao grupo CT ( $10 \pm 1,1$  mg/dL vs.  $25 \pm 0,8$  mg/dL) (Fig.13E). Essa diminuição também foi demonstrada nos ratos MSG+E em relação ao grupo MSG ( $13 \pm 2,2$  mg/dL vs.  $24 \pm 3,7$  mg/dL)(Fig.13E), constatando que os grupos de animais (CT+E e MSG+E) que receberam tratamento com ECJ (3%) demonstraram menores níveis de LDL colesterol.





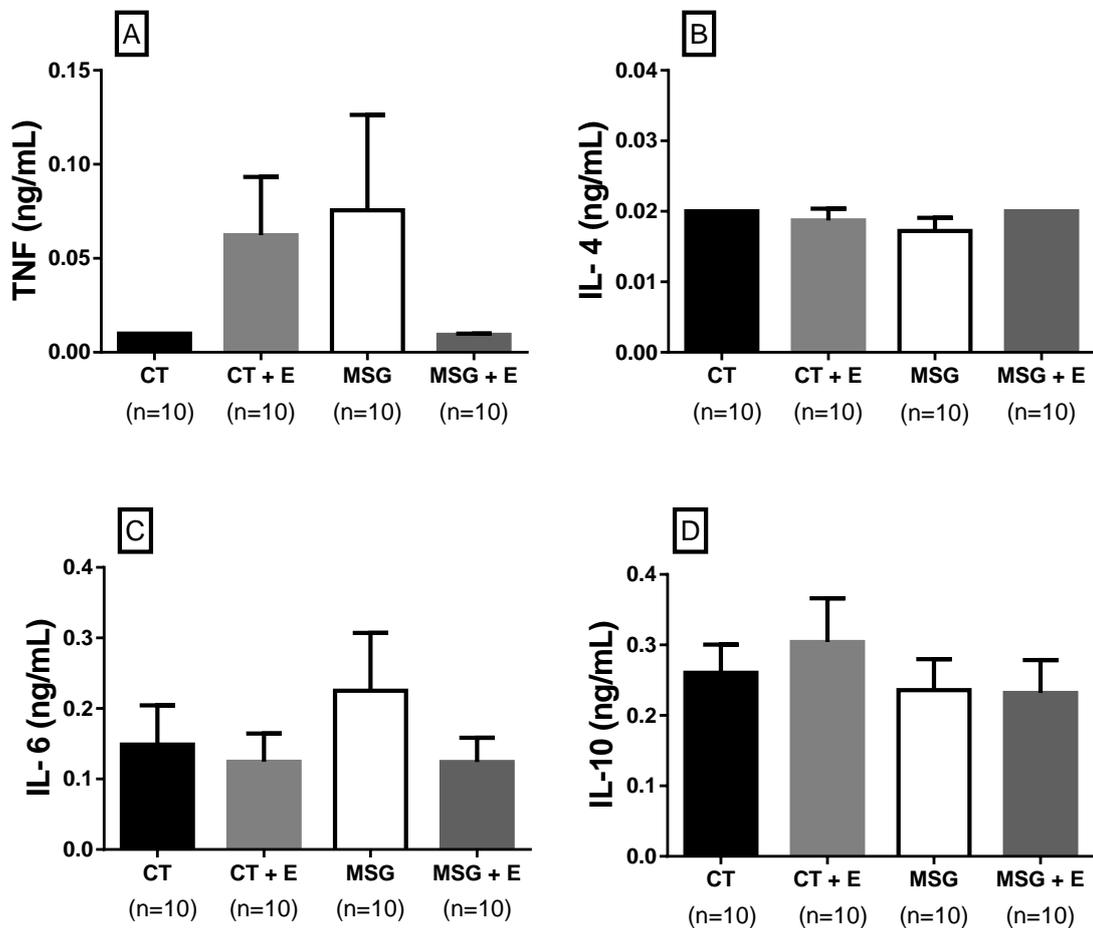
**Figura 13.** Perfil Lipídico Plasmático.

(A) Triglicérides. (B) Colesterol Total. (C) Lipoproteínas de Alta Densidade - HDL. (D) Lipoproteína de Densidade Muito Baixa - VLDL. (E) Lipoproteína de Baixa Densidade -LDL. Os valores estão expressos em Média  $\pm$  EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Diferenças significativas observadas: # $p < 0.05$  vs. grupo CT; & $p < 0.05$  vs. grupo MSG. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT + E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG + E.

Em relação as citocinas plasmáticas avaliadas, não foram observadas diferenças significativas nos níveis de TNF- $\alpha$ , entre os grupos, CT ( $0,018 \pm 0,008$  ng/mL), CT+E ( $0,050 \pm 0,024$  ng/mL), MSG ( $0,049 \pm 0,035$  ng/mL) e MSG+E ( $0,010 \pm 0,0$  ng/mL) dos animais tratados por 60 dias (Fig.14A). Também não foram demonstradas diferenças significativas nos níveis plasmáticos de IL-4 entre os grupos, CT ( $0,020 \pm 0,0$  ng/mL), CT+E ( $0,019 \pm 0,001$  ng/mL), MSG ( $0,018 \pm 0,001$  ng/mL) e MSG+E ( $0,020 \pm 0,0$  ng/mL) (Fig.14B).

Não foram observadas diferenças significativas em referência aos níveis de IL-6, entre os grupos, CT ( $0,119 \pm 0,045$  ng/mL), CT+E ( $0,104 \pm 0,032$  ng/mL), MSG ( $0,0169 \pm 0,058$  ng/mL) e MSG+E ( $0,143 \pm 0,059$  ng/mL) (Fig.14C). Em relação aos

níveis de IL-10 também não foram demonstradas diferenças significativas entre os grupos, CT ( $0,220 \pm 0,037$  ng/mL), CT+E ( $0,282 \pm 0,050$  ng/mL), MSG ( $0,193 \pm 0,033$  ng/mL) e MSG+E ( $0,185 \pm 0,036$  ng/mL) (Fig.14D).

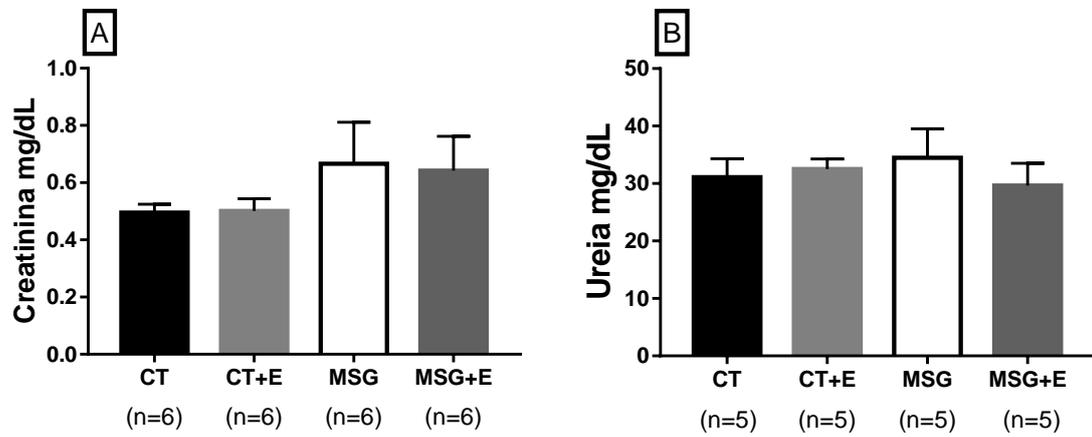


**Figura 14.** Citocinas Plasmáticas.

(A) Fator de Necrose Tumoral - alfa. (B) Interleucina 4. (C) Interleucina 6. (D) Interleucina 10. Os valores estão expressos em Média  $\pm$  EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT + E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG + E.

Em relação ao perfil renal plasmático pode se constatar que os níveis de creatinina plasmática entre os grupos, não demonstraram diferenças significativas, CT ( $0,50 \pm 0,03$  mg/dL), CT+E ( $0,50 \pm 0,04$  mg/dL), MSG ( $0,67 \pm 0,1$  mg/dL) e MSG+E ( $0,64 \pm 0,1$  mg/dL) (Fig.15A). Também não foram observados resultados significativos nos níveis de ureia plasmática entre os grupos, CT ( $30 \pm 3,9$  mg/dL), CT+E ( $32 \pm 1,8$  mg/dL), MSG ( $34 \pm 5,1$  mg/dL) e MSG+E ( $30 \pm 3,9$  mg/dL)(Fig.15B). Portanto, ao

final dos 60 dias não foram observadas diferenças significativas no perfil plasmático renal dos animais.



**Figura 15.** Perfil Renal Plasmático.

(A) Creatinina plasmática. (B) Ureia Plasmática. Os valores estão expressos em Média  $\pm$  EPM, análise através do One-way ANOVA, seguido por teste de Tukey. Grupo controle, CT; controle mais extrato, CT + E; glutamato monossódico, MSG; e glutamato monossódico mais extrato, MSG + E.

## 5. Discussão

No presente estudo pudemos observar que o extrato líquido da jabuticaba a 3%, mostrou atuar de forma benéfica em ratos obesos por glutamato monossódico, prevenindo o aumento da pressão arterial, dos níveis de TG, VLDL e diminuindo os níveis de LDL plasmáticos. Entretanto não demonstrou efeito no peso corporal, índice de adiposidade, comprimento naso/anal, peso das gorduras (retroperitoneal, epididimal e inguinal), índice cardíaco e peso dos órgãos (fígado e rins) destes animais. Além disso, não foram observadas mudanças nos testes do barorreflexo e quimiorreflexo, nos níveis de HDL e colesterol total, creatinina, ureia e citocinas plasmáticas (TNF- $\alpha$ , IL-4, IL-6 e IL-10).

O protocolo de produção do ECJ, deste estudo foi semelhante ao descrito por Borges, LL. (2014) (32) que demonstrou através da Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) e de testes de capacidade antioxidante, a presença de ácido elágico e atividade antioxidante ( $IC_{50}=2,17$  mg/mL) do extrato. Em nosso estudo os valores encontrados de fenóis e flavonoides totais foram similares ao demonstrado por Borges, LL. (2014) (32). Desta forma, podemos inferir que além de flavonoides o ECJ contém ácido elágico e possui atividade antioxidante.

Na literatura o modelo de obesidade por glutamato monossódico apresenta características físicas definidas como, menor peso corporal, excesso de tecido adiposo e atraso no crescimento (22,36,37). Em nosso estudo esses parâmetros foram semelhantes ao descrito, os ratos obesos demonstraram menor peso corporal e diminuição do crescimento. Além de apresentarem um maior índice de adiposidade, com maior peso de gorduras (retroperitoneal, inguinal e epididimal). Demonstrando sucesso na indução do modelo de obesidade.

A lesão no ARC influencia no metabolismo do crescimento, promovendo menor desenvolvimento corporal e tamanho reduzido dos órgãos (36). Isso ocorre, pois é do ARC que partem o maior conjunto de fibras nervosas, provindas dos neurônios que sintetizam o GHRH, desta forma, o comprometimento desta síntese, influencia na liberação do GH (13). Em nosso trabalho observamos que os ratos obesos por injeções de glutamato monossódico demonstraram menor índice cardíaco e menor peso do fígado e rins, correlacionando com o menor crescimento e peso corporal, citados anteriormente.

Os parâmetros cardiovasculares ainda são poucos compreendidos no modelo de obesidade por MSG. Estudos evidenciam que este modelo tem a capacidade de desenvolver hipertensão dependendo da idade em que os animais são estudados (17,36). Em nosso estudo, os ratos MSG demonstraram um aumento da pressão arterial em relação aos ratos controle. Semelhante ao que observamos referente a pressão arterial, Cunha e colaboradores (2010) (38) observaram que ratos Wistar MSG obesos com 90 dias de vida demonstraram hipertensão moderada e aumento dos níveis de prostaglandinas.

Um dos mecanismos que promove aumento da PA na obesidade é o aumento do impulso simpático devido ao comprometimento no controle do barorreflexo. O estudo de Konrad e colaboradores (2012) (39) demonstrou que ratos MSG tiveram aumento da PAM com redução da sensibilidade barorreflexa associada a diminuição do efeito vagal no coração, sugerindo aumento da pressão arterial pela predominância da atividade cardíaca simpática. Em nosso estudo, entretanto não observamos alterações na sensibilidade do barorreflexo.

Outro fator que também pode contribuir para o aumento da PA na obesidade através da excitação simpática é a alteração dos quimiorreceptores. Em nosso estudo não constatamos alterações na sensibilidade do quimiorreflexo de ratos obesos por glutamato monossódico. O estudo de Marques da Silva e colaboradores (2020) (40) também não demonstraram alterações no quimiorreflexo em ratos obesos.

Na presença de uma disfunção cardiovascular o coração tem a necessidade de se adequar morfológicamente, sendo assim, avaliamos o tecido cardíaco, e não foram observadas alterações no diâmetro dos cardiomiócitos, no índice de fibrose perivascular e na fibrose intersticial dos animais. O estudo de Majewski e colaboradores (2018) (41) observaram que em artérias torácicas isoladas de ratos MSG com 90 dias de vida tem-se o aumento da sensibilidade ao tromboxano  $A_2$  e da produção de prostaglandinas ( $I_2$  e  $E_2$ ), que juntos influenciam na regulação dos canais de potássio e na disponibilidade do óxido nítrico, aumentando espécies reativas de oxigênio que geram estresse oxidativo causando alterações microvasculares, sendo um dos fatores que contribui com o aumento de pressão em ratos adultos.

O grupo MSG+E mostrou níveis pressóricos semelhantes aos animais CT, o que nos faz supor que o extrato está tendo efeitos benéficos nestes animais, podendo ser devido ao potencial antioxidante do extrato. No estudo de Lobo de Andrade e

colaboradores (2015) (42) pode-se observar que o extrato administrado de forma intravenosa (*in vivo*) mostrou efeito de normalizar os valores da PAM e da FC e no banho (*in vitro*) em experimento de vaso isolado, mostrou a capacidade de induzir relaxamento vascular dependente do endotélio, dando suporte aos nossos resultados.

A descrição de parâmetros hematológicos em ratos induzidos a obesidade por MSG na fase neonatal é desconhecida na literatura. A associação entre anemia e doenças crônicas, tem sido investigadas por estudos científicos (43). Devido a presença da inflamação, que seria o principal fator de influência da anemia, por induzirem citocinas pró inflamatórias e o peptídeo hepcidina que regulariam o metabolismo do ferro reduzindo a absorção intestinal e causando retenção de ferro nas células reticuloendoteliais (44).

Em nosso estudo não observamos presença de anemia nos animais. Os ratos MSG demonstraram diminuição do hematócrito e do VCM, em relação aos ratos que receberam o extrato MSG+E. Entretanto, somente essas alterações não são específicas para realizar um diagnóstico, uma vez que não demonstraram alteração da Hb plasmática e dos outros parâmetros hematimétricos.

As alterações quantitativas nos parâmetros leucocitários plasmáticos são controversos em estudos envolvendo a obesidade. Devido a atividade moduladora do sistema imune pelo tecido adiposo e o conteúdo total de gordura corporal que difere nos diferentes graus de obesidade (45). Estudos demonstram que a obesidade, por ser uma condição inflamatória tende a promover a elevação de marcadores inflamatórios como proteína C reativa e de leucócitos no sangue periférico (45).

Entretanto em nosso trabalho, os ratos tratados com injeções de MSG apresentaram linfocitopenia. As alterações nos linfócitos são diferentes das vistas em trabalhos relacionados a obesidade, isso pode ocorrer pois o modelo de MSG envolve alterações hormonais que podem afetar a proliferação, diferenciação, migração dos linfócitos no organismo (46). O timo é o órgão responsável por promover a maturação das células precursoras dos linfócitos, e esta produção e maturação pode ser afetada por vários hormônios como ocitocina, prolactina e glicocorticoides destacando principalmente o GH (46). Sendo assim, a linfocitopenia nos ratos MSGs pode ser associada ao desequilíbrio do GH, já que estes animais apresentam deficiência no crescimento do organismo.

Os ratos MSG apresentaram aumento relativo de monócitos, eosinófilo e basófilos diferente do grupo MSG+E, que demonstrou porcentagens semelhantes aos dos ratos CT+E. Isso nos leva a pensar que o extrato preveniu o aumento destes leucócitos provavelmente devido sua atividade antioxidante pela presença do ácido gálico (47).

Além de mudanças na pressão arterial, este modelo de obesidade pode apresentar alterações no perfil lipídico plasmático (37). Em nosso estudo, os ratos MSG demonstraram aumento dos níveis de VLDL e TG plasmático sem alteração nos níveis de colesterol total em relação ao grupo CT. O mesmo resultado foi apresentado por Lobato e colaboradores (2011) em seu estudo com ratos MSG-obesos com 16 semanas de idade (17). O aumento dos níveis de TG e VLDL-colesterol nos ratos MSG associam ao índice de adiposidade nestes animais, desde que o aumento destas partículas promovam o aumento da capacidade de armazenamento da gordura.

O uso do extrato da casca de jabuticaba em ratos obesos por dieta rica em gordura demonstrou promover a diminuição dos triglicerídeos e aumento nos níveis de HDL-colesterol (27,28). Em nosso trabalho observamos que o extrato (ECJ 3%) preveniu o aumento de TG e VLDL e diminuiu os níveis plasmáticos de LDL-colesterol nos ratos MSG+E. A presença de fenóis como flavonoides no extrato pode desencadear ações biológicas, como por exemplo, no fígado promover aumento de receptores de LDL diminuindo a concentração no plasma, além de inibir a síntese ou acelerar o catabolismo de VLDL colesterol (47).

Apesar disso, os ratos MSG+E ainda apresentaram maior índice de adiposidade, com maior peso de gordura retroperitoneal, inguinal e epididimal. Isso ocorre pois a lesão no ARC promove alterações nos mecanismos envolvidos no balanço energético, desfazendo o equilíbrio entre sinais, neurais, nutricionais e hormonais (10). Promovendo assim, o excesso da deposição de gordura corporal nos animais.

Além de aumentar a deposição de gordura e prejudicar órgãos como cérebro e timo, o modelo de obesidade por MSG também pode promover danos aos rins, devido ao aumento do estresse oxidativo podendo prejudicar a função renal (36). Em nosso estudo não observamos alterações na avaliação da creatinina e ureia plasmática, onde provavelmente, o período de 81 dias neste modelo de obesidade foi insuficiente para promover alterações na função renal em relação aos marcadores plasmáticos citados nos ratos MSG. O extrato (3%) também não demonstrou mudanças

na função renal nos animais tratados, não demonstrando assim danos prejudiciais aos rins.

Em relação ao TNF e IL-6, o aumento da secreção de citocinas pró-inflamatórias ocorre primeiramente no tecido adiposo, devido as alterações morfológicas nos adipócitos e na composição das células do sistema imunológico. Estes, estimulam a migração e ativação de células imunológicas principalmente macrófagos e linfócitos T e B aumentando ainda mais a inflamação (48). Desta forma, cogitamos que à medida que a inflamação é estabelecida, as mudanças não alterariam de início os níveis das citocinas de forma sistêmica, mas que posteriormente, com o estabelecimento definitivo da obesidade, contribuiria no aumento das citocinas inflamatórias. Também não houve diferenças nos níveis de citocina anti-inflamatória como a IL-10 e nem em relação a IL-4. Demonstrando que não houve alterações relacionadas as citocinas nos animais ao final do período experimental.

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

Dentro das condições experimentais deste trabalho e com base nos resultados obtidos, conclui-se que injeções de MSG foram eficazes em induzir ratos a obesidade. E que o tratamento por 60 dias com ECJ (3%) demonstrou ação protetiva benéfica na pressão arterial e no perfil lipídico (TG, VLDL e LDL) de ratos obesos.

Estes resultados demonstram ser promissores na realização de mais pesquisas, envolvendo o acompanhamento de um maior tempo de tratamento, e com possíveis diferentes doses do extrato.

## 7. REFERÊNCIAS

1. World Health Organization (WHO). Obesity and Overweight [Internet]. 2018 [cited 2018 Mar 19]. Available from: <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>
2. Ministério da Saúde. Obesidade no Brasil [Internet]. 2017 [cited 2018 Mar 20]. Available from: <http://portalms.saude.gov.br/noticias/agencia-saude/28108-em-dez-anos-obesidade-cresce-60-no-brasil-e-colabora-para-maior-prevalencia-de-hipertensao-e-diabetes>
3. Fernandes D. Obesidade Cresce de Forma Acelerada no Brasil e se Aproxima da Taxa dos Países Ricos, Indica OCDE [Internet]. BBC Brasil. 2019 [cited 2020 Jan 18]. p. 1. Available from: <https://www.bbc.com/portuguese/brasil-50001245>
4. Coelho M, Oliveira T, Fernandes R. Biochemistry of adipose tissue: an endocrine organ. *Arch Med Sci.* 2013;9(2):191–200.
5. Saponaro C, Gaggini M, Carli F, Gastaldelli A. The subtle balance between lipolysis and lipogenesis: A critical point in metabolic homeostasis. *Nutrients.* 2015;7(11):9453–74.
6. Andermann ML, Lowell BB. Toward a Wiring Diagram Understanding of Appetite Control. *Neuron.* 2017;95(4):757–78.
7. Mancini MC, Geloneze B, Salles JEN, Lima JG, Carra MK. Tratado de Obesidade. 2. ed. Guanabara Koogan, editor. Rio de Janeiro; 2015. 1–2106 p.
8. Myers MG, Olson DP. Central nervous system control of metabolism. *Nature.* 2012;491(7424):357–63.
9. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Dis Model Mech.* 2017;10(6):679–89.
10. Kohno D, Yada T. Arcuate NPY neurons sense and integrate peripheral metabolic signals to control feeding. *Neuropeptides.* 2012;46(6):315–9.
11. Sohn JW. Network of hypothalamic neurons that control appetite. *BMB Rep.* 2015;48(4):229–33.
12. Veldhuis JD, Iranmanesh A, Erickson D, Roelfsema F, Bowers CY. Lifetime Regulation of Growth Hormone (GH) Secretion. *Handbook of Neuroendocrinology.* Elsevier Inc.; 2012. 237–257 p.
13. Malagón MM, Vázquez-Martínez R, Martínez-Fuentes AJ, Gracia-Navarro F, Castaño JP. Growth Hormone-Releasing Hormone. In: Copyright © 2006 Elsevier, editor. *Handbook of Biologically Active Peptides.* 2006. p. 663–71.
14. Organización Panamericana de la Salud. Alimentos y bebidas ultraprocesados en América Latina: tendencias, efecto sobre la obesidad e implicaciones para las políticas públicas [Internet]. 2015. Available from: [http://www.paho.org/hq/index.php?option=com\\_content&view=article&id=11153%3AUltra-processed-food-and-drink-](http://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=11153%3AUltra-processed-food-and-drink-)

15. Dawson R, Lorden JF. Behavioral and neurochemical effects of neonatal administration of monosodium L-glutamate in mice. *J Comp Physiol Psychol.* 1981;95(1):71–84.
16. Roman-Ramos R, Almanza-Perez JC, Garcia-Macedo R, Blancas-Flores G, Fortis-Barrera A, Jasso EI, et al. Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptors in mice. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2011;108(6):406–13.
17. Lobato NS, Filgueira FP, Akamine EH, Davel APC, Rossoni L V., Tostes RC, et al. Obesity induced by neonatal treatment with monosodium glutamate impairs microvascular reactivity in adult rats: Role of NO and prostanoids. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2011;21(10):808–16.
18. Jinap S, Hajeb P. Glutamate. Its applications in food and contribution to health. *Appetite.* 2010;55(1):1–10.
19. Kazmi Z, Fatima I, Perveen S, Malik SS. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int J Food Prop.* 2017;20(2):1807–15.
20. Schoelch C, Hübschle T, Schmidt I, Nuesslein-Hildesheim B. MSG lesions decrease body mass of suckling-age rats by attenuating circadian decreases of energy expenditure. *Am J Physiol - Endocrinol Metab* [Internet]. 2002;283(3):E604–11. Available from: <http://ajpendo.physiology.org/lookup/doi/10.1152/ajpendo.00439.2001>
21. Baculikova M, Fiala R, Jezova D, Macho L, Zorad S. Rats with monosodium glutamate-induced obesity and insulin resistance exhibit low expression of Gai2 G-protein. *Gen Physiol Biophys.* 2008;27(3):222–6.
22. Franco CCS, Prates K V., Previante C, Moraes AMP, Matusso CCI, Miranda RA, et al. Glibenclamide treatment blocks metabolic dysfunctions and improves vagal activity in monosodium glutamate-obese male rats. *Endocrine.* 2017;56(2):346–56.
23. Organização Mundial da Saúde. Plano de Ação para Prevenção da Obesidade em Crianças e Adolescentes. 2015;66:1–36. Available from: <http://www.paho.org/bra/images/stories/UTFGCV/planofactionchildobesity-por.pdf?ua=1>
24. Borges LL, Conceição EC, Silveira D. Active compounds and medicinal properties of Myrciaria genus. *Food Chem.* 2014;153:224–33.
25. Elisa Flávia Luiz Cardoso Bailão , Ivano Alessandro Devilla EC da C, Borges LL. Bioactive compounds found in Brazilian cerrado fruits. *Int J Mol Sci.* 2015;16(10):23760–83.
26. Wu SB, Wu J, Yin Z, Zhang J, Long C, Kennelly EJ, et al. Bioactive and marker compounds from two edible dark-colored Myrciaria fruits and the synthesis of jaboticabin. *J Agric Food Chem.* 2013;61(17):4035–43.
27. Araújo CRR, Esteves EA, Dessimoni-Pinto NAV, Batista ÂG. Myrciaria cauliflora Peel Flour Had a Hypolipidemic Effect in Rats Fed a Moderately High-Fat Diet. *J Med Food.* 2014;17(2):262–7.

28. Lenquiste SA, Batista AG, Marineli R da S, Dragano NRV, Maróstica MR. Freeze-Dried Jaboticaba Peel Added to High-Fat Diet Increases HDL-Cholesterol and Improves Insulin Resistance in Obese Rats. *Food Res Int.* 2012;49(1):153–60.
29. Wu S, Dastmalchi K, Long C, Kennelly EJ. Metabolite Profiling of Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora*) and Other Dark-Colored Fruit Juices. *J Agric Food Chem.* 2012;60:7513–25.
30. Wu SB, Long C, Kennelly EJ. Phytochemistry and health benefits of jaboticaba, an emerging fruit crop from Brazil. *Food Res Int.* 2013;54(1):148–59.
31. Morales P, Barros L, Dias MI, Santos-Buelga C, Ferreira ICFR, Ramirez Asquieri E, et al. Non-fermented and Fermented Jaboticaba (*Myrciaria cauliflora* Mart.) Pomaces as Valuable Sources of Functional Ingredients. *Food Chem.* 2016;208:220–7.
32. Borges LL. Bioprodutos Padronizados em Compostos Fenólicos Obtidos de Resíduos Agroindustriais das Cascas dos Frutos de *Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg. 2014.
33. Hagerman AE, Butler LG. Protein Precipitation Method for the Quantitative Determination of Tannins. *J Agric Food Chem.* 1978;26(4):809–12.
34. Mole S, Waterman PG. A Critical Analysis of Techniques for Measuring Tannins in Ecological Studies - I. Techniques for chemically defining tannins. *Oecologia.* 1987;72(1):137–47.
35. Rolim A, Maciel CPM, Kaneko TM, Consiglieri VO, Salgado-Santos IMN, Velasco MVR. Validation Assay for Total Flavonoids, as Rutin Equivalents, from *Trichilia catigua* Adr. Juss (Meliaceae) and *Ptychopetalum olacoides* Bentham (Olacaceae) Commercial Extract. *J AOAC Int.* 2005;88(4):1015–9.
36. Hernández RJ, Mahmoud AM, Königsberg M, López NE, Guerrero D. Obesity : Pathophysiology , monosodium glutamate-induced model and anti- obesity medicinal plants. *Biomed Pharmacother.* 2019;111(October 2018):503–16.
37. França LM, Freitas LNC, Chagas VT, Coêlho CFF, Barroso WA, Costa GC, et al. Mechanisms Underlying Hypertriglyceridemia in Rats with Monosodium I-Glutamate-Induced Obesity: Evidence of XBP-1/PDI/MTP axis Activation. *Biochem Biophys Res Commun.* 2014;443(2):725–30.
38. Cunha N V., de Abreu SB, Panis C, Grassioli S, Guarnier FA, Cecchini R, et al. Cox-2 Inhibition Attenuates Cardiovascular and Inflammatory Aspects in Monosodium Glutamate-Induced Obese Rats. *Life Sci.* 2010;87(11–12):375–81.
39. Konrad SP, Farah V, Rodrigues B, Wichi RB, Machado UF, Lopes HF, et al. Monosodium glutamate neonatal treatment induces cardiovascular autonomic function changes in rodents. *Clinics.* 2012;67(10):1209–14.
40. Marques da Silva T, Lima WG, Marques-Oliveira GH, Martins Dias DP, Granjeiro EM, Virgílio Silva LE, et al. Cardiac Sympathetic Drive is Increased in Cafeteria Diet-Fed Rats Independent of Impairment in Peripheral Baroreflex and Chemoreflex Functions. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2020;1–37.

41. Majewski M, Jurgoński A, Fotschki B, Juśkiewicz J. The Toxic Effects of Monosodium Glutamate (MSG) – The Involvement of Nitric Oxide, Prostanoids and Potassium Channels in the Reactivity of Thoracic Arteries in MSG-Obese Rats. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2018;359(August):62–9.
42. Lobo De Andrade DM, Reis CDF, Castro PFDS, Borges LL, Amaral NO, Torres IMS, et al. Vasorelaxant and Hypotensive Effects of Jaboticaba Fruit (*Myrciaria cauliflora*) Extract in Rats. *Evidence-based Complement Altern Med*. 2015;1–8.
43. Zhao L, Zhang X, Shen Y, Fang X, Wang Y, Wang F. Obesity and Iron Deficiency: A Quantitative Meta-Analysis. *Obes Rev*. 2015;16(12):1081–93.
44. Weiss G, Ganz T, Goodnough LT. Anemia of inflammation. *Blood*. 2019;133(1):40–50.
45. Dobner J, Kaser S. Body Mass Index and the Risk of Infection - from Underweight to obesity. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2018;24(1):24–8. Available from: <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2017.02.013>
46. Savino W, Mendes-Da-Cruz DA, Lepletier A, Dardenne M. Hormonal Control of T-cell Development in Health and Disease. *Nat Rev Endocrinol*. 2016;12(2):77–89.
47. Costa AGV, Garcia-Diaz DF, Jimenez P, Silva PI. Bioactive compounds and health benefits of exotic tropical red-black berries. *J Funct Foods*. 2013;5(2):539–49.
48. Guzik TJ, Skiba DS, Touyz RM, Harrison DG. The Role of Infiltrating Immune Cells in Dysfunctional Adipose Tissue. *Cardiovasc Res*. 2017;113(9):1009–23.