

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ALIMENTOS E SAÚDE

Eliezer Francisco Rocha

**EFEITOS DA FARINHA DE *PERESKIA ACULEATA MILL* (ORA-PRO-NÓBIS)
NO PERFIL CORPORAL, BIOQUÍMICO E MOLECULAR NOS TECIDOS
ADIPOSOS BRANCO E MARROM DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A
TREINO RESISTIDO**

Montes Claros
2022

Eliezer Francisco Rocha

**EFEITOS DA FARINHA DE *PERESKIA ACULEATA MILL* (ORA-PRO-NÓBIS)
NO PERFIL CORPORAL, BIOQUÍMICO E MOLECULAR NOS TECIDOS
ADIPOSOS BRANCO E MARROM DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A
TREINO RESISTIDO**

Versão final

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Saúde (PPGAS) da Universidade Federal de Minas Gerais como parte das exigências para a obtenção do título de Mestre em Alimentos e Saúde.

Orientador: Prof. Dr. João Marcus Oliveira Andrade

Montes Claros
2022

Rocha, Eliezer Francisco.

R672e
2022

Efeitos da farinha de *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-pro-nobis) no perfil corporal, bioquímico e molecular nos tecidos adiposos branco e marrom de camundongos submetidos a treino resistido [manuscrito] / Eliezer Francisco Rocha. Montes Claros, 2022.

52 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Alimentos e Saúde. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): João Marcus Oliveira Andrade.

Banca examinadora: André Luiz Sena Guimarães, Janaína Ribeiro Oliveira e João Marcus Oliveira Andrade.

Inclui referências: f. 35-37; 48-51.

1. Farinhas como alimento - Teses. 2. Tecido adiposo marrom - Teses. 3. Exercícios físicos - Aspectos da saúde - Teses. I. Andrade, João Marcus Oliveira. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 612.3

FOLHA DE APROVAÇÃO

ALUNO(A): ELIEZER FRANCISCO ROCHA

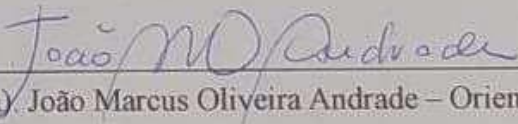
TÍTULO DO ESTUDO: EFEITOS DA FARINHA DE *Pereskia aculeata* Mill. (ORA-PRO-NOBIS) NO PERFIL CORPORAL, BIOQUÍMICO E MOLECULAR NOS TECIDOS ADIPOSOS BRANCO E MARROM DE CAMUNDONGOS SUBMETIDOS A TREINO RESISTIDO

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em ALIMENTOS E SAÚDE, como requisito para obtenção de grau de MESTRE EM ALIMENTOS E SAÚDE.

Aprovada em 25 de fevereiro de 2022, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Dr(a). Janaina Ribeiro Oliveira

Prof(a). Dr(a). André Luiz Sena Guimarães – Unimontes


Prof(a). Dr(a). João Marcus Oliveira Andrade – Orientador/Presidente


Prof(a). Dr(a). Sergio Henrique Sousa Santos – Coordenador do curso

Montes Claros, 25 de fevereiro de 2022.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS - UFMG

Reitor(a): Sandra Regina Goulart Almeida

Vice-reitor(a): Alessandro Fernando Moreira

Pró-reitor(a) de Pesquisa: Mário Fernando Montenegro Campos

Pró-reitor(a) de Pós-Graduação: Fábio Alves da Silva Júnior

CURSO DE MESTRADO EM ALIMENTOS E SAÚDE

- Coordenador(a): Sérgio Henrique Souza Santos - UFMG

- Subcoordenador(a): Bruna Mara Aparecida de Carvalho Mesquita - UFV

Dedico este trabalho a toda minha família e amigos queridos, por todo o carinho, apoio e atenção. As minhas vitórias são mais do que minhas, são nossas!

AGRADECIMENTOS

A Deus, fonte de amor, sustento e sabedoria. “Por isso não temas, porque estou contigo; não te assustes, porque sou o teu Deus; Eu te fortaleço, ajudo e sustento com a mão direita da minha justiça”. (*Isaias 41:10*)

Aos meus pais Jose Francisco Da Rocha e Luzia Ferreira Da Rocha, pelo amor, carinho e ensinamentos indispensáveis para a formação do meu caráter. “A formação do caráter é a obra mais importante que já foi confiada a seres humanos”. (*Ellen G. White*)

A minha querida e amada esposa pelo doce e generoso amor que me proporciona a cada dia, a cada instante. “A mulher sabia edifica a sua casa, mas a insensata, com as próprias mãos, a derriba”. (*Provérbios 14:1*)

Ao meu amigo e orientador, professor Dr. Joao Marcus Andrade, todo o meu respeito, gratidão e admiração. Obrigado por me ensinar, pelos sábios conselhos e pela paciência ao longo dessa jornada.

Ao professor Dr. Sérgio Henrique, todo o meu respeito, gratidão e admiração.

Aos queridos amigos que a vida me presenteou: Juliana Pereira Andrade, Lilian Reis Amaro, Vera Lucia Medeiros, Diana Matos Silva, Alice Crespo, Karine Gusmão, Francisca Souza, Mauro Celio e Mateus Felipe, com vocês divido a alegria pela conclusão deste trabalho. Com palavras, gestos e boas energias vocês contribuíram para a concretização deste sonho.

Ao pessoal do laboratório de pesquisa em saúde PPGCS-Unimontes e UFMG, Daniel, Bruna Caldas, Victor, Marileide, Sergio, Cintia, Carol, Katchuce e Anna Christina pela atenção e contribuição no desenvolvimento desse estudo.

A Mateus Ferreira e seu irmão Bruno, abrigado amigos.

Aos componentes da banca examinadora, professores, Dr. André Luiz Sena Guimarães e Dra. Janaína Ribeiro Oliveira por aceitarem o convite e pelas valiosas contribuições.

RESUMO

O exercício físico é uma importante estratégia de promoção da saúde, especialmente pela modulação que exerce sobre diversos órgãos e tecidos. A performance do exercício físico pode ser otimizada por diversas estratégias, sobretudo alimentares. Assim, identificação de estratégias alimentares como foco na melhora da performance do exercício físico permitindo o incremento de seus efeitos é um promissor campo de investigação. *Pereskia aculeata* Mill. (ora-pro-nobis) é uma espécie perene da família *Cactaceae*, usada, principalmente, como hortaliça folhosa não convencional. Embora apresente grande potencial produtivo e nutricional, além de propriedades medicinais é ainda subexplorada e pouco conhecida. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da farinha de ora-pro-nobis na composição corporal, parâmetros bioquímicos e na expressão molecular de genes associados à lipólise/lipogênese no tecido adiposo branco e da termogênese no tecido adiposo marrom de camundongos submetidos a treino resistido. O estudo foi conduzido com 14 camundongos foram randomizadas em dois grupos: G1: controle (CONTROL), alimentado com dieta padrão + treino resistido; G2: experimental (OPN), alimentado com dieta padrão modificada e adicionada farinha de ora-pro-nobis + treino resistido. A dieta foi produzida a partir da farinha de ora-pro-nobis. A farinha foi produzida com uso de folhas da planta obtidas na região de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil, que foram lavadas, secadas, desidratadas e moídas. A dieta de farinha de ora-pro-nobis apresentou composição final de 59,23% de carboidratos, 28,07% de proteínas e 12,7% de lipídeos, com teor energético de 3,03 Kcal/grama. Os animais foram submetidos a 24 sessões de treino resistido, compostas por 6 conjuntos (séries) de 8 repetições com intervalos de 120 segundos entre os conjuntos. A partir da 13ª sessão, foi incrementado ao treinamento, um peso fixado à cauda do animal, correspondente a 50% do seu peso corporal do animal. No estudo foram mensurados parâmetros corporais, bioquímicos, histológicos, além da expressão de marcadores associados à termogênese no tecido adiposo marrom e adipogênese/lipólise no tecido adiposo branco, pela técnica de qRT-PCR. Os resultados mostraram que os animais suplementados com farinha de ora-pro-nobis apresentaram menores valores de peso médio (Control: 48,03±1,06 vs. OPN: 45,0±0,53), do ganho de peso (Control: 6,11±1,23 vs. OPN: 9,95±1,03) e da adiposidade corporal visceral (Control: 0,031±0,002 vs. OPN: 0,024±0,002); ademais, tiveram maior gasto energético e taxa de oxidação de lipídeos e apresentaram menores níveis de LDL-c. Na avaliação molecular, apresentaram diminuição da expressão de mRNA para ACC e aumento para PGC1 α no tecido adiposo branco e marrom, respectivamente. Conclui-se que a farinha de ora-pro-nobis pode modular os efeitos do exercício físico em camundongos, melhorando parâmetros corporais, bioquímicos e moleculares.

Palavras-chave: Exercício físico. Tecido Adiposo. *Pereskia aculeata* Mill. Termogênese. Lipogênese.

ABSTRACT

Physical exercise is an important health promotion strategy, especially due to the modulation it exerts on various organs and tissues. Exercise performance can be optimized by different strategies, especially food. So, identification of dietary strategies with a focus on improving the performance of physical exercise allowing the increasing its effects is a promising field of investigation. *Pereskia aculeata* Mill. (ora pro-nobis) is a perennial species of the Cactaceae family, used mainly as a vegetable unconventional hardwood. Although it has great productive and nutritional potential, in addition to medicinal properties is still underexplored and little known. The present study aims to objective to evaluate the effects of ora-pro-nobis flour on body composition, biochemical and molecular expression of genes associated with lipolysis/lipogenesis in tissue white adipose tissue and thermogenesis in brown adipose tissue of mice submitted to resistance training. The study was conducted with 14 mice were randomized into two groups: G1: control (CONTROL), fed with standard diet + resistance training; G2: (OPN), fed with a modified standard diet and added ora-pro nobis flour + resistance training. The diet was produced from ora-pro-nobis flour. the flour was produced using leaves of the plant obtained in the region of Montes Claros, Minas Gerais, Brazil, which were washed, dried, dehydrated and crushed. The ora-pro-nobis flour diet presented final composition of 59.23% of carbohydrates, 28.07% of proteins and 12.7% of lipids, with an energy content of 3.03 Kcal/gram. The animals were submitted to 24 sessions of resistance training, composed of 6 sets (sets) of 8 repetitions with intervals of 120 seconds between sets. From the 13th session onwards, a weight was added to the training. attached to the animal's tail, corresponding to 50% of its animal's body weight. In the study body, biochemical and histological parameters were measured, in addition to the expression of markers associated with thermogenesis in brown adipose tissue and adipogenesis/lipolysis in white adipose tissue by the qRT-PCR technique. The results showed that the animals supplemented with oro-pro-nobis flour had lower mean weight values (Control: 48.03 ± 1.06 vs. OPN: 45.0 ± 0.53), weight gain (Control: 6.11 ± 1.23 vs. OPN: 9.95 ± 1.03) and visceral body adiposity (Control: 0.031 ± 0.002 vs. OPN: 0.024 ± 0.002); in addition, they had higher energy expenditure and lipid oxidation rate and had lower LDL-c levels. In the molecular evaluation, they showed a decrease in mRNA expression. for ACC and increase for PCG1 α in white and brown adipose tissue, respectively. It is concluded that ora-pro-nobis flour can modulate the effects of physical exercise in mice, improving body, biochemical and molecular parameters.

Keywords: *Pereskia aculeata* Mill.; Brown Adipose Tissue; White adipose tissue; Resistance training.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURAS

- Figura 1 – Efeitos sistêmico de algumas miocinas 13
- Figura 2 – Principais depositos de tecidos adiposo e suas principais localizações anatomicas em camundongos e humanos 14

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC	Ácido 1-Carboxílico-1-amino Ciclopropano
CAM ϕ	Macrofagos Classicamente Ativos
CLS	Estruturas em Forma de Coroas
CPT1	Carnitina Palmitoiltransferase I
DAMP	Padrão Molecular Associado a Danos
DCNT	Doenças Crônicas Não Transmissíveis
FAO	Agricultura e Alimentação
FN γ	Interferon-Gamma
GLP-1	Peptídeo Semelhante ao Glucagon 1
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IGF-1	Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1
IL-1 β	Interleucina-1 β
IL-4	Interleucina -4
IL-6	Interleucina – 6
IL-10	Interleucina - 10
IL-13	Interleucina -13
IL-15	Interleucina - 15
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
M2	Macrofagos tipo 2
mRNA	Ácido Ribonucléico Mensageiro
OPN	Ora-Pro-Nóbis
PGC1 α	Proliferador de Peroxissoma Coativador 1-Alfa
TAB	Tecido Adiposo Branco
TAM	Tecido Marrom
Th2	Celula T Auxiliar 2
TNF α	Fator de Necrose Tumoral Alfa, I
UCP1	Proteína de Desacoplamento1

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS.....	19
2.1 Objetivo Geral	19
2.2 Objetivos Específicos	19
4 PRODUTOS	20
4.1 Artigo 1:	21
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	49
REFERÊNCIAS	50
ANEXOS.....	54

INTRODUÇÃO

A inatividade física ou sedentarismo é um problema de saúde pública mundial, e dados recentes indicam que aproximadamente 1/3 da população adulta mundial é fisicamente inativa. Isso significa que esses indivíduos não realizam o mínimo de 150 minutos/semanais de atividade física aeróbica moderada a vigorosa recomendada pela Organização Mundial da Saúde (1). A inatividade física está diretamente relacionada ao maior risco para o desenvolvimento das principais doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), (2), (3), (4). As DCNT são um conjunto de doenças de evolução insidiosa e percurso clínico crônico. Nesse conjunto de DCNT destacam-se as doenças cardiovasculares (por exemplo, infarto agudo do miocárdio e acidente vascular encefálico), câncer, doenças respiratórias crônicas (por exemplo, doença pulmonar obstrutiva crônica e asma) e *diabetes mellitus* (5). Em 2016, as DCNT, foram responsáveis por aproximadamente 40,5 milhões de mortes em todo o mundo, representando cerca de 71% das 56,9 milhões de mortes totais (48).

O exercício físico é uma das mais importantes estratégias de promoção de saúde, prevenção e tratamento de diversas DCNT e vários mecanismos biológicos podem ser responsáveis pela redução dos fatores de risco para doenças crônicas e morte prematura associada ao exercício físico (7) e atualmente existe um consenso na literatura de que o exercício físico regular está diretamente relacionado a: (1) melhorias na composição corporal, incluindo adiposidade abdominal e peso corporal reduzidos; (2) melhores perfis de lipoproteínas, através da redução dos níveis de triglicérides e lipoproteínas de baixa densidade (LDL-Low Density Lipoprotein), e aumento dos níveis de lipoproteínas de alta densidade (HDL-High Density Lipoprotein), prevenindo a doença aterosclerótica; (3) maior eficiência na homeostase da glicose e sensibilidade à insulina; (4) redução da pressão arterial; (5) redução de inflamação sistêmica de baixo grau; (6) melhora da função cardiorrespiratória; (7) melhora de aspectos relacionados à saúde mental; entre vários outros benefícios diversos (8).

Sob condições de exercício físico, os músculos podem produzir e liberar moléculas, citocinas ou peptídeos sinalizadores, denominados miocinas. Essas moléculas podem exercer ações parácrinas e endócrinas (9). Nem todos são produzidos exclusivamente pelo músculo esquelético, pois também podem ser liberados por outras células, como o tecido adiposo. No entanto, o músculo esquelético é possivelmente a fonte primária da maioria das miocinas, pois

representa mais de 30% da massa corporal humana. As miocinas têm sido associadas aos efeitos benéficos do exercício regular na saúde (10). De fato, esses mediadores musculares são plausivelmente necessários para a homeostase de todo o corpo, incluindo reações metabólicas nos tecidos cardiovascular, renal, adiposo, pancreático, ósseo e hepático (10), (11), (12). A Figura 1 mostra os efeitos das miocinas induzidas pelo exercício físico sobre diversos órgão/tecidos.

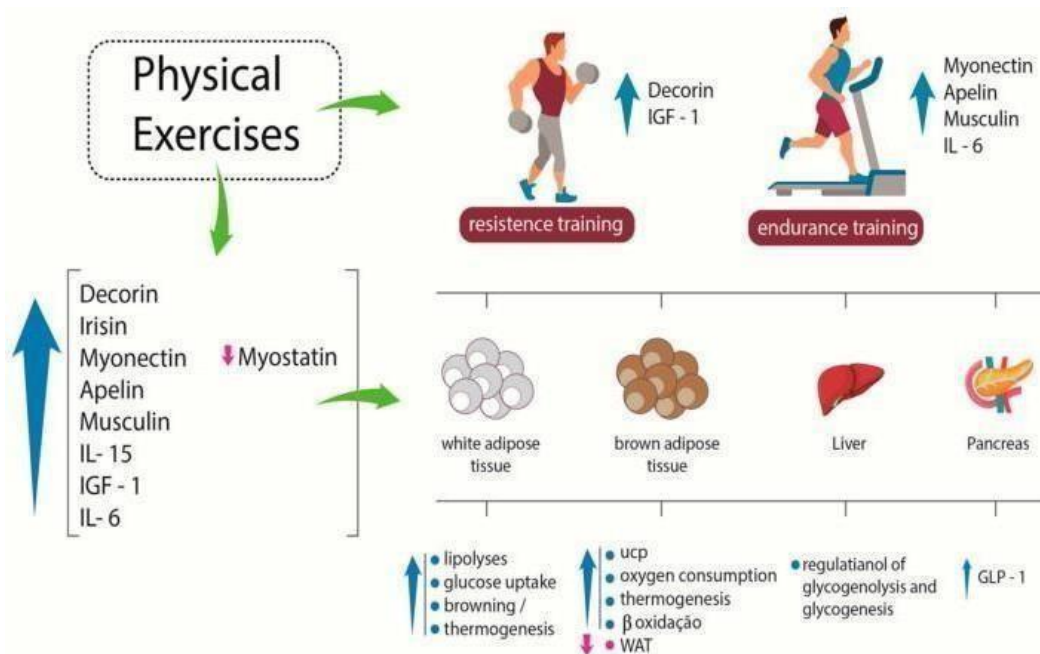


Fig 1. Efeitos sistêmicos de algumas miocinas. Após o exercício resistido são liberadas miocinas específicas, como decorina e Fator de Crescimento Semelhante à Insulina Tipo 1 (IGF-1 Insulin-like Growth Factor Type 1); após o treinamento de resistência, outras miocinas específicas, como mionectina, apelina, musculina e Interleucina-6 (IL-6) são produzidas e desempenham papéis diferentes em vários tecidos. IGF-1; IL-6; IL-15 (interleucina-15); Proteína de Desacoplamento (UCP-Uncoupling Protein); Tecido Adiposo Branco (TAB); GLP-1 Peptídeo-1 Semelhante ao Glucagon (GLP-1 - Glucagon-like Peptide-1). As setas para cima indicam aumento; setas para baixo indicam redução. Adaptado de (13).

O tecido adiposo é o principal órgão de atividade endócrina do corpo e possui forte modulação pelo exercício físico. Segundo características embrionárias, morfológicas e funcionais, é dividido em, pelo menos dois subtipos, a saber: tecido adiposo branco (TAB) e tecido adiposo marrom (TAM) (14). O TAB representa a maior parte do tecido adiposo no organismo e é responsável pelo armazenamento de triacilgliceróis (reserva energética), isolamento térmico, proteção contra choque mecânicos e, especialmente pela produção, liberação e ação, local e sistêmica, de adipocinas que exercem diversos efeitos moleculares (15), (16), (17). Por outro lado, o TAM está relacionado com a termogênese, apresentando alta densidade mitocondrial e exercendo importante papel no processo de gasto energético (17), (18). O tecido adiposo pode representar até 25% da massa corporal em indivíduos adultos magros, importante fonte de regulação dos processos energéticos em nosso corpo e possui distribuição corporal variável de

acordo com idade, sexo e outras características biotípicas (Figura 2) (19).

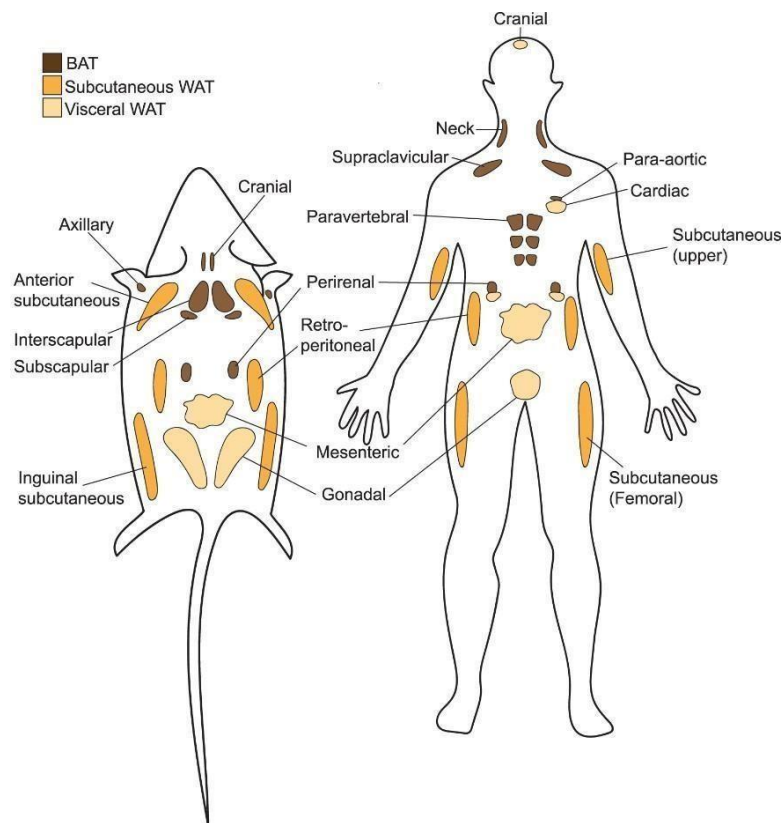


Fig 2. Principais depósitos de tecido adiposo e suas localizações anatômicas em camundongos e humanos.

Existem dois tipos principais de tecido adiposo, tecido adiposo branco rico em lipídios (WAT- White Adipose Tissue); responsável pelo armazenamento de energia) e tecido adiposo marrom rico em mitocôndrias (BAT- Brown Adipose Tissue) ; responsável pela queima de energia). Adipócitos de BAT e WAT emergem de linhagens celulares distintas; no entanto, o WAT, especialmente o subcutâneo, pode se converter em gordura metabolicamente ativa através do processo de escurecimento (*browning*). O WAT é encontrado em muitas localizações anatômicas. Os maiores depósitos são subcutâneos (sob a pele; por exemplo, inguinal, glúteo e femoral) e viscerais (dentro da cavidade abdominal, entre os órgãos; por exemplo, omental, mesentérico e epicárdico). Depósitos de WAT menores são encontrados ao redor dos vasos sanguíneos (perivasculares, que regulam o tônus vascular), na medula óssea (que regulam a remodelação óssea) ou como depósitos ectópicos em órgãos específicos (por exemplo, doença hepática gordurosa não alcoólica, pâncreas gorduroso ou gordura intramuscular). Esses depósitos adiposos possuem características moleculares únicas; portanto, a distribuição do peso tem importantes consequências biológicas. Por exemplo, a maioria dos adipócitos viscerais tem densidade mitocondrial ligeiramente maior, são mais lipolíticos, são menos sensíveis à insulina, produzem menos leptina e contribuem com mais ácidos graxos livres circulantes em comparação aos adipócitos subcutâneos e, portanto, têm uma associação mais forte com a síndrome metabólica. O BAT está presente em quantidade bem menor que o WAT. Localiza-se sobretudo nas regiões cervical e supraclavicular em humanos e interscapular nos camundongos. É um tecido com intensa atividade metabólica, sendo responsável pela termogênese para produção de calor. Adaptado de (19).

O TAB é o principal reservatório energético corporal. Os adipócitos através de respostas bioquímicas específicas são capazes de estocar triacilglicerol, especialmente em períodos de abundância energética (lipogênese) e de mobilizá-los para degradação e geração energética em situações de déficit calórico (lipólise) (15). O TAB possui intensa atividade endócrina e parácrina, sendo seu fenótipo de expressão fortemente influenciado por fatores ambientais, como dieta, exercício físico. Mais de 600 adipocinas são secretadas pelo TAB, influenciando a homeostase lipídica e glicêmica, modulando o apetite, a microbiota intestinal, a resposta imunológica e estabelecendo forte interação com outros órgãos e tecidos corporais, (15),(16). Por exemplo, no contexto da obesidade, a disfunção do TAB predispõe outras comorbidades, como o diabetes (devido aumento da resistência à insulina), a doença hepática gordurosa não-alcoólica, dislipidemias e doenças cérebro-cardiovasculares, como acidente vascular encefálico e infarto agudo do miocárdio (20), (21), (22).

Em condições de peso corporal saudável (homeostase metabólica), o microambiente do tecido adiposo é bem vascularizado e rico em citocinas anti-inflamatórias (como interleucinas 4, 10, e 13) e, como consequência, hospeda uma variedade de células imunes, incluindo macrófagos 2 (M2), células linfoides inatas do tipo 2, células T auxiliares (Th2- T helper) e eosinófilos produtores de interleucina 4 (IL-4). Em resposta ao ganho de peso corporal ou obesidade, os adipócitos sofrem hiperplasia e hipertrofia; à medida que o suprimento vascular se torna limitado, essas células entram em injúria e apoptose. Isso libera padrões moleculares associados a danos (DAMP- Damage Associated Molecular Standard) no microambiente, que desencadeiam a infiltração e ativação de células imunes inatas (por exemplo, células dendríticas, macrófagos e granulócitos). Esses efeitos promovem o desenvolvimento de estruturas semelhantes à coroas (CLS- Crown-like structures) e respostas imunes tipo 1 (pró-inflamatórias). Essa resposta inclui acúmulo de citocinas do tipo 1 (por exemplo, TNF α - Tumor necrosis factor- α , IFN γ - Interferon-gamma, IL-1 β - Interleukin-1 β e IL-6- Interleukin-6) e células imunes pró-inflamatórias, incluindo vários granulócitos, células linfoides inatas do tipo 1, células B e células T CD8+, que perpetuam respostas inflamatórias crônicas. Os macrófagos são altamente diversos dentro do tecido adiposo hipertrófico/hiperplásico; aqueles associados à CLS (macrófago associado à CLS, CAM ϕ - Classically activated macrophages) proliferam e expressam os marcadores de superfície celular CD11c e CD9, enquanto aqueles que estão mais distantes (não-CAM ϕ) expressam o antígeno linfocitário 6C (Ly6C). Essas alterações inflamatórias coincidem com fibrose crônica e inflamação vascular, que se alimentam para sustentar um processo de inflamação contínuo, que mantém-se localmente, para que libera produtos na corrente sanguínea, interferindo na dinâmica de outros órgãos/tecido (23).

Diferente do TAB, o tecido adiposo marrom é rico em mitocondriais, possui vasculatura e inervação densas e possui seu citoplasma repleto de pequenas gotículas multiloculares de gordura. É o principal local de realização da termogênese sem tremores em mamíferos. Os adipócitos marrons possuem alta capacidade oxidativa e possuem alta concentração da proteína desacopladora (UCP1- Uncoupling Protein 1) na membrana interna das mitocôndrias (17). A UCP1 desacopla a cadeia respiratória no processo de fosforilação oxidativa, produzindo uma alta taxa de oxidação e permitindo que a célula use energia metabólica para gerar calor, deste modo, regula a temperatura corporal e aumenta o gasto energético, assim permitindo ao organismo proteção contra o frio e a obesidade (24), (25). Ademais, ao contrário do conceito predominante de que a presença e função do TAM serão restritas a humanos, apenas a neonatos e lactentes, estudos diversos indicam para a presença anatômica e funcional deste tecido em humanos adultos (26), (27), (28). Sabe-se ainda, que muitos fatores ambientais podem modular o TAM, como a exposição ao frio, drogas adrenérgicas, dieta e exercício físico.

O TAM ainda, estabelece mecanismos diversos de interação com outros órgãos/tecidos, influenciando diversos processos biológicos, sobretudo metabólicos. Análoga à visão anteriormente sustentada de que o TAB era simplesmente um órgão de armazenamento de energia, está se tornando cada vez mais evidente que o TAM não funciona isoladamente apenas para dissipar energia química como calor. Em vez disso, demonstrou interagir extensivamente com outros tecidos por meio de vias neurais e endócrinas tanto na saúde quanto na doença (29).

Por exemplo, pós uma refeição rica em gordura, o colesterol na forma de quilomícrons é entregue primeiro ao fígado e depois na forma de lipoproteínas ricas em triglicerídeos para o TAM. Os remanescentes de lipoproteínas ricas em colesterol são então liberados pela ação da lipoproteína lipase e, por sua vez, são entregues pela corrente sanguínea de volta ao fígado, onde os hepatócitos convertem o colesterol em ácidos biliares. Esses ácidos biliares circulantes derivados do colesterol da dieta retornam então ao TAM para promover a termogênese. Também pode haver uma linha de comunicação do TAM com o cérebro durante a alimentação, devido às propriedades de detecção de calor dos neurônios hipotalâmicos. Durante o consumo crônico de uma dieta rica em carboidratos, o aumento da atividade da glicose-quinase no fígado, resulta na ativação de neurônios aferentes vagais que inibem aqueles eferentes simpáticos no TAM, resultando em diminuição da termogênese naqueles suscetíveis ao ganho de peso. Da mesma forma, durante o envelhecimento, a diminuição da acilcarnitina liberada pelo fígado e

produzida pelos ácidos graxos livres liberados durante a lipólise do TAM, resulta em diminuição da termogênese do TAM e intolerância ao frio. O próprio TAM libera neuregulina 4, que protege o fígado contra o acúmulo de gordura e a resistência à insulina associados ao consumo crônico de uma dieta rica em gordura. Os ácidos graxos liberados pela lipólise do TAM também promovem a liberação de insulina do pâncreas, o que causa a captação de glicose, ácidos graxos e lipoproteínas ricas em triglicerídeos pelo TAM para sustentar a termogênese (29).

Nas últimas décadas tem-se buscado o desenvolvimento de técnicas, procedimento e produtos que permitam o incremento dos resultados associados ao exercício físico. Dentre as várias estratégias, tem-se um forte campo através da nutrição. A proposição de suplementos nutricionais são uma aposta da indústria alimentícia e prática clínica fortemente incorporada nos últimos anos, por nutricionistas, professores de educação física e médicos.

No contexto regional, várias espécies vegetais atraem a atenção devido suas propriedades nutricionais. Destaca-se a *Pereskia aculeata* Mill., uma planta trepadeira semilenhosa, que pertence à família *Cactaceae*, sendo nativa da América do Sul e Central. Apresenta ramos podem atingir até 10 metros de altura na presença de planta-suporte próxima. Como planta isolada apresenta porte arbustivo; apresenta folha simples, simétrica, elíptica e de textura coriácea, com cerca de 7 cm de comprimento e 3 cm de largura. O pecíolo é curto e duas a seis folhas agrupam-se em ramos laterais alternos e apresentam espinho na axila das folhas (30),(31) .

A *Pereskia aculeata* Mill. é conhecida no Brasil no ora-pro-nobis e muito comumente usada devido seu excelente potencial nutricional, sendo fonte de substâncias bioativas e nutrientes (32). Na medicina popular, as folhas são a única parte tradicionalmente consumida, sendo utilizadas na diminuição dos processos inflamatórios e na recuperação da pele em casos de queimadura (33), (34), (35), também é usada para tratamento de anemia ferropriva devido seu alto teor de ferro.

Sob o aspecto nutricional, o ora-pro-nobis é uma espécie considerada nutracêutica, pelo alto teor de proteína em suas folhas. Os teores de proteína encontrados variaram em estudos de análise nutricional, de 17,4 a 28,9 g/100 g em matéria seca (36), (37) . Além disso, a proteína do ora-pro-nobis apresenta alto valor biológico, o que está diretamente relacionado com a

composição de seus aminoácidos, predominando a lisina. A ora-pro-nobis possui aminoácidos essenciais acima do necessário para o consumo humano, recomendado pela *Food and Agriculture Organization* (FAO). As folhas podem ser consumidas como refogados e sopas na forma *in natura*, na forma de farinha pode ser utilizado em preparação de tortas, macarrão, biscoitos, pães e bolos (32).

A literatura científica reporta alguns poucos estudos que avaliam a utilização da *Pereskia aculeata* Mill. sobre o metabolismo corporal. Estudo de Barbalho et al. utilizando ratos Wistar, mostrou que a farinha de Ora-Pro-Nóbis (OPN) melhorou a motilidade intestinal e esteve associada à redução da gordura visceral e ao aumento dos níveis de HDL-c (38). Corroborando, estudo realizado com mulheres mostrou que a utilização bebida suplementada com farinha de OPN por seis semanas foi capaz de reduzir o peso e adiposidade corporal e melhorou sintomas gastrointestinais, como constipação e eructações (39). Não se identificou estudos que aprofundassem mais na avaliação corporal, bioquímica e molecular da farinha de OPN, especialmente no tecido adiposo (17), (18), (19), (20), (21), (22).

Diante desse cenário, o presente estudo levanta a seguinte questão norteadora: quais os potenciais efeitos de uma dieta à base de farinha de ora-pro-nobis no metabolismo corporal de camundongos submetidos a treino resistido? Pode a ora-pro-nobis propiciar melhora dos resultados já conhecidos do exercício físico?

OBJETIVOS

Objetivo geral

Avaliar os efeitos da farinha de *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-pro-nobis) na composição corporal, parâmetros bioquímicos e na expressão molecular de marcadores associados à lipólise/lipogênese no tecido adiposo branco e da termogênese no tecido adiposo marrom de camundongos submetidos a treino resistido.

Objetivos específicos

- Avaliar os efeitos da farinha de *Pereskia aculeata* Miller (Ora-pro-nobis) sobre:
 - a) o peso e a adiposidade corporal;
 - b) a morfologia do TAB e TAM;
 - c) parâmetros associados à atividade termogênica;
 - d) os níveis séricos de marcadores bioquímicos associados aos perfis glicêmico e lipídico;
 - e) a expressão de mRNA de UCP1 e PGC1 α no TAM e ACC e CPT1 no TAB.

PRODUTOS TÉCNICO-CIENTÍFICOS

Artigo 1: Dieta à base de farinha de *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-pro-nobis) diminui peso e adiposidade corporal, aumenta a atividade termogênica e modula a expressão de PGC1 α e ACC no tecido adiposo de camundongos submetidos a treino resistido, com intenção de submissão ao periódico Journal of Ethnopharmacology (Fator de impacto: 4,36; Qualis CAPES: A1 na área interdisciplinar).

Artigo 1

Dieta à base de farinha de *Pereskia aculeata* Mill. (Ora-pro-nobis) diminui peso e adiposidade corporal, aumenta a atividade termogênica e modula a expressão de PGC1 α e ACC no tecido adiposo de camundongos submetidos a treino resistido

Eliezer Francisco Rocha¹, Lílian Betânia Reis Amaro², Alice Crespo Ferreira², Deborah de Farias Lelis², Bruna Viana Caldas², Mateus Ferreira Mendes³, Elizabeth Adriana Esteves³, Sérgio Henrique Sousa Santos^{1,2}, João Marcus Oliveira Andrade^{1,2,4}

¹ Programa de Pós-Graduação em Alimentos e Saúde da Universidade Federal de Minas Gerais, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Universidade Estadual de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.

³ Programa Multicêntrico de Pós-Graduação em Ciências Fisiológicas. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Minas Gerais, Brasil.

⁴ Departamento de Enfermagem. Universidade Estadual de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

Introdução: o treino resistido é uma importante ferramenta para promoção da saúde e prevenção e tratamento de diversas doenças. A identificação de estratégias alimentares como foco na melhora da performance do treino resistido permitindo o incremento de seus efeitos é um promissor campo de investigação. *Pereskia aculeata* Mill. (ora-pro-nobis) é uma espécie perene da família *Cactaceae*, usada, principalmente, como hortaliça folhosa não convencional. Embora apresente grande potencial produtivo e nutricional, além de propriedades medicinais é ainda subexplorada e pouco conhecida. **Objetivo:** avaliar os efeitos da farinha de ora-pro-nobis na composição corporal, parâmetros bioquímicos e na expressão molecular de genes associados à lipólise/lipogênese no tecido adiposo branco e da termogênese no tecido adiposo marrom de camundongos submetidos a treino resistido. **Método:** quatorze camundongos foram randomizadas em dois grupos: G1: controle (CONTROL), alimentado com dieta padrão + treino resistido; G2: experimental (OPN), alimentado com dieta padrão modificada e adicionada farinha de ora-pro-nobis + treino resistido. O treino resistido foi realizado durante seis semanas. Foram mensurados parâmetros corporais, bioquímicos, histológicos, além da expressão de marcadores associados à termogênese no tecido adiposo marrom e adipogênese/lipólise no tecido adiposo branco, pela técnica de qRT-PCR. **Resultados:** os animais suplementados com farinha de ora-pro-nobis apresentaram diminuição do peso corporal e adiposidade visceral; tiveram maior gasto energético e taxa de oxidação de lipídeos; apresentaram menores níveis de LDL-c e tiveram diminuição da expressão de mRNA para ACC e aumento para PGC1 α no tecido adiposo branco e marrom, respectivamente. **Conclusão:** os achados do presente estudo indicam o potencial papel da farinha de ora-pro-nobis sobre parâmetros corporais, bioquímicos e moleculares em camundongos submetidos a treino resistido.

Palavras-chave: *Pereskia aculeata* Mill.; Tecido Adiposo Marrom; Tecido Adiposo

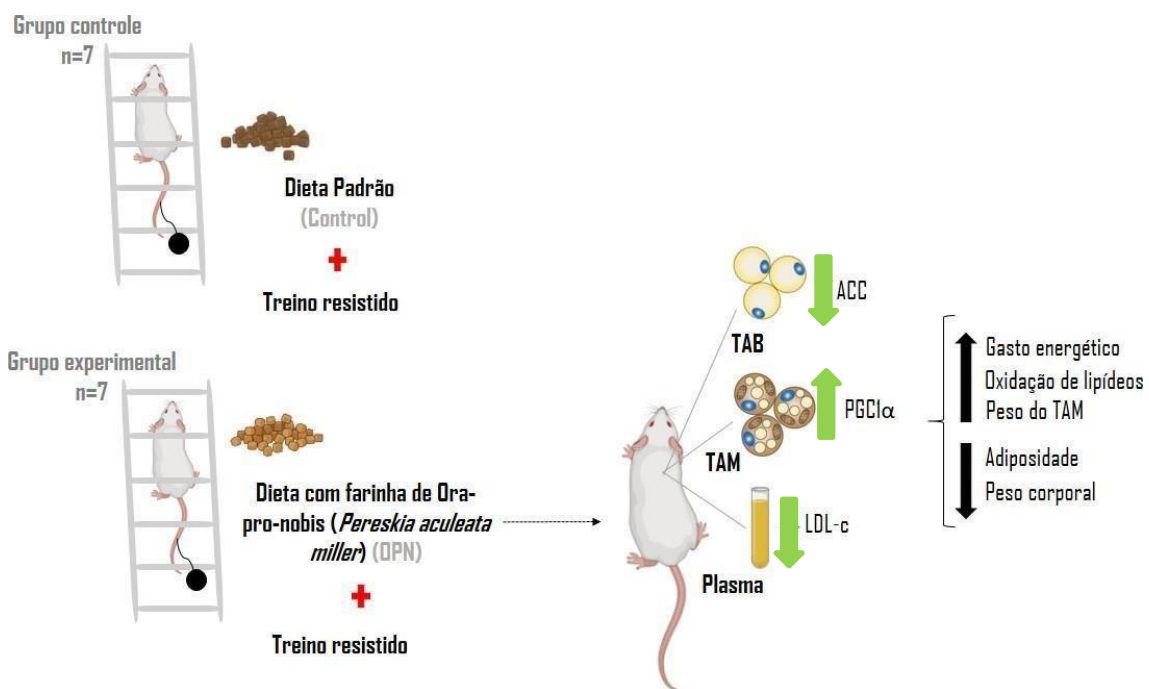
Branco; Treino Resistido.

ABSTRACT

Introduction: the resistance training is an important tool for health promotion and prevention and treatment of various diseases. The identification of dietary strategies as a focus on improving the performance of resistance training allowing the increase of its effects is a promising field of investigation. *Pereskia aculeata* Mill. (ora-pro-nobis) is a perennial species of the Cactaceae Family, used mainly as an unconventional leafy vegetable. Although it has great productive and nutritional potential, in addition to medicinal properties, it is still underexplored and little known. **Objective:** to evaluate the effects of ora-pro-nobis flour on body composition, biochemical parameters and molecular expression of genes associated with lipolysis/lipogenesis in White adipose tissue and thermogenesis in brown adipose tissue of mice submitted to resistance training. **Methods:** fourteen mice were randomized into two groups: G1: control, fed standard diet+ resistance training; G2: experimental OPN, fed a modified standard diet and added ora-pro-nobis flour + resistance training. Resistance training was performed for six weeks. Body, biochemical and histological parameters were measured, in addition to the expression of markers associated with thermogenesis in brown adipose tissue and adipogenesis/lipolysis in White adipose tissue, using the qRT-PCR technique. **Results:** the animals supplemented with ora-pro-nobis flour showed a decrease in body weight and visceral adiposity; had higher energy expenditure and lipid oxidation rate; had lower LDL-c levels and had decreased mRNA expression. For ACC and increased PGC1 α in White and brown adipose tissue, respectively. **Conclusion:** the findings of the present study indicate the potential role of ora-pro-nobis flour on body, biochemical and molecular parameters in mice submitted to resistance training.

Keywords: *Pereskia aculeata* Mill.; Brown Adipose Tissue; White adipose tissue; Resistance training.

RESUMO GRÁFICO



INTRODUÇÃO

São amplamente conhecidos os benefícios que o exercício físico promove para à saúde humana, sendo uma das mais importantes estratégias de prevenção e tratamento de diversas doenças cardiovasculares, obesidade e diabetes, impactando positivamente na melhora do perfil de morbimortalidade (1,2). A prática regular de exercício físico auxilia na melhora da performance cardiorrespiratória, da composição corporal (especialmente por redução da adiposidade e incremento da massa magra), da resposta metabólica corporal, do bem-estar psicossocial e da qualidade de vida (3),4,5).

Dentro da vertente onde se considera o exercício físico um método eficaz para manutenção da saúde e prevenção de doenças está a modalidade de treinamento resistido, pois é considerado uma prática eficiente para a modificação da composição corporal pelo aumento da massa muscular e diminuição da adiposidade (6). O treinamento resistido é caracterizado pela utilização de equipamentos ou pesos que oferecem uma carga mecânica oposta ao movimento do segmento corporal e condiciona adaptações fisiológicas como musculares, neurais e ou hipertróficas no indivíduo (6).

Diversas estratégias comportamentais e alimentares buscam melhorar os resultados associados ao exercício físico, incremento desempenho e otimizando resultados biológicos (7,8). Assim, a identificação de fontes nutricionais, especialmente de origem vegetal, pode emergir como um promissor campo de atuação no contexto da prática de exercício físico.

A *Pereskia aculeata* Mill. é uma planta trepadeira, que pertence à família *Cactaceae*, sendo nativa da América do Sul e Central, e muito comumente usada devido seu excelente potencial nutricional, sendo fonte de substâncias bioativas e nutrientes (9). No Brasil, é conhecida popularmente por como ora-pro-nobis (OPN), e na medicina

popular, as folhas são a única parte tradicionalmente consumida, sendo utilizadas na diminuição dos processos inflamatórios e na recuperação da pele em casos de queimadura (10,11,12).

As folhas possuem importante qualidade nutricional, como alto teor de carboidrato, lisina, cálcio, fósforo, magnésio, ferro, cobre e, principalmente, alto teor de proteínas. E podem ser consumidas como refogados e sopas na forma *in natura*, na forma de farinha pode ser utilizado em preparação de tortas, macarrão, biscoitos, pães e bolos (9).

A literatura científica reporta alguns poucos estudos que avaliam a utilização da *Pereskia aculeata Mill.* sobre o metabolismo corporal. Estudo de Barbalho et al. utilizando ratos Wistar, mostrou que a farinha de OPN melhorou a motilidade intestinal e esteve associada à redução da gordura visceral e ao aumento dos níveis de HDL-c (13). Corroborando, estudo realizado com mulheres mostrou que a utilização bebida suplementada com farinha de OPN por seis semanas foi capaz de reduzir o peso e adiposidade corporal e melhorou sintomas gastrointestinais, como constipação e eructações (14). Não se identificou estudos que aprofundassem mais na avaliação corporal, bioquímica e molecular da farinha de OPN, especialmente no tecido adiposo (15,16,17,18,19,20).

Assim, identificação de potenciais efeitos da farinha de OPN, especialmente associados ao exercício físico é um promissor campo de atuação social, econômica e científica. O presente estudo tem como objetivo avaliar os efeitos da farinha de ora-pro-nobis na composição corporal, parâmetros bioquímicos e na expressão molecular de genes associados à lipólise/lipogênese no tecido adiposo branco e da termogênese no tecido adiposo marrom de camundongos submetidos a treino resistido (21).

MATERIAIS E MÉTODO

Desenho do estudo

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados Comissão de Ética em Experimentação e Bem-Estar Animal da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes), Minas Gerais, Brasil (protocolo nº 204/2019). Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (41 x 34 x 18 cm) com quatro animais/gaiola, sob ciclo de luminosidade claro/escuro de 12/12 horas, temperatura ($22^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$), humidade relativa do ar ($60\%\pm 5\%$), baixo nível sonoro ($<40\text{dB}$) e livre acesso à alimentação e água durante todo o período de aclimatização e tratamento.

O experimento foi conduzido com 14 camundongos machos da linha Swiss com seis semanas de idade, sendo randomizados após período de aclimatização em dois grupos: 1) grupo controle (Control) alimentado da dieta padrão e 2) grupo experimental (OPN) alimentado com dieta padrão modificada à base de farinha de ora-pro-nobis. Os animais foram mantidos em aclimatização por duas semanas. Na segunda semana, os camundongos foram gradualmente introduzidos ao treino resistido durante cinco dias consecutivos, mantendo repouso de 48 horas até o início do tratamento. O protocolo de familiarização foi realizado para habituar os camundongos ao ambiente da escada. Cada sessão diária de familiarização consistia em subir voluntariamente a escada e duração 3-5 minutos/animal.

Produção da farinha e preparo da dieta

As folhas de *Pereskia aculeata* Mill. foram obtidas a partir de produtores locais na cidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil (coordenadas geográficas: $16^{\circ}43'41''\text{S}$, $43^{\circ}51'54''\text{W}$) A coleta foi feita de forma manual, com auxílio de uma tesoura, priorizando

folhas jovens, sem deterioração por pragas. Após coleta, o material foi levado, acondicionadas em uma caixa térmica com temperatura entre a 10°C e transportado até o Laboratório de Bromatologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, na cidade de Montes Claros, Minas Gerais, Brasil. Em seguida, as folhas foram lavadas com água destilada, imersas em uma solução de hipoclorito de sódio (1:1) durante 10 minutos e novamente lavadas água destilada. Posteriormente, foram submetidas à secagem e desidratação em estufa ventilada a uma temperatura de 60°C por 72 horas para posteriormente, serem trituradas em moinho (tipo Willey). Obteve-se então a farinha, que foi peneirada em 60 Mesh e armazenada em potes plásticos revestidos de papel alumínio, até o momento de uso não excedendo tempo superior a 30 dias da fabricação (13,22).

Para preparo da dieta, a farinha inicialmente foi submetida à análise química. O teor de nitrogênio total foi determinado pelo método de Kjeldahl, utilizando-se o fator 6,25 para a obtenção do teor de proteína total. O teor de umidade foi determinado pelo método da secagem em estufa com circulação de ar a 105°C. O teor de cinzas foi obtido a partir do princípio da incineração. O extrato etéreo ou lipídeos totais foram determinados pelo método de extração Soxhlet. O teor de carboidratos foi calculado pela diferença entre 100 e a soma das porcentagens dos teores de umidade, proteínas, fibras, lipídios totais e cinzas. Todas as análises químicas descritas na Tabela 1 foram determinadas conforme normas e procedimentos da *Association Of Official Analytical Chemists* (AOAC) (23).

Tabela 1. Composição centesimal da farinha de folhas de uma espécie de Ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Mill.) em 100g matéria prima seca.

Determinações	Média%	Média% na matéria seca
Matéria seca total	91,72	***
Cinzas	17,91	19,52
Extrato etéreo	4,33	4,72
Proteína bruta	32,20	35,11
Fibra em detergente neutro	53,69	58,54

A dieta padrão é composta por 66,24% de carboidratos, 23,34% de proteínas e 10,33% de lipídeos, com valor energético de 3,95 Kcal/grama. Para cada 100 gramas da dieta padrão modificada à base de farinha de ora-pro-nobis, foram utilizados 60 g da dieta padrão + 40 gramas da farinha de ora-pro-nobis, cuja composição final foi de 59,23% de carboidratos, 28,07% de proteínas e 12,7% de lipídeos, com teor energético de 3,03 Kcal/grama.

Protocolo de treino resistido (TR)

O protocolo de TR foi realizado usando escada vertical de 110 cm de altura, 18 cm de largura e 2 cm entre os degraus, com inclinação de 80°. Foram realizada 24 seções, com intervalo de 48 horas entre cada uma delas. Cada seção foi composta por 6 conjuntos (séries) de 8 repetições com intervalos de 120 segundos entre os conjuntos. A partir da 13ª seção, foi incrementado ao treinamento, um peso fixado à cauda do animal, correspondente a 50% do seu peso corporal. Os animais foram estimulados a subir devido à presença de uma placa de aço na base da escada em que uma corrente elétrica de 20 volts de intensidade e 45 hertz de frequência foi aplicado às quatro patas dos animais (18).

Mensuração do peso corporal e do consumo alimentar

O peso corporal e o consumo alimentar foram mensurados duas vezes por semana, em dias e horários fixos e previamente definidos (segunda-feira e quinta-feira pela manhã), usando balança semianalítica. Foi registrado o peso corporal por animal e a média por grupo em cada dia de avaliação. Em relação ao consumo alimentar, foi obtida a média de consumo alimentar/animal/dia, sendo corrigida pelo peso corporal médio no período mensurado, conforme a fórmula: consumo alimentar final – consumo alimentar inicial = x; x/animais por gaiola/número de dias = y; y/peso corporal médio no intervalo de cada mensuração.

Indicadores da termogênese

Na última semana de experimento, os animais foram submetidos à avaliação do consumo de oxigênio (VO_2) e produção de gás carbônico (VCO_2). Para isso, foram mantidos em jejum noturno de 12 horas e em seguida, colocados individualmente em um calorímetro indireto monitorado por computador (Oxylepto, Harvard Apparatus, Spain) acoplado a uma câmara metabólica (fluxo de ar = 1,0/min). Os parâmetros calorimétricos foram registrados por meio do software Metaoxy (Harvard Apparatus, Spain), durante 60 minutos. A partir dessas medidas, foram estimadas a taxa metabólica basal (TMB - Kcal) e o quociente respiratório ($QR=VCO_2/VO_2$). As taxas de oxidação de lipídeo e carboidrato (mg/min) foram obtidas conforme descrito por ZASLAV (24), usando as equações abaixo citadas:

1. Taxa de oxidação de lipídeo (mg/min) = $-1,7012 \cdot VCO_2 + 1,6946 \cdot VO_2$
2. Taxa de oxidação de carboidrato (mg/min) = $4,585 \cdot VCO_2 - 3,2255 \cdot VO_2$

Sacrifício e análise da composição corporal

Após jejum noturno de 12 horas, os animais foram anestesiados usando Ketamina 100mg/Kg de animal e Xilazina 30mg/Kg de animal ((Ceva Santé Animale®, Brazil) por via intraperitoneal e sacrificados por decapitação em guilhotina. Imediatamente após o sacrifício, foram obtidas amostras de sangue total, tecido adiposo branco (gonodal, mesentérico, retroperitoneal) e o tecido adiposo marrom. O índice de adiposidade corporal (%) foi calculado a partir do cálculo: \sum peso dos tecidos gonodal, mesentérico e retroperitoneal (g)/peso do animal em gramas x 100). O peso do tecido adiposo marrom foi corrigido pelo peso corporal do animal em gramas [peso do tecido adiposo marrom (g)/peso do animal (g)].

Determinação de parâmetros séricos

O soro foi obtido a partir do sangue total após centrifugação a 3200 rpm por 10 minutos e armazenado a -20°C até a realização das análises séricas. Foram avaliados níveis de colesterol total, lipoproteína de alta densidade (HDL-c), triglicerídeos, glicose, insulina, usando (In Vitro Diagnostica®, Brasil) e analisados no aparelho Humastar 200 (In Vitro Diagnostica®, Brasil). Os níveis de lipoproteína de alta densidade baixa densidade (LDL) foi calculado usada a fórmula proposta por Friedewald (25).

Análises histológicas

Após o sacrifício dos animais, um fragmento de tecido adiposo epididimal e marrom de cada animal foi lavado com solução salina e em seguida imerso em solução de formol 10% tamponado. Posteriormente, as amostras foram desidratadas em soluções de álcool etílico, banhadas em xilol e incluídas em blocos de parafina. Cortes teciduais de 5 μ m de espessura foram obtidos utilizando micrótomo e corados com hematoxilina

& eosina (H&E). A visualização dos cortes e captação de imagens foram feitas em microscópio FSX100 Inverted Microscope (Olympus®, Japão).

Extração de RNA, transcrição reversa e qRT-PCR

O RNA total foi obtido a partir de 100 mg de tecido adiposo marrom e 200 mg do tecido adiposo epididimal, segundo o protocolo descrito pelo TRIzol™ Reagent (ThermoFisher Scientific®, United States). As concentração de RNA foram determinadas em espectrofotômetro (Nano Drop® ND-1000, EUA) a 260 e 280 nm; e as amostras armazenadas a -80°C até o momento das análises seguintes. Para síntese do cDNA, inicialmente as amostras foram tratadas do DNase (Promega®, EUA), e em seguida realizada a retrotranscrição, utilizando o kit SuperScript® III Reverse Transcriptase (Life Technologies®, EUA) seguindo as instruções do fabricante. Foram utilizados 2000 ng de RNA para a síntese de cDNA, que foi armazenada a -20°C. Em seguida, procedeu-se com a mensuração do nível de expressão de genes associados à termogênese, CPT-1, ACC, UCP1 e PGC1 α , tendo o GAPDH como gene de padrão normalizador. Para as reações de qRT-PCR, foram usados SYBR® Green qPCR SuperMix (Invitrogen®, EUA), sendo realizadas na plataforma QuantStudio 6 Flex system (Applied Biosystems®, EUA). A relação da expressão gênica entre a amostra (gene alvo) e gene normalizador foi calculado utilizando a formula $2^{-\Delta\Delta CT}$ (26).

Análises estatísticas

Os dados foram expressos em médias \pm erro padrão da média (SEM) e analisados usando o programa estatísticos *GraphPad Prism* versão 7.0, sendo inicialmente submetidos ao teste de normalidade de Kolmogorov-Smirnov. Em seguida, comparações

múltiplas foram realizadas usando teste T. Consideraram-se significativas as comparações que obtiveram valores de $p < 0,05$.

RESULTADOS

O presente estudo evidenciou melhora na composição corporal dos animais alimentados com farinha de oro-pro-nobis (OPN), evidenciada por menor peso corporal médio (Control: $48,03 \pm 1,06$ vs. OPN: $45,0 \pm 0,53$; $p < 0,05$) (Figura 2A), menor variação do peso corporal final em relação ao inicial (Control: $6,11 \pm 1,23$ vs. OPN: $9,95 \pm 1,03$; $p < 0,05$) (Figura 2B) e menor adiposidade corporal visceral (Control: $0,031 \pm 0,002$ vs. OPN: $0,024 \pm 0,002$; $p < 0,05$) (Figura 2D). Não foi observada alteração no consumo alimentar entre os grupos de estudo (Figura 2C). Ademais, observou-se maior peso do tecido adiposo marrom no grupo OPN (Control: $0,0032 \pm 0,00025$ vs. OPN: $0,0040 \pm 0,00015$; $p < 0,05$). (Figura 2F) As figuras E e G ilustram o padrão histológicos do tecido adiposo branco e marrom, respectivamente.

Ao analisar os marcadores da termogênese, observou-se que o grupo OPN apresentou maior gasto energético (CONTROL: $201,3 \pm 7,49$ vs. OPN: $216,8 \pm 14,4$; $p < 0,05$) (Figura 3A) e maior oxidação de lipídeos (CONTROL: $10,37 \pm 1,26$ vs. OPN: $12,01 \pm 0,79$; $p < 0,05$) (Figura 3C). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para o quociente respiratório (Figura 3B) e taxa de oxidação de carboidratos (Figura 3D)

Em relação aos parâmetros séricos associados ao metabolismo lipídico e glicêmico, o grupo OPN apresentou melhora nos parâmetros de LDL-c (CONTROL: $54 \pm 4,64$ vs. OPN: $43,4 \pm 4,33$; $p < 0,005$) (Figura 4C). Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas para os demais parâmetros analisados (Figuras 4A-B e D-F), no entanto, o grupo OPN apresentou redução de 6,5% nos níveis de glicose, 6,6% de

triglicerídeos, 5,3% de colesterol total e aumento de 5,6 nos níveis de HDL-c e 7,0% de insulina.

Para avaliação dos efeitos da farinha de OPN sobre a termogênese no tecido adiposo marrom e a adipogênese/lipólise no tecido adiposo branco foram realizadas análises de qRT-PCR. Foi observado aumento da expressão de PGC1 α e diminuição de ACC (Figuras 5B-C). Não foram observadas associações estatisticamente significativas para a expressão de CTP1 e UCP1 (Figuras 5A e D).

DISCUSSÃO

O presente estudo, de forma inovadora, evidencia que a farinha de OPN associada ao treino resistido, foi capaz de reduzir peso e adiposidade corporal, aumentou o gasto energético e a oxidação lipídica, diminuiu níveis de LDL-c e modulou a expressão de ACC e PGC1 α no tecido adiposo.

Esse é um certamente o primeiro estudo da literatura científica que aprofundou na compressão do potencial efeito da farinha de OPN no metabolismo animal. Estudos de análise nutricional das folhas de OPN apontam para importantes propriedades nutricionais, especialmente de densidade de fibras, aminoácidos e proteínas (27,28). Ademais, já são conhecidas outros efeitos, especialmente em processos inflamatórios e lesões de pele. Estudo de Pinto et al. mostrou que a utilização de formulação de gel da fração hexânica das folhas de OPN em lesões cutâneas excisionais foi capaz de acelerar o processo cicatricial (10). Corroborando, outro trabalho mostrou que a fração hexânica das folhas de OPN reduziu a resposta inflamatória em lesão de pele, especialmente devido à redução dos níveis das citocinas IL-6 e TNF- α (11).

Pouco sabe-se sobre os efeitos da farinha de OPN no metabolismo corporal, especialmente associada ao exercício físico. Em nosso estudo foi possível identificar que

a farinha de OPN associada ao exercício físico, foi capaz de reduzir o peso e a adiposidade corporal. Outros dois estudos, um realizado por Barbalho et al. utilizando ratos Wistar, mostrou que a farinha de OPN levou à redução da gordura visceral e ao aumento dos níveis de HDL-c (13). Corroborando, já Vieira et al., em estudo realizado com mulheres, mostrou que a utilização de uma bebida enriquecida com farinha de OPN por seis semanas, foi capaz de reduzir o peso e adiposidade corporal (14).

Postulamos que várias hipóteses podem justificar esses achados, especialmente devido aumento do gasto energético e aumento da expressão de mRNA de PGC1 α no tecido adiposo marrom.

O PGC1 α é coativador transcricional fortemente envolvido na resposta termogênica no tecido adiposo marrom, especialmente regulando a biogênese mitocondrial e a adipogênese dos adipócitos marrons. Em nosso estudo, pode-se observar, que a farinha de OPN foi capaz de aumentar o gasto energético, provavelmente devido o incremento da expressão de PGC1 α . Corroborando com nossos achados, estudo com camundongos knockout para PGC1 α , apresentaram redução da expressão de genes mitocondriais em órgãos ricos em mitocondriais, incluindo o tecido adiposo marrom (29)(30). Em outro estudo, a ausência do PGC1 α induziu diminuição da expressão de UCP1, principal marcador da termogênese (31). De forma complementar, sabe-se que o PGC1 α pode ser modulado por fatores ambientais diversos, incluindo frio, exercício físico e dieta (32).

Os melhores níveis de LDL-c nos animais OPN indicam que a farinha pode ter um importante papel na modulação lipídica. Esse dado é corroborado pelo estudo de Vieira et al. observou-se aumento do níveis de HDL-c. Já se postula que a inibição de ACC pode oferecer uma opção terapêutica futura interessante, especialmente por diminuir a síntese de ácidos graxos (33). O ACC é um importante gene envolvido na

biossíntese de lipídios. É uma enzima complexa multifuncional, que catalisa a carboxilação de acetil-CoA em malonil-CoA, que é um substrato intermediário que desempenha um papel fundamental na regulação da síntese de ácidos graxos. Malonil-CoA é o doador de C₂ no processo de alongamento de cadeia para a síntese de ácidos graxos de cadeia muito longa (34,35). Assim, o malonil-CoA, gerado nos tecidos lipogênicos pelo ACC, é usado como um bloco de construção de dois carbonos pela ácido graxo sintase para produzir ácidos graxos de cadeia longa, que estão fortemente relacionados à síntese de LDL-c e ao seu aumento sérico (36). Interessante estudo mostrou que galinhas transgênicas com baixas níveis de expressão de ACC e SREBP1 apresentavam significativa redução dos níveis séricos de colesterol total e frações; incluindo LDL-c (37).

Em resumo, o presente estudo evidencia importante potencial na farinha de OPN associado ao programa de treino resistido, especialmente devido à ativação termogênica, mas também por diminuir marcador molecular associado à síntese de ácidos graxos e níveis de LDL-c e estimular a oxidação lipídica. Assim, pode ser uma excelente estratégia nutricional, de baixo custo e que estimule o desenvolvimento socioeconômico local/regional

REFERÊNCIAS

1. Fletcher GF, Landolfo C, Niebauer J, Ozemek C, Arena R, Lavie CJ. Promoting Physical Activity and Exercise: JACC Health Promotion Series. Vol. 72, Journal of the American College of Cardiology. Elsevier USA; 2018. p. 1622–39.
2. Fletcher GF, Ades PA, Kligfield P, Arena R, Balady GJ, Bittner VA, et al. Exercise standards for testing and training: A scientific statement from the American heart association. *Circulation*. 2013 Aug 20;128(8):873–934.
3. Lavie CJ, Arena R, Swift DL, Johannsen NM, Sui X, Lee DC, et al. Exercise and the cardiovascular system: Clinical science and cardiovascular outcomes. Vol. 117, *Circulation Research*. Lippincott Williams and Wilkins; 2015. p. 207–19.
4. Katzmarzyk PT, Lee IM, Martin CK, Blair SN. Epidemiology of Physical Activity and Exercise Training in the United States. Vol. 60, *Progress in Cardiovascular Diseases*. W.B. Saunders; 2017. p. 3–10.
5. Adams V, Reich B, Uhlemann M, Niebauer J. Molecular effects of exercise training in patients with cardiovascular disease: focus on skeletal muscle, endothelium, and myocardium. REVIEW *Integrative Cardiovascular Physiology and Pathophysiology Am J Physiol Heart Circ Physiol* [Internet]. 2017;313:72–88. Available from: www.salk.edu.
6. Westcott WL. Resistance Training is Medicine: Effects of Strength Training on Health [Internet]. 2012. Available from: <http://journals.lww.com/acsm-csmr>
7. Barbalho SM, Flato UAP, Tofano RJ, Goulart R de A, Guiguer EL, Detregiachi CRP, et al. Physical exercise and myokines: Relationships with sarcopenia and cardiovascular complications. Vol. 21, *International Journal of Molecular Sciences*. MDPI AG; 2020.
8. Schnyder S, Handschin C. Skeletal muscle as an endocrine organ: PGC-1 α , myokines and exercise. Vol. 80, *Bone*. Elsevier Inc.; 2015. p. 115–25.
9. Garcia JAA, Corrêa RCG, Barros L, Pereira C, Abreu RMV, Alves MJ, et al. Phytochemical profile and biological activities of “Ora-pro-nobis” leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. *Food Chemistry*. 2019 Oct 1;294:302–8.
10. Pinto N de CC, Cassini-Vieira P, Souza-Fagundes EM de, Barcelos LS, Castañon MCMN, Scio E. *Pereskia aculeata* Miller leaves accelerate excisional wound healing in mice. *Journal of Ethnopharmacology*. 2016 Dec 24;194:131–6.
11. Pinto NDCC, Machado DC, da Silva JM, Conegundes JLM, Gualberto ACM, Gameiro J, et al. *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. *Journal of Ethnopharmacology*. 2015 Aug 11;173:330–7.
12. Cruz TM, Santos JS, do Carmo MAV, Hellström J, Pihlava JM, Azevedo L, et al. Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. *Food Chemistry*. 2021 Nov 1;361.

13. Barbalho SM, Guiguer ÉL, Marinelli PS, do Santos Bueno PC, Pescinini-Salzedas LM, dos Santos MCB, et al. *Pereskia aculeata* Miller Flour: Metabolic Effects and Composition. *Journal of Medicinal Food*. 2016 Sep 1;19(9):890–4.
14. Vieira CR, Grancieri M, Martino HSD, César DE, Barra RRS. A beverage containing ora-pro-nobis flour improves intestinal health, weight, and body composition: A double-blind randomized prospective study. *Nutrition*. 2020 Oct 1;78.
15. Zhang Y, Ye T, Zhou P, Li R, Liu Z, Xie J, et al. Exercise ameliorates insulin resistance and improves ASK1-mediated insulin signalling in obese rats. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*. 2021 Dec 1;25(23):10930–8.
16. Streb AR, dos Santos Leonel L, Delevatti RS, Cavaglieri CR, del Duca GF. Effects of Non-periodized and Linear Periodized Combined Exercise Training on Insulin Resistance Indicators in Adults with Obesity: A Randomized Controlled Trial. *Sports Medicine - Open*. 2021 Dec 1;7(1).
17. Brett JO, Arjona M, Ikeda M, Quarta M, de Morrée A, Egner IM, et al. Exercise rejuvenates quiescent skeletal muscle stem cells in old mice through restoration of Cyclin D1. *Nature Metabolism*. 2020 Apr 1;2(4):307–17.
18. Dias Rodrigues V, de Moraes Pimentel D, de Souza Brito A, Vieira MM, Santos AR, Machado AS, et al. Methodological validation of a vertical ladder with low intensity shock stimulus for resistance training in C57BL/6 mice: Effects on muscle mass and strength, body composition, and lactate plasma levels. *Journal of Human Sport and Exercise*. 2019;14(3):608–31.
19. Naclerio F, Seijo M, Earnest CP, Puente-Fernández J, Larumbe-Zabala E. Ingesting a Post-Workout Vegan-Protein Multi-Ingredient Expedites Recovery after Resistance Training in Trained Young Males. *Journal of Dietary Supplements*. 2021;18(6):698–713.
20. Souza LF, Caputo L, de Barros IBI, Fratianni F, Nazzaro F, de Feo V. *Pereskia aculeata* muller (Cactaceae) leaves: Chemical composition and biological activities. *International Journal of Molecular Sciences*. 2016 Sep 3;17(9).
21. Maitra Chandana, Food and Agriculture Organization of the United Nations. A review of studies examining the link between food insecurity and malnutrition. Food and Agriculture Organization of the United Nations; 2018.
22. Elisa Ferreira de ALMEIDA M, Maria Bernardes JUNQUEIRA A, Assaid SIMÃO A, Duarte CORRÊA A. Uberlandia, v. 30, supplement 1. Original Article Biosci. J.
23. International A, Latimer GW. Official methods of analysis of AOAC International. Gaithersburg, Md.: AOAC International; 2012.
24. Cordeiro LMS, Rabelo PCR, Moraes MM, Teixeira-Coelho F, Coimbra CC, Wanner SP, et al. Physical exercise-induced fatigue: The role of serotonergic and dopaminergic systems. Vol. 50, *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*. Associacao Brasileira de Divulgacao Cientifica; 2017.
25. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the Concentration of Low-Density Lipoprotein Cholesterol in Plasma, Without Use of the Preparative Ultracentrifuge [Internet]. Vol. 18, *CLINICAL CHEMISTRY*. 1972. Available from:

<https://academic.oup.com/clinchem/article-abstract/18/6/499/5676160>

26. Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the 2- $\Delta\Delta$ CT method. *Methods*. 2001;25(4):402–8.
27. Takeiti CY, Antonio GC, Motta EMP, Collares-Queiroz FP, Park KJ. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. 2009;60(SUPPL. 1):148–60.
28. Silveira MG, Picinin CTR, Cirillo MÂ, Freire JM, Barcelos MDFF. Nutritional assay pereskia spp.: Unconventional vegetable. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*. 2020;92:1–16.
29. Leone TC, Lehman JJ, Finck BN, Schaeffer PJ, Wende AR, Boudina S, et al. PGC-1 α deficiency causes multi-system energy metabolic derangements: Muscle dysfunction, abnormal weight control and hepatic steatosis. *PLoS Biology*. 2005 Apr;3(4):0672–87.
30. Lin J, Wu PH, Tarr PT, Lindenberg KS, St-Pierre J, Zhang CY.. et al. Defects in adaptive energy metabolism with cns-linked hyperactivity in pgc-1alpha null mice. *Cell* 2004;119:121–35.
31. Kleiner S, Mepani RJ, Laznik D, Ye L, Jurczak MJ, Jornayvaz FR, et al. Development of insulin resistance in mice lacking PGC-1 α in adipose tissues. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 2012 Jun 12;109(24):9635–40.
32. Gill JA, la Merrill MA. An emerging role for epigenetic regulation of Pgc-1 α expression in environmentally stimulated brown adipose thermogenesis. Vol. 3, *Environmental Epigenetics*. Oxford University Press; 2017.
33. Goedeke L, Bates J, Vatner DF, Perry RJ, Wang T, Ramirez R, et al. Acetyl-CoA Carboxylase Inhibition Reverses NAFLD and Hepatic Insulin Resistance but Promotes Hypertriglyceridemia in Rodents. *Hepatology*. 2018 Dec 1;68(6):2197–211.
34. Nugteren, D. H. The enzymic chain elongation of fatty acids by rat-liver microsomes. *Biochim. Biophys. Acta*. 106, 280–290 (1965).
35. Wakil, S. J., Stoops, J. K. & Joshi, V. C. Fatty acid synthesis and its regulation. *Ann. Rev. Biochem.* 52, 537–579 (1983).
36. Bruss, M. L. Chapter 4—Lipids and ketones. In *Clinical Biochemistry of Domestic Animals* 6th edn (eds Jerry Kaneko, J. et al.) 81–115 (Academic Press, 2008).
37. Prasad AR, Bhattacharya TK, Chatterjee RN, Divya D, Bhanja SK, Shanmugam M, et al. Silencing acetyl-CoA carboxylase A and sterol regulatory element-binding protein 1 genes through RNAi reduce serum and egg cholesterol in chicken. *Scientific Reports*. 2022 Dec;12(1).

Legendas das figuras

Figura 1. Linha do tempo do estudo. O estudo foi realizado com 14 camundongos divididos em dois grupos: *i*) grupo controle (CONTROL) alimentados com dieta padrão + treino resistido; *ii*) grupo experimental alimentado com farinha de Oro-pro-nobis + treino resistido. A 1^a semana de estudo compreendeu a adaptação ao protocolo de treino resistido. Posteriormente, seguiu-se com o experimento por seis semanas, sendo incrementado 50% do peso corporal ao treino resistido por meio de peso suspenso em cauda. Ao fim, seguiu-se com as análises experimentais diversas.

Figura 2. Efeitos da farinha de oro-pro-nobis sobre a composição corporal e consumo alimentar em camundongos submetidos a treino resistido. Peso corporal (A), delta peso corporal (peso final – peso inicial) (B), consumo alimentar corrigido pelo peso corporal (C), índice de adiposidade corporal (D), coloração representativa em hematoxilina e eosina (H&E) do tecido adiposo marrom – barra de escala 200 µm (E), peso do tecido adiposo marrom corrigido pelo peso corporal (F), coloração representativa em hematoxilina e eosina (H&E) do tecido adiposo marrom – barra de escala 200 µm (G). Dados apresentados em médias + erro padrão da média (n= 7 animais/grupo). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram indicadas como *p<0,05 **p<0,01, ***p< 0,001 e ****p<0,0001 quando comparados ao grupo Control. Dados analisados por *T*est-*t*.

Figura 3. Efeitos da farinha de oro-pro-nobis sobre marcadores da termogênese em camundongos submetidos a treino resistido. Gasto energético (A), quociente respiratório (B), taxa de oxidação de lipídeos (C), taxa de oxidação de carboidratos (D). Dados apresentados em médias + erro padrão da média (n= 7 animais/grupo). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram indicadas como *p<0,05 **p<0,01, ***p< 0,001 e ****p<0,0001 quando comparados ao grupo Control. Dados analisados por *Test-t*.

Figura 4. Efeitos da farinha de oro-pro-nobis sobre os perfis bioquímicos lipídico e glicêmico e em marcadores de dano tecidual em camundongos submetidos a treino resistido. Colesterol total (A), triglicerídeos (B), lipoproteína de baixa densidade (LDL-c) (C), lipoproteína de alta densidade (HDL-c) (D), glicemia de jejum (E), insulina sérica (F). Dados apresentados em médias + erro padrão da média (n=5 animais/grupo). Diferenças estatisticamente significativas entre os grupos foram indicadas como *p<0,05 **p<0,01, ***p< 0,001 e ****p<0,0001 quando comparados ao grupo Control. Dados analisados por *Test-t*.

Figura 5. Efeitos da farinha de oro-pro-nobis na expressão de mRNA por qRT-PCR de marcadores associados à lipólise/lipogênese no tecido adiposo branco e à termogênese no tecido adiposo marrom em camundongos submetidos a treino resistido. Níveis de expressão de mRNA de Carnitina palmitoiltransferase I (CPT1) (A), níveis de expressão de mRNA de Acetil-CoA carboxilase (B), níveis de expressão de mRNA do Coativador 1 alfa do receptor ativado por proliferadores de peroxissoma gama (PGC1 α) (C), níveis de expressão de mRNA da Proteína desacopladora-1 (UCP1). Dados apresentados em médias + erro padrão da média (n=4 animais/grupo). Diferenças

estatisticamente significativas entre os grupos foram indicadas como * $p < 0,05$ ** $p < 0,01$, *** $p < 0,001$ e **** $p < 0,0001$ quando comparados ao grupo Control. Dados analisados por *T-test*.

Figura 1

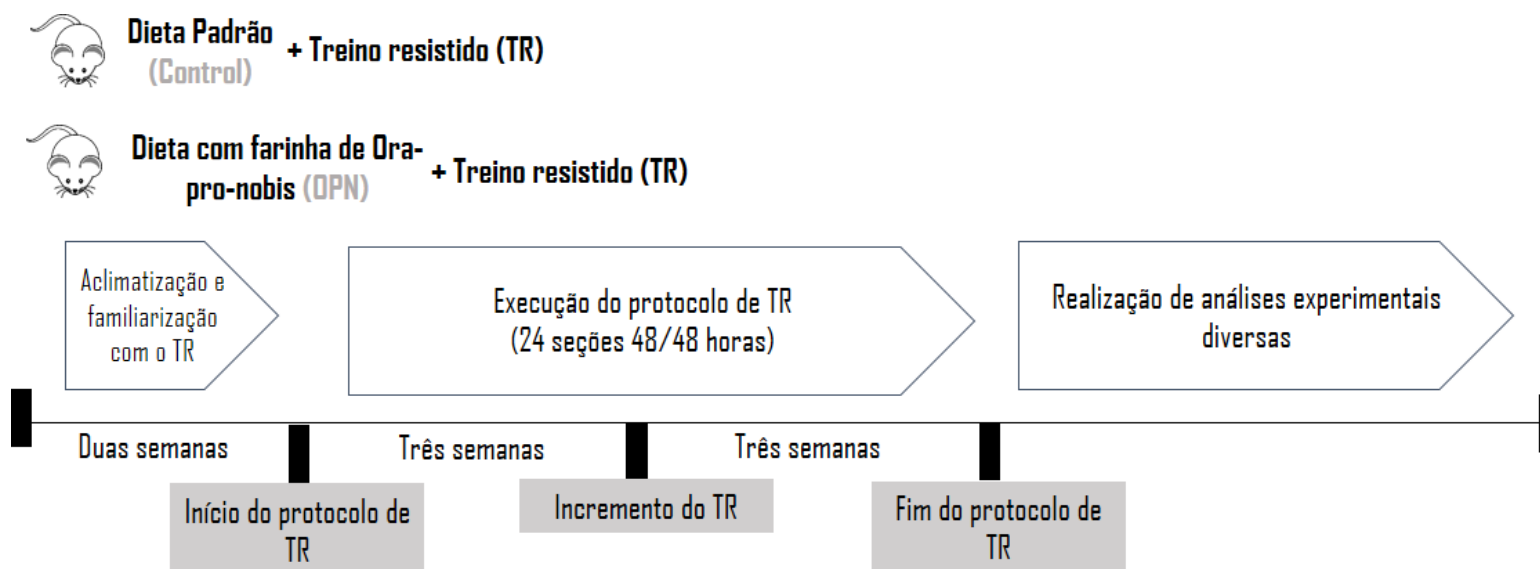


Figura 2.

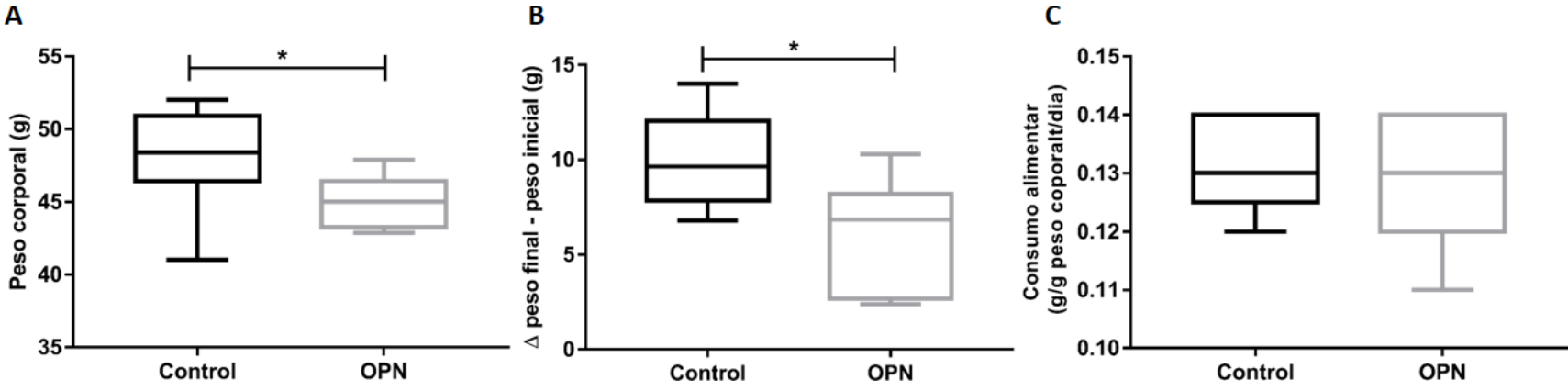
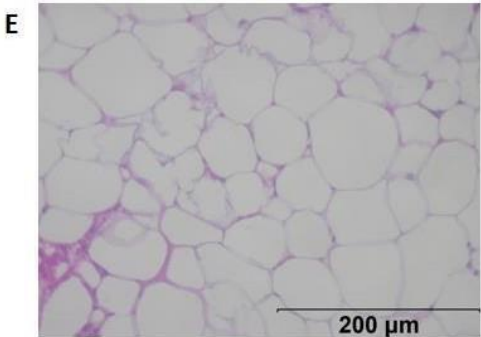
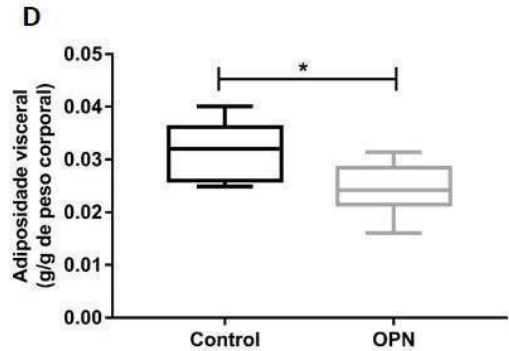
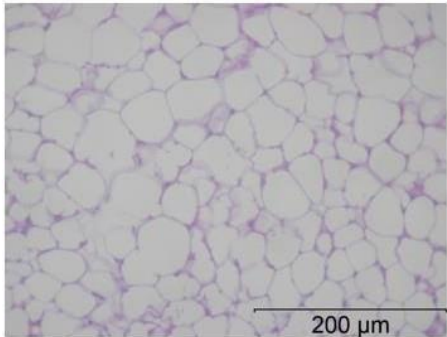


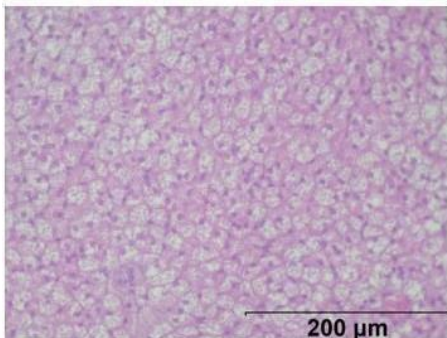
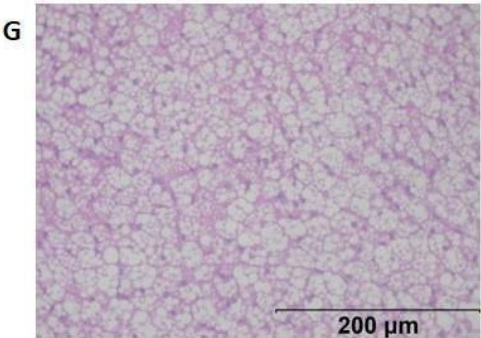
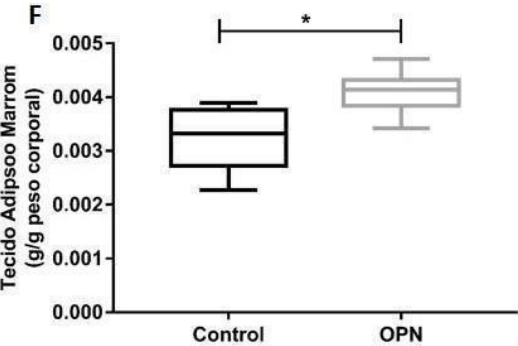
Figura 2 (continua).



Control



OPN



200 μm

Figura 3.

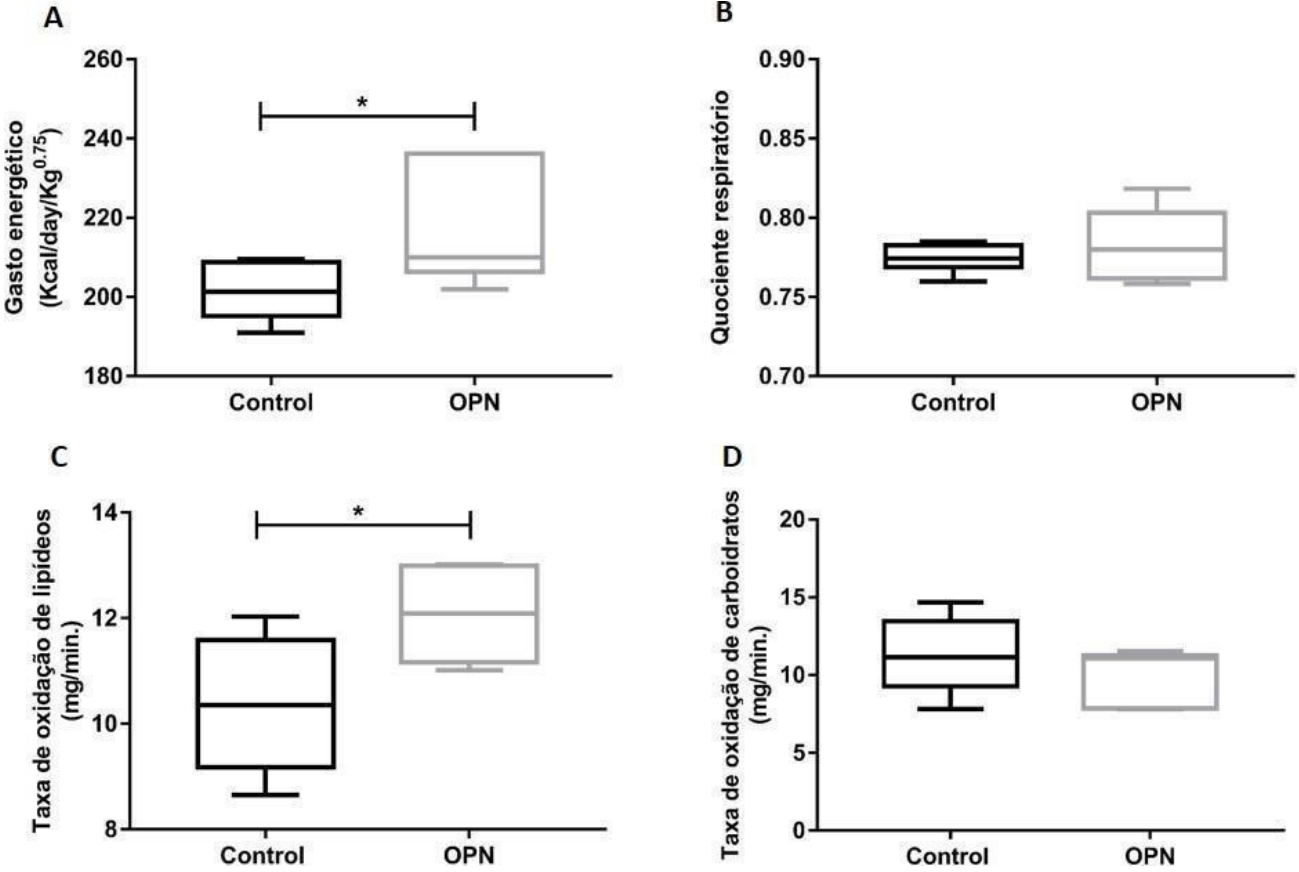


Figura 4.

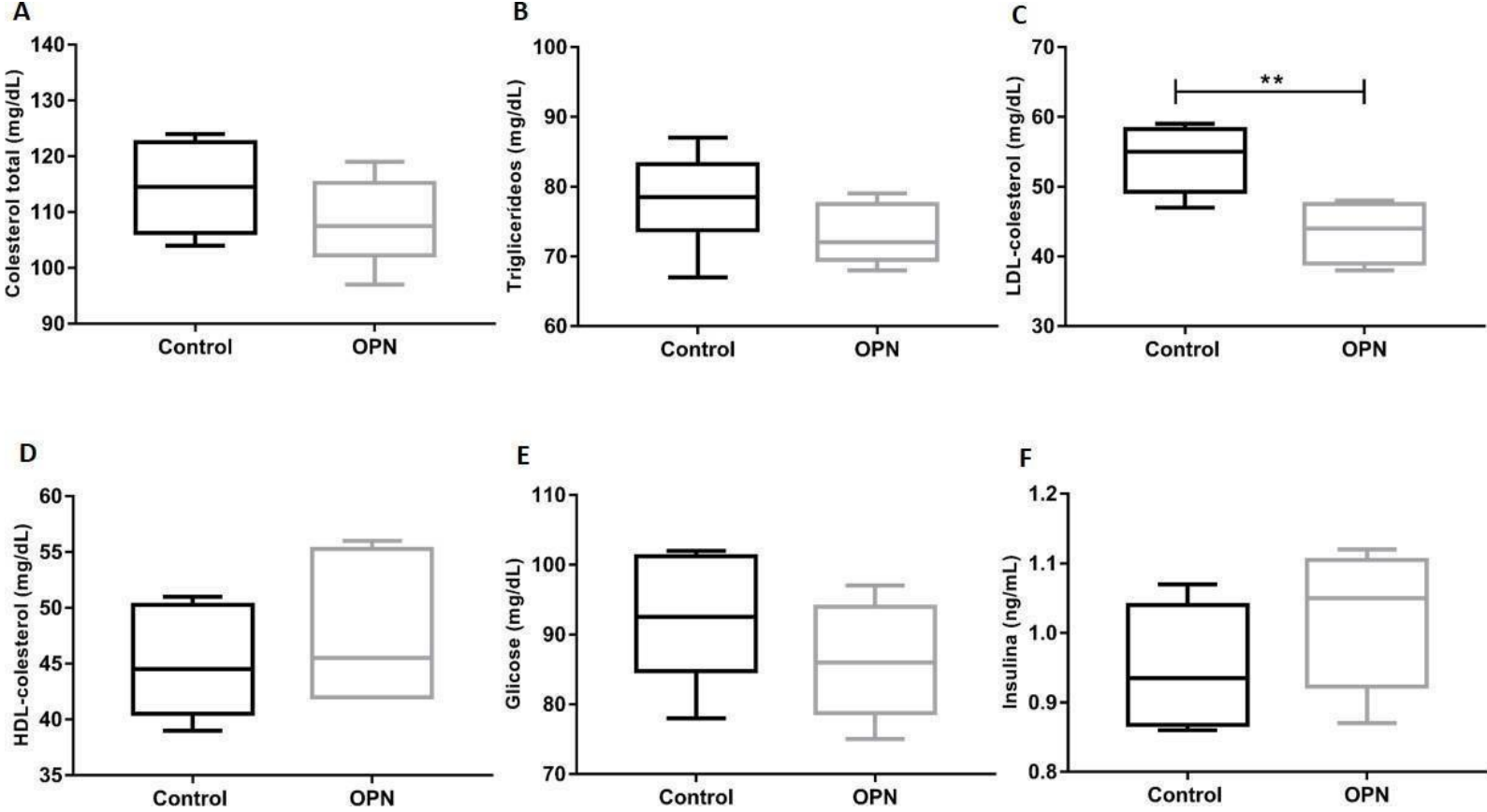
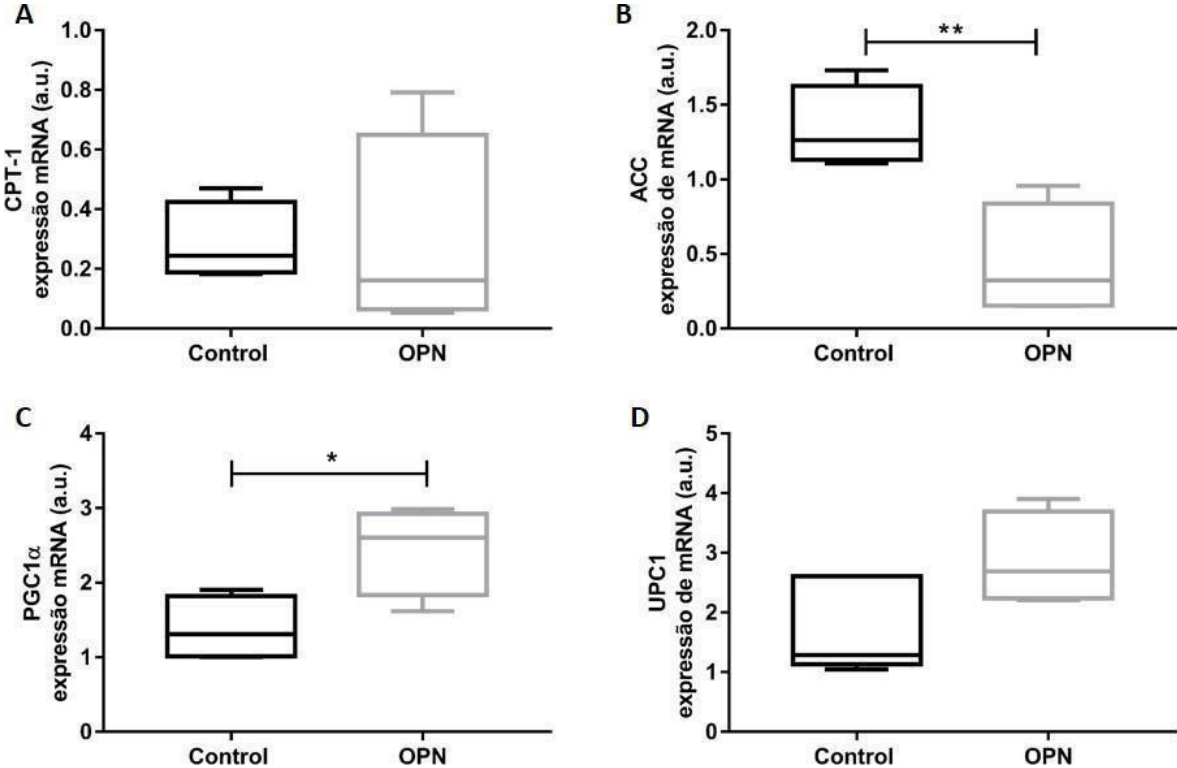


Figura 5.



CONSIDERAÇÕES FINAIS

O presente estudo mostrou que o uso da farinha de ora-pro-nobis pode ser uma estratégia alimentar complementar na melhora de parâmetros corporais e bioquímicos em camundongos submetidos a treino resistido, possivelmente devido a modulação de marcadores moleculares no tecido adiposo branco e marrom. Constatou-se que a farinha foi capaz de diminuir o peso, a adiposidade corporal e os níveis de LDL-c, de incrementar a atividade termogênica, por meio do maior gasto energético e oxidação de lipídeos, além de aumentar a expressão de mRNA de PGC1 α do TAM e diminuir de ACC no TAB. Assim, este estudo abre um importante campo de investigação científica, bem como, faz da farinha de ora-pro-nobis uma possibilidade alimentar que pode ser incrementada ao exercício físico, melhorando seus resultados. Por fim, estudos complementares, especialmente em humanos, fazem-se necessários para maior embasamento científico das propriedades nutracêuticas da farinha de ora-pro-nobis.

REFERÊNCIAS

1. Ruiz-Casado A, Martín-Ruiz A, Pérez LM, Provencio M, Fiuza-Luces C, Lucia A. Exercise and the Hallmarks of Cancer. *Trends in cancer*. 2017;3(6):423-41.
2. Lee IM, Shiroma EJ, Lobelo F, Puska P, Blair SN, Katzmarzyk PT. Effect of physical inactivity on major non-communicable diseases worldwide: an analysis of burden of disease and life expectancy. *Lancet (London, England)*. 2012;380(9838):219-29.
3. Ding D, Lawson KD, Kolbe-Alexander TL, Finkelstein EA, Katzmarzyk PT, van Mechelen W, et al. The economic burden of physical inactivity: a global analysis of major non-communicable diseases. *Lancet (London, England)*. 2016;388(10051):1311-24.
4. La Vecchia C, Gallus S, Garattini S. Effects of physical inactivity on non-communicable diseases. *Lancet (London, England)*. 2012;380(9853):1553; author reply -4.
5. WHO WHO. *Global Status Report on Noncommunicable Diseases*. 2014.
6. Lobelo F, Stoutenberg M, Hutber A. The Exercise is Medicine Global Health Initiative: a 2014 update. *British journal of sports medicine*. 2014;48(22):1627-33.
7. Warburton DE, Nicol CW, Bredin SS. Health benefits of physical activity: the evidence. *CMAJ : Canadian Medical Association journal = journal de l'Association medicale canadienne*. 2006;174(6):801-9.
8. Leal LG, Lopes MA, Batista ML, Jr. Physical Exercise-Induced Myokines and Muscle-Adipose Tissue Crosstalk: A Review of Current Knowledge and the Implications for Health and Metabolic Diseases. *Frontiers in physiology*. 2018;9:1307.
9. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nature reviews Endocrinology*. 2012;8(8):457-65.
10. Severinsen MCK, Pedersen BK. Muscle-Organ Crosstalk: The Emerging Roles of Myokines. *Endocrine reviews*. 2020;41(4):594-609.
11. Whitham M, Febbraio MA. The ever-expanding myokinome: discovery challenges and therapeutic implications. *Nature Reviews Drug Discovery*. 2016;15(10):719-29.
12. Bay ML, Pedersen BK. Muscle-Organ Crosstalk: Focus on Immunometabolism. *Frontiers in physiology*. 2020;11:567881.
13. Barbalho SM, Flato UAP, Tofano RJ, Goulart RA, Guiguer EL, Detregiachi CRP, et al. Physical Exercise and Myokines: Relationships with Sarcopenia and Cardiovascular Complications. *International journal of molecular sciences*. 2020;21(10).

14. Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Frontiers in cardiovascular medicine*. 2020;7:22.
15. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(6):2548-56.
16. Ouchi N, Parker JL, Lugus JJ, Walsh K. Adipokines in inflammation and metabolic disease. *Nature reviews Immunology*. 2011;11(2):85-97.
17. Villarroya F, Cereijo R, Villarroya J, Giralt M. Brown adipose tissue as a secretory organ. *Nature reviews Endocrinology*. 2017;13(1):26-35.
18. Yoneshiro T, Aita S, Matsushita M, Kameya T, Nakada K, Kawai Y, et al. Brown adipose tissue, whole-body energy expenditure, and thermogenesis in healthy adult men. *Obesity (Silver Spring, Md)*. 2011;19(1):13-6.
19. Pollard AE, Carling D. Thermogenic adipocytes: lineage, function and therapeutic potential. *Biochemical Journal*. 2020;477(11):2071-93.
20. Guilherme A, Virbasius JV, Puri V, Czech MP. Adipocyte dysfunctions linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature reviews Molecular cell biology*. 2008;9(5):367-77.
21. Divella R, Mazzocca A, Daniele A, Sabbà C, Paradiso A. Obesity, Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Adipocytokines Network in Promotion of Cancer. *International journal of biological sciences*. 2019;15(3):610-6.
22. Oikonomou EK, Antoniades C. The role of adipose tissue in cardiovascular health and disease. *Nature reviews Cardiology*. 2019;16(2):83-99.
23. Quail DF, Dannenberg AJ. The obese adipose tissue microenvironment in cancer development and progression. *Nature reviews Endocrinology*. 2019;15(3):139-54.
24. Cannon B, Nedergaard J. Brown adipose tissue: function and physiological significance. *Physiological reviews*. 2004;84(1):277-359.
25. Ricquier D, Bouillaud F. Mitochondrial uncoupling proteins: from mitochondria to the regulation of energy balance. *The Journal of physiology*. 2000;529 Pt 1(Pt 1):3-10.
26. Cypess AM, Lehman S, Williams G, Tal I, Rodman D, Goldfine AB, et al. Identification and importance of brown adipose tissue in adult humans. *The New England journal of medicine*. 2009;360(15):1509-17.
27. van Marken Lichtenbelt WD, Vanhommerig JW, Smulders NM, Drossaerts JM, Kemerink GJ, Bouvy ND, et al. Cold-activated brown adipose tissue in healthy men. *The New England journal of medicine*. 2009;360(15):1500-8.

28. Virtanen KA, Lidell ME, Orava J, Heglind M, Westergren R, Niemi T, et al. Functional brown adipose tissue in healthy adults. *The New England journal of medicine*. 2009;360(15):1518-25.
29. Hankir MK, Klingenspor M. Brown adipocyte glucose metabolism: a heated subject. *EMBO reports*. 2018;19(9).
30. Edwards EJ, Nyffeler R, Donoghue MJ. Basal cactus phylogeny: implications of *Pereskia* (Cactaceae) paraphyly for the transition to the cactus life form. *American journal of botany*. 2005;92(7):1177-88.
31. Hayashi DMRSS. Anatomical study of the leaf and stem of *Pereskia aculeata* Mill. (Cactaceae). *Rev bras farmacogn*. 2005;15.
32. Garcia JAA, Corrêa RCG, Barros L, Pereira C, Abreu RMV, Alves MJ, et al. Phytochemical profile and biological activities of 'Ora-pro-nobis' leaves (*Pereskia aculeata* Miller), an underexploited superfood from the Brazilian Atlantic Forest. *Food chemistry*. 2019;294:302-8.
33. Pinto NAVDM, D.C.; Silva, J.M.; Conegundes, J.L.M.; Gualberto, A.C.M.; Gameiro, J.; Chedier, L.M.; Castañon, M.C.M.N. *Pereskia aculeata* Miller leaves present in vivo topical anti-inflammatory activity in models of acute and chronic dermatitis. *J Ethnopharmacol*. 2015.
34. Pinto NC, Cassini-Vieira P, Souza-Fagundes EM, Barcelos LS, Castañon MC, Scio E. *Pereskia aculeata* Miller leaves accelerate excisional wound healing in mice. *Journal of ethnopharmacology*. 2016;194:131-6.
35. Cruz TM, Santos JS, do Carmo MAV, Hellström J, Pihlava JM, Azevedo L, et al. Extraction optimization of bioactive compounds from ora-pro-nobis (*Pereskia aculeata* Miller) leaves and their in vitro antioxidant and antihemolytic activities. *Food chemistry*. 2021;361:130078.
36. Takeiti CYA, Graziella C. ; Motta, Eliana M. P. ; Collares-Queiroz, Fernanda P. ; Park, Kil J. Nutritive evaluation of a non-conventional leafy vegetable (*Pereskia aculeata* Miller). *INTERNATIONAL JOURNAL OF FOOD SCIENCES AND NUTRITION*. 2009;60.
37. ALMEIDA FILHO JC, J. . Estudo do valor nutritivo do “ora-pro-nobis” (*Pereskia aculeata* Mill.). *Revista Ceres*. 2012;21.
38. Barbalho SMA, Guiguer, Élen Landgraf, Marinelli, Paulo Sérgio Do Santos Bueno, Patrícia Cincotto Pescinini-Salzedas, Leticia Maria Dos Santos, Mirele Cristine Batista Oshiiwa, Marie, Mendes, Claudemir GregórioDe Menezes, Manoel Lima Nicolau, Cláudia Cristina Teixeira Otoboni, Alda Maria De Alvares Goulart, Ricardo. *Pereskia aculeata* Miller Flour: Metabolic Effects and Composition. *Journal of Medicinal Food*. 2016;19:890-4.

39. Vieira CR, Grancieri M, Martino HSD, César DE, Barra RRS. A beverage containing ora-pro-nobis flour improves intestinal health, weight, and body composition: A double-blind randomized prospective study. *Nutrition* (Burbank, Los Angeles County, Calif). 2020;78:110869.
40. Bennett JS, GA Mathers, CD Bonita, R Rehm, J Kruk, M Riley, L Dain, K Kengne, A Chalkidou, K Beagley, J Kishore, S Chen, W Saxena, S Bettcher, D Grove, J Beaglehole, R Ezzati, M. NCD Countdown 2030: worldwide trends in non-communicable disease mortality and progress towards Sustainable Development Goal target 3.4. *Lancet* (London, England). 2018;392(10152):1072-88.

ANEXO A



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MONTES CLAROS
 COMISSÃO DE ÉTICA EM EXPERIMENTAÇÃO
 E BEM-ESTAR ANIMAL



PARECER CONSUBSTANCIADO

Montes Claros, 06 de dezembro de 2019.

Processo N.º 204

Título do Projeto: **Avaliação dos efeitos metabólicos da farinha das folhas de *Pereskia aculeata* Miller (Ora-pro-nóbis) em camundongos submetidos a treino físico resistido.**

Orientador: Prof.º Dr. João Marcus Oliveira Andrade

Equipe:

Eliezer Francisco Rocha (Dissertação de Mestrado)

Matheus Felipe Alves

Histórico

Estudos têm demonstrado que a mortalidade por todas as causas (principalmente as cardiovasculares) são reduzidas notavelmente pela prática de exercício físico regular. Parâmetros metabólicos como redução de triglicerídeos plasmáticos (TG), lipoproteína de baixa densidade (LDL), aumento da lipoproteína de alta densidade (HDL) são evidenciados com essa prática. O Treinamento Resistido (TR) é considerado a atividade física mais eficiente para a modificação da composição corporal pelo aumento da massa muscular. O TR é caracterizado pela utilização de equipamentos ou pesos que oferecem uma carga mecânica oposta ao movimento do segmento corporal e condiciona adaptações fisiológicas como musculares, neurais e ou hipertróficas no indivíduo. Tais adaptações poderá ocorrer após várias semanas de treinamento.

Mérito

O presente projeto tem mérito e justifica por haver necessidade de avaliar os potenciais efeitos da suplementação alimentar com farinha das folhas de *Pereskia aculeata* Miller (ora-pro-nóbis) no metabolismo corporal de camundongos submetidos a treino físico resistido; se alcançado, poderão influir positivamente no âmbito das Ciências em Saúde para prevenir ou atenuar a degradação muscular esquelética dos pacientes.

Parecer A Comissão do Comitê de Ética em Experimentação e Bem-Estar Animal da Unimontes analisou o processo N.º 204 e entende que o mesmo está completo e dentro das normas do Comitê. Sendo assim, somos pela APROVAÇÃO do projeto:

Prof.ª Dra. Antônia de Maria Filha Ribeiro

Presidente da Comissão de Ética em Experimentação
 e Bem-Estar Animal da Unimontes