

DALILA TEIXEIRA LEAL

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO
CONTENDO GENGIBRE (*Zingiber officinale* ROSCOE) EM RATOS WISTAR
ALIMENTADOS POR DIETA DE CAFETERIA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica Aplicada, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

**VIÇOSA
MINAS GERAIS- BRASIL
2016**

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa

T

L435e
2016 Leal, Dalila Teixeira, 1983-
Efeitos da administração de uma formulação contendo gengibre (*Zingiber officinale roscoe*) em ratos Wistar alimentados por dieta de cafeteria / Dalila Teixeira Leal. – Viçosa, MG, 2016.

xiii,88f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Inclui apêndice.

Orientador: Marisa Alves Nogueira Diaz.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f.60-75.

1. Gengibre. 2. *Zingiber officinale roscoe*. 3. Efeitos fisiológicos. 4. Dieta. 5. Doenças crônicas. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular. Programa de Pós-graduação em Bioquímica Aplicada. II. Título.

CDD 22. ed. 633.83

DALILA TEIXEIRA LEAL

**EFEITOS DA ADMINISTRAÇÃO DE UMA FORMULAÇÃO
CONTENDO GENGIBRE (*Zingiber officinale* ROSCOE) EM RATOS WISTAR
ALIMENTADOS POR DIETA DE CAFETERIA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa,
como parte das exigências do
Programa de Pós-Graduação em
Bioquímica Aplicada, para obtenção
do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 24 de junho de 2016.

Fabiana Cristina Silveira Alves de Melo

Carla de Oliveira Barbosa Rosa

Camilo Amaro de Carvalho
Coorientador

Virgínia Ramos Pizzolo
Coorientadora

Marisa Alves Nogueira Diaz
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

Agradeço imensamente a Deus por iluminar o meu caminho. Em todas as etapas desse trabalho Ele sempre conduziu o melhor para mim.

Agradeço a Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular pela oportunidade.

Ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Aplicada, por ter me dado oportunidade de fazer esse curso.

Ao Departamento de Medicina e Enfermagem por permitirem a minha liberação para cursar o mestrado.

À Professora Tânia Toledo pela orientação, paciência e apoio contribuindo assim para meu crescimento profissional.

Aos Professores coorientadores Camilo Amaro de Carvalho e Virgínia Ramos Pizziolo e pela paciência e apoio que contribuíram para que esse trabalho se tornasse realidade.

À Professora Marisa Alves Nogueira Diaz pela orientação na reta final desse trabalho.

Aos estagiários, Ana Carolina, Marisa, Samara, Thaís, Ramon, Vanessa, Sarah e Celso (*in memoriam*), pela disposição, comprometimento, segurança e ética.

Aos meus amigos de laboratório do Biofármacos: Geisla, Fábio, Luana, José Geraldo, Davilson por toda a ajuda nesta pesquisa. Ao Thiago, Dalila e Mateus Gandra e Mateus Lavorato pela disponibilidade e horas de discussão nas análises estatísticas. Ao Rodrigo Barros pelos conselhos e paciência nas análises histológicas. Ao José Luiz e ao Eduardo pelo auxílio na cromatografia.

As minhas amigas do Departamento de Medicina e Enfermagem que sempre me ajudaram a conciliar trabalho e estudo.

A todos que contribuíram de alguma forma com o desenvolvimento desse trabalho. Muito obrigada!! Muito obrigada!!

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À minha mãe Elizete e ao meu pai José Paulo, por todas as orações e palavras de incentivo.

À minha querida irmã Deborah, Vovó Zizica, ao meu esposo Emmanuel, ao meu cunhado Fabiano, por sempre me aconselharem, estimularem e acreditarem em mim.

A toda minha família, primas, primos e aos meus tios em especial ao Pedro Lelis e Etelvina que contribuíram para execução desse trabalho.

À família do Emmanuel e em especial minha sogra Rita, pelo apoio e torcida.

Agradeço a Deus por ter me presenteado com uma companheira de pesquisa muito especial a *Gleide*. Se não fosse por ela, eu não teria conseguido chegar até aqui. Obrigada minha amiga por toda disposição, carinho, paciência, companheirismo, ensinamentos, apoio e principalmente pela sua amizade. Obrigada por tudo!!

SUMÁRIO

Páginas

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
RESUMO	x
ABSTRACT	xii
1. INTRODUÇÃO	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1. Alimentação	3
2.2. Obesidade.....	6
2.3. Esteatose	8
2.4. Dieta de cafeteria	9
2.5. Fitoterapia	11
2.6. Gengibre	13
3. OBJETIVOS	17
3.1. Objetivo geral	17
3.2. Objetivos específicos	17
4. METODOLOGIA	18
4.1. Colheita, secagem e obtenção de extrato do material vegetal.....	18
4.2. Avaliação da Atividade Antioxidante <i>in vitro</i>	18
4.3. Cromatografia Gasosa	20
4.4. Ensaio <i>in vivo</i>	20
4.4.1. Animais	20
4.4.2. Dieta de cafeteria.....	21
4.4.3. Desenho experimental	22
4.4.4. Ambiente.....	22
4.4.5. Controle da massa corporal e do consumo alimentar.....	23
4.4.6. Administração da formulação fitoterápica	23
4.4.7. Eutanásia e coleta de tecidos	24
4.4.8. Análise bioquímica dos parâmetros sanguíneos	24
4.4.9. Histomorfometria do tecido hepático.....	24
4.4.10. Análise estatística dos dados	25
5. RESULTADOS	26
5.1. Rendimento do extrato.....	26
5.2. Cromatografia Gasosa e Análise de Espectrometria de Massa.....	26
5.3. Análise química do solo	30
5.4. Avaliação da Atividade Antioxidante	31
5.5. Consumo alimentar	32
5.6. Controle ponderal.....	34
5.7. Análises Bioquímicas	36
5.7.1. Glicose.....	36
5.7.2. Perfil Lipídico	37
5.7.3. Transaminases e Bilirrubina Total.....	38

5.8 Análise do Fígado	39
5.9 Análises Histológicas	40
6. DISCUSSÃO	45
6.1. Avaliação qualitativa do extrato.....	45
6.2 Atividade antioxidante do fitoterápico ZO.....	47
6.3 Consumo e Ganho ponderal	48
6.4 Alterações bioquímicas	50
6.5 Alterações hepáticas.....	53
7. CONCLUSÃO	59
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60
9- APÊNDICE A.....	76
ANÁLISE DE FRAGMENTAÇÃO DOS COMPOSTOS DO GENGIBRE (<i>Zingiber officinale</i>) IDENTIFICADOS PELO CG/MS.....	76
10. ANEXOS	86
10.1 ANEXO A: PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA	86
10.2 ANEXO B: CÁLCULO DO N AMOSTRAL.....	87

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT- Alanina *Aminotransferase*

ANVISA- Agência Nacional de Vigilância Sanitária

ANOVA- Análise de variância

AST- Aspartato *aminotransferase*

CAF- Cafeteria

CFMV- Conselho Regional de Medicina Veterinária

CG- Cromatografia Gasosa

CONCEA- Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal

CT- Colesterol total

DPPH- 2,2-difenil-1-picril-hidrazila, fórmula $C_{18}H_{12}N_5O_6$

DCNT- Doenças Crônicas Não Transmissíveis

EHNA- Esteato-Hepatite Não Alcoólica

FERC- Fazenda Experimental Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde

FRAP- *Ferric Reducing Antioxidant*

H&E- Hematoxilina e Eosina

HDL- *High Density Lipoprotein*

HOMA-IR (*homeostatic model assessment Insulin Resistance*)

IBGE- Instituto Brasileiro de Geografia Estatística

IL-6- *Interleucina 6*

IL- *Interleucina 8*

IMC- Índice de Massa Corporal

MCP-1- *Monocyte chemotactic protein-1*

MDA- *Malondialdeído*

NIST- *National Institute of Standards and Technology*

OPAS- Organização Pan-Americana da Saúde

NO- Óxido Nítrico

PCR- proteína de fase aguda

PNAN- *Política Nacional de Alimentação e Nutrição*

PNPIC- Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares

PNPMF- Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos

RDC- Resolução da Diretoria Colegiada

RENAME- Relação Nacional de Medicamentos Essencias

RC- Ração Comercial

TNF- α - Fator de necrose tumoral-alfa

TG- Triglicerídeos

VIGITEL- Vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por Inquérito Telefônico

VLDL- very low density lipoprotein

ZO- *Zingiber officinale* Roscoe

LISTA DE FIGURAS

		Páginas
Figura 01	Rizoma do Gengibre (<i>Zingiber officinale</i> Roscoe)	13
Figura 02	Perfil cromatográfico do extrato etanólico do gengibre cultivado na fazenda experimental FERC.....	27
Figura 03	Compostos ativos encontrados no extrato etanólico de gengibre (<i>Zingiber officinale</i>).....	29
Figura 04	Atividade de inibição do DPPH pelo extrato etanólico de gengibre.....	32
Figura 05	Consumo de dieta dos ratos alimentados com ração comercial (RC) e dieta de Cafeteria (CAF) durante 45 dias.....	33
Figura 06	Consumo dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	33
Figura 07	Evolução do ganho ponderal dos ratos alimentados com ração comercial (RC) e dieta de Cafeteria (CAF) durante 45 dias.....	34
Figura 08	Evolução do ganho ponderal dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	35
Figura 09	Análise histopatológica do fígado dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	40
Figura 10	Áreas dos núcleos hepáticos dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com e fitoterápico contendo Gengibre (ZO).....	41
Figura 11	Áreas dos hepatócitos dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com e fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	42
Figura 12	Densidade de volume (Vv) dos sinusóides hepáticos dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	43
Figura 13	Deposição de gotículas lipídicas hepáticas dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 01	Composição da dieta de cafeteria (g/1000g de dieta).....	21
Tabela 02	Distribuição dos grupos, dietas e tratamento.....	22
Tabela 03	Constituintes da formulação fitoterápica.....	23
Tabela 04	Compostos identificados no extrato etanólico de gengibre...	28
Tabela 05	Análise química do solo proveniente do FERC-ES, utilizado para o cultivo de gengibre (<i>Zingiber Officinale</i> Roscoe).....	30
Tabela 06	Atividade antioxidante do extrato etanólico de gengibre.....	31
Tabela 07	Concentrações séricas de glicose (mg/dl) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO)	36
Tabela 08	Concentrações séricas de colesterol total (mg/dl), triglicerídeos (mg/dl) e colesterol HDL (mg/dl) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO)	37
Tabela 09	Concentrações séricas das transaminases AST (mg/dl), ALT (mg/dl) e bilirrubina total(mg/dl) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	38
Tabela 10	Peso do fígado (g) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO).....	39

RESUMO

LEAL, Dalila. Teixeira. MSc., Universidade Federal de Viçosa, junho de 2016. **Efeitos da Administração de uma Formulação Contendo Gengibre (*Zingiber Officinale* Roscoe) em Ratos *Wistar* Alimentados por Dieta de Cafeteria.** Orientadora: Marisa Alves Nogueira Diaz. Coorientadores: Camilo Amaro de Carvalho e Virgínia ramos pizzio

As doenças crônicas não transmissíveis tem como fatores de risco a alimentação não saudável, que contribui para o desenvolvimento da obesidade, dislipidemia, diabetes e esteatose. Considerando este contexto, o objetivo deste trabalho foi ofertar a ratos *Wistar* uma dieta de cafeteria (CAF), constituída de alimentos palatáveis consumidos por humanos por 65 dias e avaliar as repercussões ponderais, consumo alimentar, bioquímicas (glicose, perfil lipídico, transaminases, bilirrubina), peso do fígado e alterações histológicas (área do núcleo e dos hepatócitos, quantitativo de sinusóides hepáticos e deposição de gorduras) causadas pelo tratamento com fitoterápico contendo gengibre (ZO) por 20 dias antes do término do protocolo dietético. Os ratos *Wistar* com aproximadamente 52 dias de idade foram divididos em 05 grupos de acordo com o tratamento recebido: Ração Comercial (RC); Dieta cafeteria (CAF); CAF+ tratamento com formulação fitoterápica contendo gengibre (ZO) nas doses 75(ZO1), 150(ZO2) e 300 mg/Kg(ZO3). A formulação fitoterápica foi preparada a partir do extrato etanólico liofilizado de gengibre, cuja prospecção fitoquímica por cromatografia gasosa sugeriu a presença de compostos bioativos importantes como zingibereno e gingerol. A avaliação da atividade antioxidante máxima pelo consumo de DPPH foi de 76,86 % obtido na concentração de 75 µg/mL e o EC₅₀ foi de, 38,95 µg/mL. A dieta CAF utilizada nesse estudo elevou a massa corporal dos ratos, reduziu os níveis de ALT, aumentou a área do núcleo e dos hepatócitos e induziu a formação de sinusóides nas células hepáticas. Além disso, foi eficaz em induzir uma acumulação de lipídeos nos hepatócitos em 65 dias de experimento. No entanto, CAF não foi eficiente em alterar o consumo, o nível glicêmico, induzir dislipidemia e modificar o peso do fígado dos animais. O tratamento com o fitoterápico ZO por 20 dias, não alterou a massa corporal, mas foi eficiente em diminuir a área do núcleo e dos hepatócitos, e

reduzir a acumulação de lipídeos induzido pela dieta de cafeteria. O fitoterápico ZO não interferiu no consumo, na glicêmia, nos níveis lipêmicos, no peso do fígado dos animais. Os níveis de AST não foram alterados com o tratamento recebido, no entanto os níveis de bilirrubina nos animais que receberam a menor dose de ZO1 (75mg/kg) do fitoterápico foram aumentados. O presente estudo demonstra os efeitos de uma formulação fitoterápica constituída por ZO em reduzir alterações histológicas induzidas pelo consumo de dieta de cafeteria. O fitoterápico em estudo apresentou importante atuação no tratamento da esteatose, uma vez que reduziu, histologicamente, à deposição de lipídeos hepáticos, com as três doses, apesar de mantidos o alto aporte calórico.

ABSTRACT

LEAL, Dalila. Teixeira. MSc., Universidade Federal de Viçosa, June, 2016. **Effects of administration the formulation containing ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in Wistar rats fed a cafeteria diet.** Adviser: Marisa Alves Nogueira Diaz. Co-advisers: Camilo Amaro de Carvalho and Virginia Ramos Pizziolo.

The chronic diseases have risk factors to unhealthy diet, which contributes to the development of obesity, dyslipidemia, diabetes and steatosis. Considering this context, the objective was to offer the *Wistar* rats cafeteria diet (CAF), consisting of palatable foods consumed by humans for 65 days and evaluate the mass effects, food consumption, biochemical (glucose, lipid profile, transaminases, bilirubin), liver weight and histological alterations (nucleus area, hepatocytes area, quantity of hepatic sinusoid and fat deposition) caused by treatment with phytotherapy containing ginger (ZO) for 20 days before the end of the dietary protocol. Male *Wistar* rats approximately 52 days old were divided into 05 groups according to the treatment received: Ration Commercial (RC); Cafeteria diet (CAF); + CAF treatment with phytotherapy formulation containing ginger (ZO) at doses 75(ZO1), 150(ZO2) and 300mg/kg (ZO3). The phytotherapeutic formulation was prepared from lyophilized ethanolic extract of ginger, whose phytochemical by gas chromatography suggested the presence of important bioactive compounds such as gingerol and zingiberene. The evaluation of the maximum antioxidant activity by DPPH consumption of 76.86% was obtained at a concentration of 75 µg/ml and EC50 was of 38.95µg/mL. The CAF diet used in this study increased the body weight of rats reduced the ALT levels, increased the area of the nucleus and hepatocytes and induced the formation of sinusoids in the liver cells. Moreover, it was effective in inducing an accumulation of lipid in hepatocytes in 65-day experiment. However, CAF has not been effective in changing consumption, glucose levels, induce dyslipidemia and modify the weight of the liver of animals. The treatment with the phytotherapy ZO for 20 days did not affect body weight, but was efficient in decreasing the area of the nucleus and hepatocytes, and reduce the accumulation of lipids induced by the cafeteria diet. The phytotherapy ZO did not affect the consumption, on blood sugar, in lipid levels, liver weight of the animals. AST levels were unchanged with treatment received, however bilirubin levels in animals

receiving the lowest dose of ZO1 (75mg/kg) of phytotherapeutic were increased. This study shows the effects of a phytotherapy formulation comprising ZO to reduce histological changes induced by the cafeteria diet consumption. The phytotherapy study showed important role in the treatment of steatosis, once reduced histologically deposition of liver lipids, with three doses, although maintained the high caloric intake

1. INTRODUÇÃO

Um dos grandes desafios enfrentados pela sociedade atual são as doenças crônicas, representadas pelas doenças respiratórias, do aparelho circulatório, diabetes e câncer. Essas doenças são multifatoriais e coexistem com os determinantes biológicos e socioculturais da população. Possuem fatores de risco em comum, como o tabagismo, a inatividade física, o consumo de álcool e a alimentação não saudável (BRASIL, 2011; BRASIL, 2014a).

A alimentação saudável propiciada com ingestão de nutrientes é essencial para uma boa saúde (BRASIL, 2014c). Informação sobre a consequência do consumo de alimentos não saudáveis se torna importante uma vez que a população está substituindo alimentos *in natura* ou minimamente processados por produtos industrializados prontos para consumo. Como resultado, há um desequilíbrio entre a oferta de nutrientes e a ingestão excessiva de calorias, o que contribui para evolução de doenças crônicas (BRASIL, 2014c).

As repercussões do consumo de alimentos altamente calóricos são identificadas em vários experimentos com animais. Nestes, os alimentos ultraprocessados são oferecidos a ratos, mimetizando o consumo humano, e fazem com que estes desenvolvam alterações de massa corporal, hiperfagia, hiperglicemia, resistência insulínica e hepatoesteatose. Este protocolo alimentar é um modelo altamente relevante e é conhecido como dieta de cafeteria (CAF) (SAMPEY et al. 2011).

As alterações causadas pela dieta de cafeteria são prevenidas e tratadas em vários estudos por diferentes espécies vegetais como soja (ANDRADE et al., 2013), tamarindo (JINDAL et al., 2011) e óleo de linhaça (BENAISSA et al., 2015). A utilização de plantas para tratamento de patologias no Brasil é bastante difundida, resultado de conhecimentos repassados por meio da tradição cultural oral por gerações em diferentes etnias (BRASIL, 2011a; BRASIL, 2006). No entanto, apesar do Brasil ter grande diversidade biológica e tecnologia para validar cientificamente o uso de plantas como fonte de novos medicamentos, ainda é pouco explorado.

Apenas uma pequena quantidade de espécie vegetal possui investigação fitoquímica e farmacológica (BRASIL, 2011a; BRASIL, 2012b; ALVES, 2013).

Nesse sentido, o Ministério da Saúde em 2006, aprovou a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC), a qual traz diretrizes para inserção de ações, serviços e produtos da fitoterapia para o SUS (BRASIL, 2006). Doze fitoterápicos já estão disponíveis em vários estados (BRASIL, 2012a).

Assim, pode-se destacar o gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe), que é uma planta medicinal antiga e popular no mundo (MESOMO, 2013) e estudos destacam sua atuação em diversas doenças (EMA, 2011). Shidfar et al., (2015) em estudo com diabéticos tipo 2, encontraram atividades hipoglicemiantes ao administrar 03 gramas gengibre por 03 meses. Em mulheres obesas, Attari et al., (2015) identificaram redução de algumas características relacionadas a obesidade como peso, níveis de insulina, leptina, resistina e glicose, com oferecimento de 02 gramas de gengibre por 12 semanas.

Em estudos com animais, Misawa et al., (2015), encontraram ação hipolipemiantes com a associação de 0,3% de gengibre em dieta hipercalórica por 18 semanas, o que também foi confirmado no estudo do Paul et al., 2012 com a administração de gengibre *in natura* por 49 dias em ratos que receberam dieta acrescida de gordura vegetal. Tzeng et al., (2015), evidenciaram atenuação da esteatose após administrar 6-gingerol (100mg/kg) em hamsters que receberam dieta de alto teor de gorduras.

Portanto, muitos estudos demonstram ação benéfica com a administração de gengibre em diversos experimentos, no entanto não foram encontrados estudos que investigassem a atuação do gengibre em ratos após consumo de dieta do tipo CAF.

Considerando este contexto, o objetivo deste trabalho foi ofertar a ratos *Wistar* uma dieta CAF por 65 dias e avaliar as repercussões ponderais, consumo alimentar, bioquímicas, peso do fígado e alterações histológicas causadas pelo tratamento com fitoterápico contendo ZO (*Zingiber officinale* Roscoe) por 20 dias antes do término do protocolo dietético.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Alimentação

Segundo as estimativas da Organização Mundial de Saúde, atualmente, as Doenças Crônicas não Transmissíveis (DCNT) são multifatoriais, de longa duração e se desenvolvem no decorrer da vida, são consideradas um sério problema de saúde pública e se apresentam como um novo desafio para os gestores de saúde. Considerando as causas da DCNT, o padrão alimentar chama atenção, uma vez que modula os fatores de risco cardiovasculares, como por exemplo, os níveis de lipídios plasmáticos e o metabolismo glicídico, dentre outros (SBC, 2013).

Nesse sentido, com o objetivo da promoção de práticas alimentares saudáveis e a prevenção de distúrbios nutricionais relacionados à alimentação, o Ministério da Saúde aprovou a Política Nacional de Alimentação e Nutrição (PNAN) a qual desenvolve estratégias que envolvem tanto a vigilância alimentar e nutricional como a promoção da alimentação adequada e saudável para população (BRASIL, 2012c).

Exemplos de ações de vigilância alimentar é o VIGITEL, que tem como objetivo realizar a vigilância dos fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico e assim subsidiar ações de promoção da saúde e prevenção de doenças para população brasileira. Está incluído no sistema VIGITEL o conjunto da população adulta das 26 capitais e do Distrito Federal (BRASIL, 2015b). Os resultados desse inquérito no período de 2006 a 2014 mostram que apenas 36,5% da população pesquisada consomem de forma regular (cinco ou mais dias) frutas e hortaliças por semana (BRASIL, 2015b).

Nesse sentido, com o objetivo de orientar a população sobre alimentação adequada e saudável e reverter a tendência do aumento da obesidade, o Ministério da Saúde elaborou um documento que norteia a escolha alimentar da população. A primeira edição do “Guia Alimentar Para População Brasileira” foi lançado em 2006 e diante das transformações vivenciadas pela sociedade brasileira, foi atualizado em 2014. A atualização do guia trouxe a seguinte regra de ouro: preferir sempre

alimentos *in natura* ou minimamente processados e preparações culinárias a alimentos ultraprocessados (BRASIL, 2014c).

A importância ligada ao tema está sendo documentada em estudos, que comprovam tendência no Brasil em substituir alimentos *in natura* por alimentos minimamente ou ultraprocessados (LOUZADA et al., 2015, BRASIL, 2014c, MARTINS et al., 2013). Há relação positiva no consumo desse tipo de alimento com a ingestão de sódio, colesterol e gorduras (BIELEMANN et al., 2015), o que indica prejuízos à saúde e levanta atenção para a realização de intervenções visando a redução da ingestão desse grupo de alimentos (LOUZADA et al., 2015, BIELEMANN et al., 2015).

Estudos mostram que o consumo de alimentos não saudáveis acontece cedo. Crianças de até 24 meses já contam em seu cardápio com produtos industrializados em detrimento do consumo de alimentos saudáveis (SOTERO, CABRAL e SILVA, 2015). Refrigerantes e sucos industrializados são introduzidos precocemente, antes do primeiro ano de vida (SILVA et al., 2015, COELHO et al., 2015).

As crianças são vulneráveis e influenciadas pelas propagandas que estão regularmente expostas ao *marketing* de alimentos ricos em gordura, açúcar e sal, com baixo valor nutritivo. Nesse sentido, a Organização Pan-Americana de Saúde elaborou um documento em que Recomendações sobre a Promoção e a Publicidade de Alimentos e Bebidas não Alcoólicas para Crianças nas Américas sejam cumpridas. Há esforços para restringirem a promoção e a publicidade de alimentos para crianças, o que pode se tornar uma ferramenta importante contra obesidade (OPAS, 2012).

Entre os adolescentes, o consumo alimentar tanto em área urbana quanto rural apresentou baixo consumo de vegetais. No entanto, houve prevalência do consumo de cereais, frutas e hortaliças dos residentes na área rural e de doces, açúcares, gorduras, leite e derivados na área urbana (WOICHIK et al., 2013). Quanto ao padrão alimentar dos adolescentes já obesos, identifica-se prática alimentar inadequada tanto nas escolas públicas quanto nas privadas, com apenas 10% dos adolescentes ingerindo frutas. O consumo de refrigerantes (mais de três vezes por semana) foi maior entre os estudantes das escolas privadas, e não foi encontrada regularidade nos horários das refeições (CAMPOS et al., 2014). Os

autores encontraram ainda, que a maioria dos jovens analisados não fazem as refeições com os familiares (CAMPOS et al., 2014). Observa-se que a escolha alimentar familiar, praticada em casa, contribui para adoção e manutenção de hábitos alimentares saudáveis por parte dos filhos. Esta influência se estende para fora do contexto familiar, o que pode perpetuar-se ao longo das gerações (CARDOSO et al., 2015).

O consumo inadequado dos grupos de alimentos protetores à saúde também é uma prática presente até entre os estudantes do curso de nutrição. Autores concluíram que nem sempre o que se aprende na teoria é efetivado na prática, e que por isso é necessário aprofundar mais o debate sobre esse tema (AQUINO, PEREIRA, REIS, 2015).

Quanto aos adultos jovens (21 a 23 anos), 51,2% das calorias totais ingeridas são decorrentes do consumo de alimentos ultraprocessados, o que tem relação positiva com a ingestão de gorduras, colesterol e sódio. Sua ingestão foi maior entre indivíduos do sexo feminino, de maior escolaridade e que nunca foram pobres e eutróficos (BIELEMANN et al., 2015).

Em relação ao consumo de alimentos que compõem a pirâmide alimentar americana por idosos brasileiros, autores encontraram que o consumo de alimentos pertencentes a oito dos nove grupos da pirâmide adaptada para a população idosa americana (cereais/pães/tubérculos/raízes, hortaliças, frutas, leguminosas, leite/derivados, carnes/ovos, açúcares/doces e água) não é adequado. Já os dados referentes ao consumo de gorduras e óleos foram controversos, apontando tanto a adequação, em relação ao consumo de colesterol, gordura saturada, ácidos graxos monoinsaturados e ácidos graxos poli-insaturados, quanto à inadequação, especialmente em relação ao consumo de ácidos graxos saturados (DEON et al., 2015).

No Brasil, um estudo realizado pelo IBGE confirma o consumo excessivo de calorias provenientes de açúcares e gorduras saturadas. Houve aumento na disponibilidade relativa de alimentos industrializados, ultraprocessados como pão francês, biscoitos, refrigerantes e refeições prontas em relação às pesquisas anteriores (LEVY et al., 2012).

A participação de alimentos industrializados prontos para consumo vem aumentando em todo país desde a década de 2000 (MARTINS et al., 2013) o que determina, entre outras consequências, o desequilíbrio na oferta de nutrientes e a ingestão excessiva de calorias o que contribuiu para aumento da frequência da obesidade do diabetes, hipertensão, doenças do coração e certos tipos de câncer. Essas doenças eram inicialmente de pessoas com idade avançada, no entanto muito desses problemas já atingem idosos, adultos jovens, adolescentes e crianças (BRASIL, 2014b).

Diante do apresentado acima há necessidade de mais estudos que avaliem o impacto do consumo dos alimentos que estão presentes na rotina da população e assim implantar medidas com enfoque educativo para todos os grupos de indivíduos.

2.2 Obesidade

Segundo a Organização Mundial da Saúde a obesidade é o acúmulo anormal ou excessivo de gordura, resultado de um desequilíbrio energético entre as calorias consumidas e gastas, que pode prejudicar a saúde (WHO, 2016b).

Embora o Brasil não tenha completado a transição epidemiológica e nutricional, observa-se a rápida ascensão da obesidade e dos problemas de saúde a ela associados. A obesidade está relacionada a uma menor expectativa de vida devida sua associação com doenças cardiovasculares, diabetes e hipertensão (WHO, 2016a; BOGLIOLO, 2013; MARZZOCO e TORRES, 2013).

Globalmente, a incidência da obesidade vem crescendo nas últimas décadas (BOGLIOLO, 2013). Pesquisa realizada no Brasil, dados do VIGITEL de 2014, mostra que 17,9% dos entrevistados estão obesos e 52,5% estão acima do peso, e que houve, um crescimento do número de pessoas com excesso de peso e obesidade. Os jovens registram menor prevalência de obesidade enquanto que a população de 35 a 64 anos possui índices mais elevados e quanto menor a escolaridade maior é esse índice. De acordo com a série histórica do VIGITEL (2006-2014), a frequência de excesso de peso aumentou 1,3 pontos percentuais ao ano enquanto a obesidade aumentou 0,8 (BRASIL, 2015b). Segundo dados do

Ministério da Saúde o excesso de peso acomete um em cada dois adultos e uma em cada três crianças brasileiras (BRASIL 2014b).

A obesidade é vista como uma doença inflamatória crônica de baixo grau, secundária a alterações que ocorrem com a expansão do tecido adiposo (BOGLIOLO, 2013). Sua etiopatogênese é complexa e incompletamente compreendida (ROBBINS, 2008). De maneira simplificada, ela decorre da predisposição genética associada a fatores ambientais que levam ao desequilíbrio energético. Esse desequilíbrio pode ser decorrente do sedentarismo, alterações hormonais, aumento da ingestão calórica e de alterações psicocomportamentais (BOGLIOLO, 2013; BRASIL 2014b).

Seu aparecimento está ligado ao *marketing* exacerbado de alimentos processados, ao consumismo e à necessidade de prazeres rápidos (BRASIL, 2014c). As refeições realizadas fora de casa em restaurantes e *fast food* costumam fornecer porções maiores e mais calóricas, com menor qualidade nutricional, o que está associado ao aumento do IMC (Índice de Massa Corporal) (BRASIL, 2014b).

Esse tema se torna relevante uma vez que o sobrepeso e a obesidade já estão presentes na zona rural, o que pode ser resultado do maior consumo de alimentos de alta densidade calórica que são oferecidos até pelas próprias escolas (BARROS et al., 2013). As crianças obesas são mais propensas a desenvolverem diabetes e doenças cardiovasculares, o que contribui para incapacidade na vida adulta e morte prematura (WHO, 2016a). A transição alimentar no meio rural é resultado da incorporação de produtos industrializados ricos em gorduras, sal e açúcar e está relacionada ao aumento da DCNT como a obesidade (REINALDO et al., 2015).

Todos os órgãos são afetados pela obesidade, no entanto as principais complicações da obesidade são diabetes melito tipo 2, doença coronariana, hipertensão arterial e acidente vascular cerebral (WHO, 2016a). Parte da carga do diabetes em estudo realizado no Brasil, referente a 2008, foi atribuível a fatores de risco modificáveis, como obesidade e ao excesso de peso. Em aproximadamente seis anos, a contribuição desses fatores aumentou expressivamente, sobretudo entre os homens (FLOR et al., 2015).

Outra condição relacionada à obesidade é a esteatose-hepatite não alcoólica, que apesar de ser uma lesão reversível, em acometimentos mais graves pode levar a morte celular (BOGLIOLO, 2012; BOGLIOLO, 2013).

2.3 Esteatose

A doença gordurosa do fígado, alcoólica ou não, é um espectro de lesões que se inicia com a esteatose, podendo evoluir para esteato-hepatite, fibrose chegando até a cirrose. A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) inclui a esteatose hepática e a esteato-hepatite não alcoólica (EHNA). Nos últimos anos há aumento da EHNA resultado do aumento da obesidade, do diabetes e da dislipidemia (BOGLIOLO, 2012).

A lesão da esteatose aparece devido a interferências no metabolismo dos ácidos graxos. Pode ocorrer devido ao aumento de aporte de ácidos graxos por ingestão excessiva ou lipólise aumentada; aumento da síntese de ácidos graxos a partir do excesso de acetil-CoA que não encontra condições de rápida oxidação no ciclo de Krebs ou redução na utilização de triglicerídeos ou de ácidos graxos para a síntese de lipídeos complexos por carência de fatores nitrogenados e de ATP. Esteatose também pode ocorrer devido a uma menor formação de lipoproteínas por deficiência na síntese de apoproteínas e distúrbios no deslocamento de vesículas de lipoproteínas por alterações funcionais no citoesqueleto celular (BOGLIOLO, 2013).

Considerando a associação do consumo dos alimentos embutidos provenientes de um padrão ocidentalizado com a obesidade em humanos (CRISTOFOLETTI et al., 2013), estudos experimentais reproduzem tais hábitos alimentares e mostram as repercussões importantes quanto ao consumo desses alimentos ultraprocessados por ratos (WARNEKE et al 2014; MARTIRE et al 2013). Nesse sentido, diversas dietas são usadas nos estudos com animais, como as ricas em gorduras (HFD-“high fat diet”) (LI et al., 2014), acrescidas de colesterol (dietas aterogênicas)(KAUR & KULKARNI, 2000) dieta de cafeteria (SAMPEY et al 2011) dentre outras dietas experimentais.

Algumas dietas são insuficientes para induzir sinais de esteatose como alimentação com elevado teor de gordura saturada (óleo de coco e manteiga) de longa duração (14 semanas) (ROMESTAING et al., 2007). E outras com eficiência

quanto indução da esteatose como a dieta rica em lipídeos à base de chocolate por 02 meses (RAVAGNANI, 2011), e a enriquecida com colesterol por 84 dias (MATSUDA et al., 2009).

Assim, o entendimento da fisiopatologia e tratamento da esteatose hepatite não alcoólica (NASH) são dificultados pela falta de um modelo animal apropriado (ROMESTAING et al., 2007; KUCERA e CERVINKOVA 2014). Modelos animais adequados podem revelar fatores de risco e auxiliar na descoberta de estratégias terapêuticas contra progressão da esteatose hepática (KUCERA e CERVINKOVA, 2014).

Dentre as diversas dietas usadas, a dieta de cafeteria é mais eficiente em induzir a esteatose comparada com dieta hiperlipídica constituída por gordura animal e óleo de soja (SAMPEY et al., 2011).

2.4 Dieta de cafeteria

Desde 1970 estudos investigam as consequências do consumo de alimentos palatáveis pelos humanos (SCLAFANI & SPRINGER, 1976; ROLLS & ROWE, 1979). Inicialmente em experimentos animais o consumo desses alimentos recebeu nome de “dieta de supermercado” (ROLLS, ROWE & TURNER, 1980; ROLLS & ROWE 1979). No entanto, como os animais podiam selecionar os alimentos de acordo com sua preferência a partir de um “cardápio”, essa dieta ficou conhecida como “Dieta de cafeteria” (MOORE, 1987). Assim a dieta de cafeteria (CAF) é hoje um modelo conhecido por ofertar uma variedade de alimentos altamente palatáveis, de alta energia, presentes na alimentação humana à ratos (ROTHWEL & STOCK 1982; SAMPEY et al., 2011).

A dieta CAF é um modelo robusto para reproduzir obesidade humana, uma vez que induz resistência insulínica, aumento de peso mais exarcebado comparado à dieta hiperlipídica acrescida de gordura animal e óleo de soja (SAMPEY et al., 2011). Os protocolos de dieta CAF podem ser constituídos por dietas com alto teor de carboidratos (SOUZA et al., 2013; MARQUES et al., 2015; MARTIRE et al., 2013) ou gorduras (ANDRADE et al., 2013) ou ainda associação de carboidratos e gorduras (LALANZA et al., 2014).

As dietas tipo CAF podem ser oferecidas na forma de *pellet* (grânulos) (JINDAL et al., 2011) ou na forma de porções alimentares individuais (SAMPEY et al., 2011). Na forma de *pellet* há proporção igual de diferentes itens alimentares, garantindo fornecimento homogêneo dos componentes. Autores utilizam uma variedade de alimentos para constituir a dieta CAF tipo *pellet*, por exemplo, uma combinação de pão, batata cozida, leite condensado, arroz, bolo de chocolate, cenoura, ovos, vitaminas, patê de fígado, biscoito doce, batata frita, chocolate ao leite, bacon, ração comercial (MACQUEEN et al., 2007; JINDAL et al., 2011; ANDRADE et al., 2013).

Quanto ao oferecimento na forma de porções alimentares os autores ofertam produtos dietéticos como são consumidos pelos humanos, sem passar por processo de homogeneização e/ou mistura. Um dos objetivos desse tipo de oferta é garantir diversidade alimentar (SAMPEY et al., 2011). Há oferecimento de uma variedade de alimentos como queijo, chocolate, ovos, geleia de mocotó, salsichas, mortadela, refrigerante, biscoito doce, pão, batata-frita, presunto, banana, patê de fígado, bacon, bolo, macarrão, linguiça (SOUZA et al 2013; TURCHETTO et al 2013; WARNEKE et al 2014). Há estudos ainda que acrescentem ácidos graxos saturados à dieta de cafeteria (BENAISSA et al., 2015).

A manutenção da dieta de cafeteria ao longo do tempo faz com que os animais desenvolvam hiperfagia (SAMPEY et al., 211) aumento do peso (JINDAL et al., 2011), resistência insulínica (CESARETTI & JUNIOR, 2006) hepatoesteatose (MACQUEEN et al., 2007; SAMPEY et al., 2011; LEPORE et al., 2015), mudanças comportamentais (WARNEKE et al., 2014; LALANZA et al., 2014), dentre outras alterações.

Além dessas repercussões, atenção tem sido reportada ao impacto que a dieta rica em gorduras e açúcar traz para microbiota intestinal (TURNBAUGH et al., 2008). Ao comparar o ganho de peso de ratos livres de microrganismos “*Germ Free*” e ratos convencionais alimentados com dieta contendo alto e baixo teor de gordura por quatro semanas, observou-se que a ausência da microbiota intestinal não forneceu proteção contra obesidade induzida pela dieta. O peso dos animais livres de microrganismos foi maior comparado ao grupo normal, ambos recebendo dieta rica em gorduras (FLEISSNER et al., 2010).

2.5 Fitoterapia

Os fitoterápicos representam uma inesgotável fonte de inovação no campo da saúde (BRASIL, 2011a), no entanto apesar da grande diversidade biológica, o potencial de uso de plantas como fonte de novos medicamentos é ainda pouco explorado (ANDREO e JORGE, 2011; BRASIL, 2012a). Para a legislação brasileira são considerados como medicamentos fitoterápicos os obtidos com emprego exclusivo de matérias-primas ativas provenientes dos vegetais (BRASIL, 2010).

Desde a 8ª Conferência Nacional de Saúde em 1986, o Ministério da Saúde recomenda a introdução de práticas alternativas nos serviços de saúde. Em 2006 foi aprovada a Política Nacional de Práticas Integrativas e Complementares (PNPIC) que contemplou a fitoterapia. No mesmo ano, o desenvolvimento de políticas, programas e projetos fez surgir a necessidade de institucionalizar essas práticas no SUS o que culminou com o desenvolvimento da Política Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápico (PNPMF). A PNPMF tem como um dos objetivos específicos, a ampliação de opções terapêuticas aos usuários, com a garantia de acesso a plantas medicinais, fitoterápicos e serviços relacionados à fitoterapia, com segurança, eficácia e qualidade (BRASIL, 2006).

Em 2012 a ANVISA ampliou o número de medicamentos fitoterápicos na Atenção Básica. Doze fitoterápicos são recomendados no RENAME (Relação Nacional de Medicamentos Essencias) quanto sua ação anti-inflamatória, cicatrizante, obstipação intestinal, dor, artrite dentre outras indicações (BRASIL, 2012a; BRASIL, 2013).

O custo para se produzir e o tempo necessário para um fitoterápico chegar ao mercado é bem menor comparado ao desenvolvimento de um medicamento sintético, o que faz crescer o interesse de empresas na biodiversidade dos países tropicais e subtropicais (SOUSA e MIRANDA, 2014). No entanto, deve-se ter preocupação quanto a segurança dos medicamentos de origem vegetal uma vez que pode existir a ideia errônea de que o que é natural não é tóxico (CUNHA, SILVA e ROQUE, 2003). Portanto a eficácia e segurança de um medicamento à base de plantas devem ser avaliados, por meio de levantamentos etnofarmacológicos e

tecnocientíficos, assim como sua reprodutibilidade e constância de qualidade (BRASIL, 2010).

As espécies vegetais utilizadas para compor os fitoterápicos, estão sendo cultivadas para evitar variação dos seus compostos químicos, uma vez que estes são dependentes do ambiente em que estão inseridas. Associado a isso para o desenvolvimento de um fitoterápico há exigência de estudos pré-clínicos e clínicos semelhantes ao de uma droga isolada ou sintética que evidencia maior qualidade, eficácia e segurança no desenvolvimento dos medicamentos fitoterápicos (LEITE, 2009; CUNHA, SILVA & ROQUE, 2003).

Os fitoterápicos ganharam espaço uma vez que as informações sobre a avaliação de suas propriedades terapêuticas e efeitos adversos começaram a ser disponibilizados (BRASIL, 2011a). Nesse sentido, há evidências de atuação das espécies vegetais da família das zingiberáceas na redução dos fatores de risco relacionados às DCNT (LIN et al 2015; XIA et al 2010; BAIRWA, JASUJA & JOSHI, 2011) . Lin et al., (2015) ao suplementarem uma dieta rica em gorduras com *Alpinia officinarum*, espécie vegetal da família Zingiberaceae mostrou eficiência da mesma em reduzir tamanho dos órgãos (fígado, rim e baço) e valores de colesterol total e triglicerídeos no sangue de hamsters.

Xia et al., (2010) comprovaram os efeitos anti-obesidade e hipolipemiantes de um extrato etanólico de *Alpinia officinarum* (AOE), associado a dieta rica em gordura com diferentes proporções de AOE (AOE-1, 3%; AOE-2, 5%) em ratos *Sprague-Dawley* durante 6 semanas. O ganho de peso corporal, as concentrações no soro de colesterol total, TG e colesterol LDL foram significativamente reduzidos nos ratos tratados com AOE (XIA et al., 2010).

Outro estudo evidencia efeitos hipolipemiantes e antioxidantes de sementes de *Amomum subulatum* (família Zingiberaceae) em coelhos alimentados com colesterol. Uma redução significativa foi observada nos níveis de colesterol total, triglicerídeos, colesterol LDL e VLDL e aumento dos níveis de colesterol-HDL após administração de *A. subulatum* (BAIRWA, JASUJA & JOSHI, 2011).

Espera-se que o uso de plantas medicinais possa garantir maior acesso ao medicamento de forma segura e eficaz, com aproveitamento sustentável dos

recursos naturais e com isso gerar trabalho e renda para população (LEITE, 2009; BRASIL, 2010).

2.6 Gengibre

O Gengibre é um rizoma do *Zingiber officinale* Roscoe da família das Zingiberaceae (Figura 01). É uma especiaria usada para tratar uma série de doenças em toda a Ásia, especialmente na Índia e na China (EMA, 2011).



<https://www.getninjas.com.br>

Figura 01 Rizoma do Gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe).

Os rizomas do gengibre apresentam comprimento irregular, sendo muitas vezes ramificado e ligeiramente ovóides e curvas; a superfície externa apresenta cor castanho claro acinzentado, apresentando-se fibrosa. O pó apresenta cor marrom-amarelado; exhibe odor e gosto característico e é extremamente pungente (JAPANESE PHARMACOPOEIA, 2006).

É uma planta perene, reptante com uma altura entre 0,6 a 1,2 m, prefere terrenos argilosos e bem drenados. Os gingeróis e shogaols presentes no óleo essencial são as substâncias que conferem sabor picante ao gengibre (CUNHA, SILVA e ROQUE, 2003).

São atribuídos aos compostos presentes no gengibre potente atividade antioxidante, que são dependentes do comprimento da cadeia lateral e dos grupos funcionais relacionados aos compostos gingerol e shogaol (LU et al., 2014). O 6-shogaol exhibe potente propriedade antioxidante e anti-inflamatória, o que pode ser atribuído a insaturação $\alpha\beta$ na porção cetona. O 10-gingerol apresenta-se ser o mais potente antioxidante entre todos os gingeróis devido comprimento da cadeia

carbonada (DUGASANI et al., 2010). Outro estudo encontrou que 6-gingerol possui a maior atividade antioxidante entre gingeróis e o 6-shogaol entre shogaol (GUO et al., 2014)

Experimentos *in vitro* evidenciam atuação do gengibre na prevenção do diabetes e obesidade (ISA et al., 2008; TZENG & LIU, 2013). Isa et al., (2008) encontraram que componentes do gengibre (6-gingerol e 6-shogaol) podem inibir significativamente TNF- α (Fator de Necrose Tumoral Alfa) mediado por regulação negativa da adiponectina no adipócito (3T3-L1). No entanto, estes compostos fazem por mecanismos diferentes, o que está relacionado com suas diferenças estruturais. Os autores concluíram que gengibre pode ter implicações importantes para a prevenção do diabetes através da melhoria da disfunção do adipócito (ISA et al., 2008). Tzeng & Liu, (2013) mostraram que 6-gingerol suprime eficazmente a adipogênese por regular negativamente a expressão de receptores relevantes para o acúmulo e metabolismo dos lipídeos. Os autores concluíram que 6-gingerol tem efeito anti-adipogênico e tem potencial para aplicação na prevenção da obesidade.

Estudos *in vivo* demonstram contribuições do gengibre para prevenção e/ou tratamento dos fatores de risco relacionados às doenças crônicas não transmissíveis, como redução nos níveis de glicose (LI et al., 2014; MOZAFFARI-KHOSRAVI et al., 2014), dislipidemias, redução da massa corporal (MISAWA et al., 2015) e esteatose (RAHIMLOU et al., 2016).

Há hipótese da atuação do gengibre na melhora da sensibilidade insulínica, avaliado através do índice HOMA-IR (*homeostatic model assessment*), ao ser ministrado juntamente com dieta rica em gorduras em modelo de síndrome metabólica por 10 semanas (LI et al., 2014). Goyal & Kadnur (2006) confirmam atuação do gengibre(300mg/kg) na melhora da sensibilidade insulínica em ratos administrado intraperitoneal por oito semanas. Foi evidenciada também a redução dos índices de glicemia de jejum, em pacientes com diabetes que consumiram três gramas de gengibre por oito semanas (MOZAFFARI-KHOSRAVI et al., 2014).

Outros estudos reforçam ação do gengibre na redução da glicemia em ratos sem diabetes (OJEWOLE, 2006) e com diabetes induzidos por aloxano ou estreptozotocina (KAZEEM et al., 2013; SULTANA, AKTER & KHAN, 2012; JAFRI, ABASS & QASIM 2011; SHADLI et al., 2014).

Autores concluíram que a proteção contra resistência à insulina pode estar relacionada com a diminuição de citocinas inflamatórias como as Interleucina-8, Interleucina-6 e Fator de Necrose Tumoral Alfa (TNF- α) (TZENG et al., 2015). Resultados de um estudo duplo-cego randomizado com pacientes diabéticos suplementados com gengibre por dois meses encontrou redução significativa dos níveis de citocina pró-inflamatória (TNF- α) e da proteína de fase aguda (PCR) (MAHLUJI et al., 2013).

Afshari et al., (2007) em seu experimento demonstraram atenuação da peroxidação lipídica com uso de gengibre (5%) na dieta por oito semanas. Os resultados mostram diminuição dos níveis de malondialdeído (MDA) e aumento da capacidade antioxidante aferido pelo método de redução do ferro FRAP (Ferric Reducing *Antioxidant*), em ratos wistar diabéticos induzido por estreptozotocina (AFSHARI et al., 2007).

Há ênfase da atuação do gengibre na atividade das enzimas glicolíticas uma vez que estas foram alteradas com aumento significativo das enzimas glicoquinase, fosfofrutoquinase e de piruvatoquinase nos ratos diabéticos após administração oral de extrato aquoso de gengibre (500 mg/kg) durante 30 dias (ABDULRAZAQ et al., 2012).

Em relação aos níveis lipêmicos, Misawa et al., (2015), verificaram redução dos níveis de colesterol total, de insulina e de peso ao suplementarem com 0,3% de gengibre uma dieta composta 30% de gorduras (5% de gordura animal e 25% óleo de milho) por 18 semanas.

Outro trabalho demonstrou redução no grau de aterosclerose e dos níveis de colesterol, triglicerídeos, lipoproteínas séricas no soro sanguíneo com a administração de um extrato etanólico de gengibre (200 mg/kg) em coelhos que foram alimentados com ração comercial acrescida de colesterol e gordura vegetal hidrogenada por 10 semanas (BHANDARI, SHARMA e ZAFAR, 1998).

Thomson et al. (2002) verificaram ação hipolipemiante com uso de extrato aquoso de gengibre administrado diariamente a ratos durante quatro semanas, por via oral ou intraperitoneal. Uma redução significativa no nível sérico de colesterol foi encontrada quando uma dose mais elevada de gengibre (500 mg/kg) foi administrado. Dose baixa de gengibre (50 mg/kg), provocou redução significativa do

colesterol sérico apenas quando administrado via intraperitoneal. Não foram observadas alterações significativas nos níveis de triglicérides séricos após a administração de qualquer dose baixa ou alta de gengibre (THOMSON et al. 2002).

Ação positiva tem sido reportada quanto ao uso do gengibre na esteatose, o pré-tratamento (28 dias) e tratamento (02 semanas) com óleo de gengibre (200 mg/kg) apresentou hepatoproteção tanto em relação aos parâmetros bioquímicos quanto histológicos na esteatose hepática aguda induzida por etanol (NWOZO, OSUNMADEWA & OYINLOYE, 2014).

Há relatos também quanto à atuação do gengibre na regulação da temperatura corporal. Kaur & Kulkarni (2000) mostraram efeito antiobesidade e termogênico (aumento da temperatura corporal) de um fitoterápico composto por 05 espécies vegetais dentre elas o gengibre em ratos que receberam dois tipos de dieta, cafeteria e aterogênica por 40 dias. A administração intraperitoneal de 6-gingerol em outro estudo induziu uma rápida queda na temperatura do corpo em repouso em conjunto com uma diminuição imediata da taxa metabólica. No entanto, o mesmo efeito não foi evidenciado quando gengibre foi adicionado à dieta e oferecido a ratos por cinco dias. Os autores sugerem que o 6-gingerol é que modula ou interfere na regulação da temperatura corporal e que os outros compostos ativos do gengibre podem interferir no efeito hipotérmico do 6-gingerol (UEKI et al., 2008).

Diante do exposto, observa-se que o gengibre pode contribuir no tratamento ou prevenção dos fatores relacionados a doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade, hiperglicemia e dislipidemia, no entanto poucos estudos são disponíveis quanto sua atuação nas alterações induzidas pela dieta CAF, principalmente a esteatose.

3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Avaliar o efeito de uma formulação fitoterápica contendo gengibre (*Zingiber officinale* Roscoe) em ratos Wistar que receberam dieta de cafeteria.

3.2 Objetivos específicos

- Obter amostras do rizoma de gengibre da fazenda experimental (FERC/ES) sob ambiente controlado;
- Obter amostras do solo que cultivou o gengibre no FERC/ES para realizar a análise química;
- Obter o extrato etanólico do gengibre;
- Identificar os compostos do gengibre por cromatográfica gasosa acoplados a espectrometria de massas;
- Avaliar a atividade antioxidante do extrato etanólico do gengibre utilizado para compor a formulação pelo método DPPH;
- Avaliar o consumo alimentar e massa corporal antes e durante o tratamento com o fitoterápico;
- Analisar os parâmetros bioquímicos séricos após tratamento com o fitoterápico;
- Realizar análise histológica do fígado após tratamento com o fitoterápico.

4. METODOLOGIA

4.1 Colheita, secagem e obtenção de extrato do material vegetal.

Os rizomas do gengibre foram coletados na Fazenda Experimental Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde (FERC) da cidade de Viana do estado do Espírito Santo para obtenção do extrato. Juntamente com o material vegetal da fazenda do FERC, uma amostra do solo foi coletada para análise química.

O material vegetal fresco (4,0 kg) foi lavado em água corrente, imergido em hipoclorito de sódio 1% para desinfecção superficial por 30 segundos. Após esse período o material foi disposto em papel absorvente para eliminar excesso de água e então foi seccionado em ralador em tamanhos menores de 01 cm. A massa fresca dos rizomas foi determinada em balança analítica e disposta em papéis absorventes para secagem em estufa com renovação e circulação de ar, na temperatura máxima de 40°C até obter peso constante. Após secagem, o material foi transformado em pó com auxílio de um moinho de facas. Os pós das amostras foram submetidos à extração com álcool etílico 96% a frio por maceração até exaustão, de acordo com o método descrito por Bhandari, Sharma e Zafar (1998). Após 72 horas o material foi filtrado e levado à estufa com circulação de ar (40°C) para secagem final. Esse processo foi repetido até secar completamente. Após secagem parcial na estufa, o resíduo do material foi submetido a processo de secagem por liofilização, utilizando-se pressão de 10-1 bar e temperatura de 60°C, obtendo-se assim, massa suficiente para os ensaios biológicos.

O rendimento da extração foi calculado através da fórmula:

$$\text{Rendimento\%} = (\text{peso extrato seco} / \text{peso do material vegetal}) \times 100$$

O extrato final liofilizado foi manipulado na forma de formulação oral na concentração de 15% do extrato. A preparação das soluções foi realizado de acordo com a dose a ser administrada, respeitando-se o peso do animal (mg/Kg/L).

4.2 Avaliação da Atividade Antioxidante *in vitro*

A atividade antioxidante *in vitro* do extrato etanólico dos rizomas do gengibre foi determinada pelo método espectroscópico do radical livre 1,1-difenil-2-

picrilidrazila, descrito por Brand, Williams e Cuvelier (1995), que se baseia na redução do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) por antioxidantes.

Quando o DPPH reage com um antioxidante, que pode doar oxigênio, ele é reduzido e há mudança de coloração violeta para amarela, proporcional à concentração da substância redutora da amostra. Esta reação leva a uma diminuição da absorvância, devido ao consumo do radical DPPH na absorção de 516nm.

Extrato etanólico de gengibre (01 ml) foi adicionado a solução de DPPH 0,1mM (3 mL). O “branco” foi preparado substituindo 01 ml do extrato etanólico por 1mL de etanol absoluto 99,9% pureza. A absorvância do branco (ABS_B) foi determinada imediatamente após a mistura (tempo zero) e absorvância do extrato etanólico (ABS_A) foi lida após 30 min de repouso no escuro.

A AO (atividade antioxidante) da amostra é expressa em função da capacidade de provocar um decréscimo na absorção (a 516 nm) de uma solução de DPPH a uma determinada concentração (BRAND, WILIAMS E CUVELIER 1995).

Cada amostra em determinada concentração foi analisada em triplicata e as médias dos percentuais da absorvância da atividade antioxidante (%AAO) em cada uma das concentrações testadas, foi calculada de acordo com a seguinte fórmula:

$$\% \text{ AAO} = \frac{100 - [\text{ABS}_A - \text{ABS}_B]}{\text{ABS}_C} \times 100$$

%AAO = Absorvância da atividade antioxidante;

ABS_A = Absorção da amostra + DPPH;

ABS_B = Absorção do Branco (EtOH);

ABS_C = Absorção de uma solução de DPPH em etanol (EtOH).

Através do gráfico das médias de percentuais de inibição da descolorização do DPPH *versus* concentração do extrato, estimou-se a concentração do extrato suficiente para atingir 50% da atividade antioxidante (EC_{50}) máxima do DPPH para cada amostra testada. Para o cálculo do EC_{50} foi utilizada a equação da reta,

substituindo o valor de y por 50 para obtenção da concentração da amostra com capacidade de reduzir 50% do DPPH.

4.3 Cromatografia Gasosa

A determinação da composição química do extrato foi realizada por Cromatografia Gasosa acoplada e espectrometria de massa. O material liofilizado foi extraído com metanol qualitativamente por duas horas, sob agitação e em seguida foi centrifugado a 4000 rpm por trinta minutos. O sobrenadante foi retirado e filtrado em membrana milipore de porosidade 0,45 micrômetros. O extrato foi injetado no cromatógrafo gasoso acoplado a espectrômetro de massa. Para a identificação dos componentes do extrato, utilizou-se aparelho Shimadzu GC-17A equipado com coluna de sílica fundida SE-54 (30 m × 0,25 mm, espessura do filme de 0,25 μm) acoplado a espectrômetro de massas Shimadzu GCMS-QP5050A.

Utilizaram-se as seguintes condições cromatográficas: gás de arraste He sob fluxo de 0,8 mL min^{-1} ; temperatura do injetor, 240 °C, temperatura do detector, 260 °C; temperatura inicial da coluna 40 °C, isotérmica por 10 min., seguido de aquecimento a 8 °C min^{-1} até 300 °C, permanecendo isotérmica por 18 min; volume de injeção da amostra: 1,0 μL razão de split, 1:5; pressão da coluna, 33 kPa. O processo de ionização ocorreu por impacto de elétrons (70 eV) e a amplitude de varredura foi de 40 a 600 Da.

A identificação dos compostos foi realizada pela comparação dos espectros de massas obtidos experimentalmente com os disponíveis na base de dados do equipamento Wiley sétima edição, NIST 05, NIST05S, NIST 08, NIST 08S, NIST 11 e NIST 11S e por estudo da fragmentação daqueles compostos que não estão inseridos na biblioteca.

4.4 Ensaio *in vivo*

4.4.1 Animais

Foram utilizados 30 ratos (*Rattus norvegicus*) albinos machos da linhagem Wistar, com 40 dias de idade e aproximadamente 200g, proveniente do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa. O experimento foi conduzido em conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo

Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal- CONCEA, protocolo de aprovação nº 80/2014, em conformidade com diretrizes brasileiras que envolvem o uso de animais em pesquisa (Lei nº 11.794/ 2008). Tentativas vigorosas foram feitas para minimizar o sofrimento e fontes externas de dor e desconforto. Além disso, foi utilizado o número mínimo indispensável de animais para produzir dados científicos fiáveis.

Foi empregado o delineamento experimental aleatório em seis grupos. O cálculo do número de animais por grupo está em acordo com a fórmula proposta no estudo de Callegari-Jacques (2003) e Cochran (1977), onde o número total de animais necessários ao experimento é de trinta animais, assim têm-se seis grupos com seis animais (n=6) conforme o anexo B.

4.4.2 Dieta de cafeteria

A dieta do tipo cafeteria utilizada no experimento foi manipulada no laboratório do Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, e oferecida em forma de *pellet*, com proporção dos constituintes e densidade calórica (kcal/100g) conforme a tabela 01. A duração do tratamento com a dieta de cafeteria foi de 65 dias.

Tabela 01 Composição da dieta de cafeteria (g/1000g de dieta).

Ingredientes	Quantidade (g)	Kcal/100g
Patê de presunto	222	520
Batata frita palha	111	282
Bacon	111	625
Mortadela	111	270
Biscoito doce maisena	111	440
Achocolatado em pó sabor chocolate	111	385
Leite integral em pó	111	538
Ração commercial	111	360
Total		427

4.4.3 Desenho experimental

Ratos Wistar pós-desmame, machos, peso médio de 200g, após período de adaptação de doze dias recebendo ração comercial e água *ad libitum* foram submetidos à experimentação. Os animais foram distribuídos em gaiolas individuais de polietileno opaco e fechadas com tampa de aço inoxidável, ventilação apropriada e cama do tipo maravalha.

Trinta ratos, com 52 dias de vida, foram divididos em cinco grupos experimentais conforme descrito na tabela 02. Do dia 0 ao dia 45 um grupo de animais receberam ração comercial (RC) e os outros quatro grupos receberam dieta de cafeteria (CAF). A partir do dia 46 mantendo ração comercial (RC) e dieta de cafeteria (CAF) iniciou o tratamento com três doses (75, 150 e 300mg/kg) de uma formulação fitoterápica contendo gengibre (ZO) nos grupos ZO1, ZO2 e ZO3 respectivamente, sendo eutanasiados no dia 65, com jejum de 12 horas.

A formulação foi administrada uma vez ao dia, por gavagem em um mesmo horário. Os grupos RC e CAF receberam administração de água destilada pela mesma via, para eliminar a variável do estresse sofrido pelos animais no momento desta técnica.

Tabela 02 Distribuição dos grupos, dietas e tratamento.

Grupos de Animais	Dieta	Tratamento
RC	Ração Comercial (RC)	Sem tratamento
CAF	Cafeteria (CAF)	Sem tratamento
ZO1	Cafeteria (CAF)	75mg/kg de ZO
ZO2	Cafeteria (CAF)	150mg/kg de ZO
ZO3	Cafeteria (CAF)	300mg/kg de ZO

ZO: *Zingiber officinale*

4.4.4 Ambiente

Os experimentos *in vivo* foram conduzidos no laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, com controle de temperatura (22 °C ±2°C), ciclos 12/12h com luz/escuridão com ventilação diretamente no interior de cada gaiola (sistema de exaustão de ar).

Foi utilizado maravalha livre de substâncias químicas como cama para os animais. A troca foi realizada duas vezes por semana ou quando necessário. Os resíduos provenientes da raspagem das gaiolas e das salas de experimentação foram acondicionados em sacos brancos identificados com símbolo de risco biológico e destinados ao serviço de coleta apropriado seguindo normas de Biossegurança preestabelecidas (RDC 306 ANVISA). Gaiolas e bebedouros utilizados foram lavados com água e sabão.

Os ratos após a eutanásia foram acondicionados em sacos plásticos brancos e congelados em freezer até serem enviados para incineração.

4.4.5 Controle da massa corporal e do consumo alimentar

Os animais foram pesados diariamente para observar o crescimento ponderal e avaliar o consumo alimentar através da diferença entre a dieta ofertada e o restante não consumido.

4.4.6 Administração da formulação fitoterápica

A formulação fitoterápica foi manipulada utilizando-se os ingredientes descritos abaixo:

Tabela 3 Constituintes da formulação fitoterápica.

Constituintes da formulação	Proporção
Extrato etanólico liofilizado de gengibre.....	15%
Propilenoglicol.....	20%
Suspender.....	1,5%
Nipagim.....	0,1%
Nipazol.....	0,05%
Sacarina.....	0,03%
Água destilada purificada qsp.....	250mL

O fitoterápico foi administrado por gavagem, diariamente no mesmo horário através do cálculo de dose por massa corporal em quilos dos ratos.

4.4.7 Eutanásia e coleta de tecidos

No 65° dia de experimento, após doze horas de jejum com livre acesso à água, os animais sofreram eutanásia utilizando anestesia inalatória com isoflurano. Punção cardíaca fechada foi realizada para obter coleta sanguínea de aproximadamente 6 a 7 ml para realização das análises bioquímicas.

Foram coletadas amostras de sangue e do fígado de todos os animais. O sangue foi centrifugado a 3500rpm, por 10 minutos a 4°C, com a finalidade de obter-se o soro para as análises dos parâmetros bioquímicos. O fígado foi pesado em balança semi-analítica e um fragmento foi fixado em formaldeído tamponado a 10% V/V por 24 horas e assim preparado para análise histológica com desidratação em séries crescentes com álcoois de 70 a 100%, diafanizados em xilol e incluído em parafina histológica. Cortes de 5µm de espessura foram feitos e corados com hematoxilina e eosina (HE). Campos aleatórios em cada corte histológico foram fotografados para identificação do fragmento e para as análises morfométricas.

4.4.8 Análise bioquímica dos parâmetros sanguíneos

Para avaliar o efeito modulador da formulação fitoterápica contendo gengibre em ratos alimentados com dieta de cafeteria oferecida por 65 dias, foram verificadas as concentrações de diversos parâmetros bioquímicos no soro tais como: colesterol total (método enzimático-colorimétrico, peroxidase), colesterol HDL (método enzimático-colorimétrico, direto), triglicerídeos (método enzimático colorimétrico, peroxidase), glicose (método enzimático-colorimétrico, glicose oxidase), bilirrubina (método colorimétrico, Jaffé modificado), aspartato aminotransferase – AST (método cinético UV), alanina aminotransferase – ALT (método cinético UV). As metodologias foram direcionadas conforme recomendações do fabricante dos kits Bioclin®.

4.4.9 Histomorfometria do tecido hepático

Cortes histológicos de 05 µm de espessura, corados com hematoxilina e eosina (H&E) foram analisados quanto a área dos hepatócitos, área do núcleo, densidade volumétrica de sinusóides hepáticos e porcentagem de gotículas de lipídeos utilizando fotomicroscópio Olympus x-41 e software de análise de imagem Image Pro-Plus 4.5 (Media Cybernetics, Silver Spring, MD, EUA).

Dez campos histológicos de cada lâmina (lente objetiva 40x) foram fotografados aleatoriamente por animal. As médias de área dos hepatócitos e do núcleo foram calculadas de cada foto mediante escolha aleatória de 10 núcleos e 10 hepatócitos por foto (n=60). A porcentagem de deposição de gordura foi analisada considerando a soma das áreas de gordura de cada foto sobre a área total de cada imagem. Foram contabilizados todos os pontos possíveis de deposição lipídica para cálculo da área total de gordura, no entanto alguns pontos muito pequenos não foram contabilizados.

Um sistema de 315 pontos foi utilizado para o cálculo de densidade volumétrica dos sinusóides hepáticos utilizando a fórmula:

$$\mathbf{Vv = Pp[sinusóides hepáticos]X100/Pt}$$

Onde:

Vv = densidade volumétrica da estrutura pesquisada,

Pp = número de pontos situados ao longo da estrutura em questão

Pt = número são os pontos de teste totais (315),

Os valores após esse cálculo foram expressos em porcentagem.

4.4.10 Análise estatística dos dados

Os dados foram expressos em média \pm desvio padrão (média \pm DP). Inicialmente foram apresentados em acordo com estatística descritiva e representados com as médias por grupo com suas respectivas porcentagens de variação ($\Delta\%$) em relação ao grupo CAF.

A análise de normalidade foi realizada pelo teste D'Agostino-Pearson. Os dados que apresentavam normalidade foram analisados por meio de análise de variância simples (*one way ANOVA*), seguida pelo teste Tukey, comparando todos os grupos com o RC e CAF. Os dados que não apresentavam distribuição normal foram analisados pelo teste de Kruskal-Wallis, comparando todos os grupos com o RC e CAF.

5. RESULTADOS

5.1 Rendimento do extrato

Após secagem e trituração foram obtidos 400g de material vegetal seco, que ao ser submetido ao processo de extração por maceração com álcool etílico 96% PA a frio, com evaporação do solvente e liofilização, rendeu uma massa total de 41g perfazendo um total de 10,2 % de rendimento.

5.2 Cromatografia Gasosa e Análise de Espectrometria de Massa

Os rizomas do gengibre foram obtidos da Fazenda Experimental Engenheiro Agrônomo Reginaldo Conde (FERC) do estado do Espírito Santo-ES no mês de janeiro de 2014. Foi realizado o perfil cromatográfico do extrato etanólico da amostra por Cromatografia Gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG\MS), cuja biblioteca de dados sugeriu presença de alguns compostos. Os compostos que não foram encontrados pela biblioteca de dados do CG foram identificados através da análise de fragmentação dos mesmos, demonstrado no apêndice A..

O perfil cromatográfico qualitativo do extrato etanólico de gengibre proveniente do FERC, pode ser observado na figura 2-a o qual sugere presença de 14 compostos. O nome desses compostos estão apresentados na tabela 05 e na figura 03.

Dentre as substâncias encontradas no extrato de gengibre cultivado no FERC (tabela 05) há presença do zingibereno (pico 2) e de oito compostos ativos do gengibre da família do gingerol (pico 5 ao 13). O composto do pico 13 não foi identificado.

Tabela 04- Compostos identificados do extrato etanólico de gengibre

Picos	T _R (min)	Compostos
1	21,15	-4H-Pyran-4-one, 2,3-dihydro-3,5-dihydroxy-6-methyl
2	30,49	2-Butanone, 4-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) (Zingiberona)
3	34,73	n-Hexadecanoic acid(Palmitic acid)
4	36,95	9,12-Octadecadienal
5	38,25	Paradol
6	38,31	6-gingerdiol
7	39,03	6-shogoal
8	39,56	8-gingerol
9	40,18	3-Decanone, 5-hydroxy-1-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl) (6-Gingerol)
10	41,27	8-shogoal
11	41,72	10-gingerol
12	43,46	10-shogoal
13	43,90	*NI (Composto da família do gingerol)
14	53,75	β-Sitosterol(Angelicin)

*NI: Não identificado

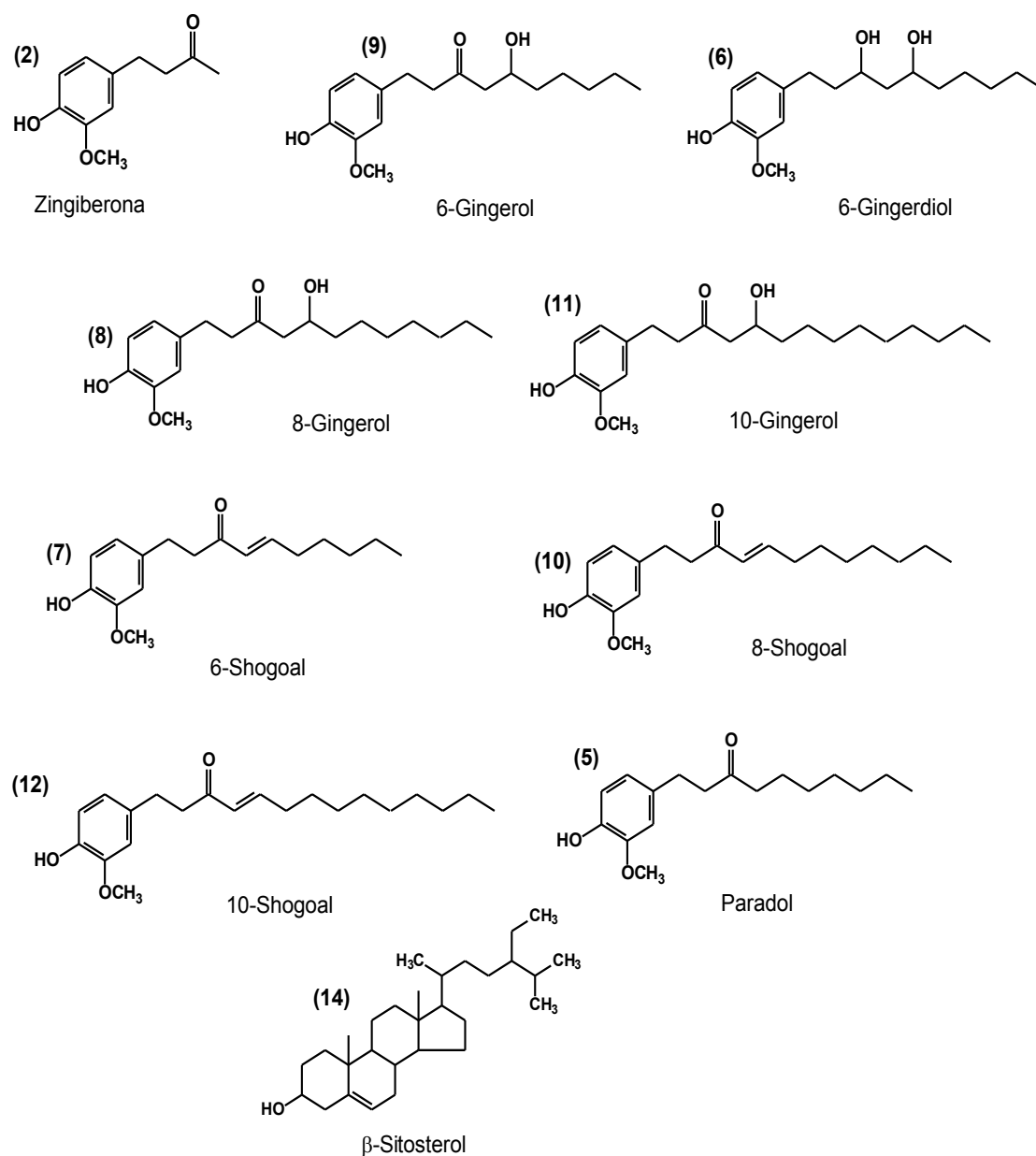


Figura 3 Compostos ativos encontrados no extrato etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

5.3 Análise química do solo

Na tabela 06 encontram-se os resultados da análise química do solo utilizado para cultivo do gengibre no FERC. A constituição química desse solo permitiu que compostos ativos do gengibre da família do gingerol e outros (figura 3), fossem indentificado na análise de cromatografia gasosa, podendo ser tomado como base para futuros cultivos da planta em estudo.

Tabela 05 Análise química do solo proveniente do FERC-ES, utilizado para o cultivo de gengibre (*Zingiber Officinale* Roscoe).

Testes (unidade)	Resultados
pH (água 1: 2,5)	5,98
P (mg/dm ³)- Extrator Mehlich-1	6,1
K ⁺ (mg/dm ³)- Extrator Mehlich-1	37
Ca ⁺ (Cmol _c /dm ³)- Extrator KCl-1mol/l	3,52
Mg ²⁺ (Cmol _c /dm ³)- Extrator KCl-1mol/l	1,37
Al ³⁺ (Cmol _c /dm ³)- Extrator KCl-1mol/l	0
Acidez potencial H+Al (Cmol _c /dm ³)	2,3
Soma Bases Trocáveis (Cmol _c /dm ³)	4,98
Capacidade de Troca Efetiva (Cmol _c /dm ⁻³)	4,98
Capacidade de Troca Catiônica) a pH 7 (Cmol _c /dm ³)	7,28
Saturação de Bases (%)	68,4
Índice de saturação de alumínio (%)	0
Matéria orgânica (dag kg ⁻¹)	2,05
Fósforo Remanescente (mg/L)	25,7
Fosfato monocálcico em ácido acético (mg/dm ³)	13,7
Extrator Agua quente (mg/dm ³)	0,18
Cu(mg/dm ³)- Extrator Mehlich-1	0,82
Mn (mg/dm ³)- Extrator Mehlich-1	13,3
Fe(mg/dm ³)- Extrator Mehlich-1	18,2
Zn(mg/dm ³)- Extrator Mehlich-1	2,26

Laudo da análise de solos, Departamento de Solos, UFV.

5.4 Avaliação da Atividade Antioxidante

A avaliação da atividade antioxidante diante do consumo de DPPH, apresentado pela amostra do extrato etanólico de gengibre, proveniente do FERC, está apresentado na tabela 07 e figura 04. Em cada concentração a análise foi realizada em triplicata. A tabela 07 mostram os valores de atividade antioxidante do extrato nas concentrações de 2,5 a 75 µg/mL. O valor da atividade antioxidante máxima foi de 76,86 % obtido na concentração de 75 µg/mL.

O gráfico da figura 04 mostra a regressão linear, obtida pela porcentagem de inibição do DPPH em função das concentrações do extrato de gengibre, a qual apresenta um coeficiente de determinação de $R^2 = 0,931$. O EC_{50} , que é a concentração do extrato suficiente para atingir 50% da atividade antioxidante máxima, foi de 38,95 µg/mL, o que significa que serão necessários 38,95 µg/mL de extrato de gengibre para a redução de 50% do DPPH.

Tabela 06 Atividade antioxidante do extrato etanólico de gengibre.

Concentração (µg/mL)	Atividade de inibição (%) do DPPH				
	A	B	C	Média	DP
75	76,01	78,30	76,28	76,86	1,25
60	68,73	72,37	70,08	70,40	1,84
45	60,92	64,15	63,34	62,80	1,68
30	48,11	52,29	52,29	50,90	2,41
15	28,71	34,37	32,61	31,90	2,90
5	11,19	12,67	11,05	11,64	0,90
2,5	6,06	7,14	5,80	6,33	0,71

DP: desvio padrão, A,B,C: amostras do extrato etanólico do gengibre.

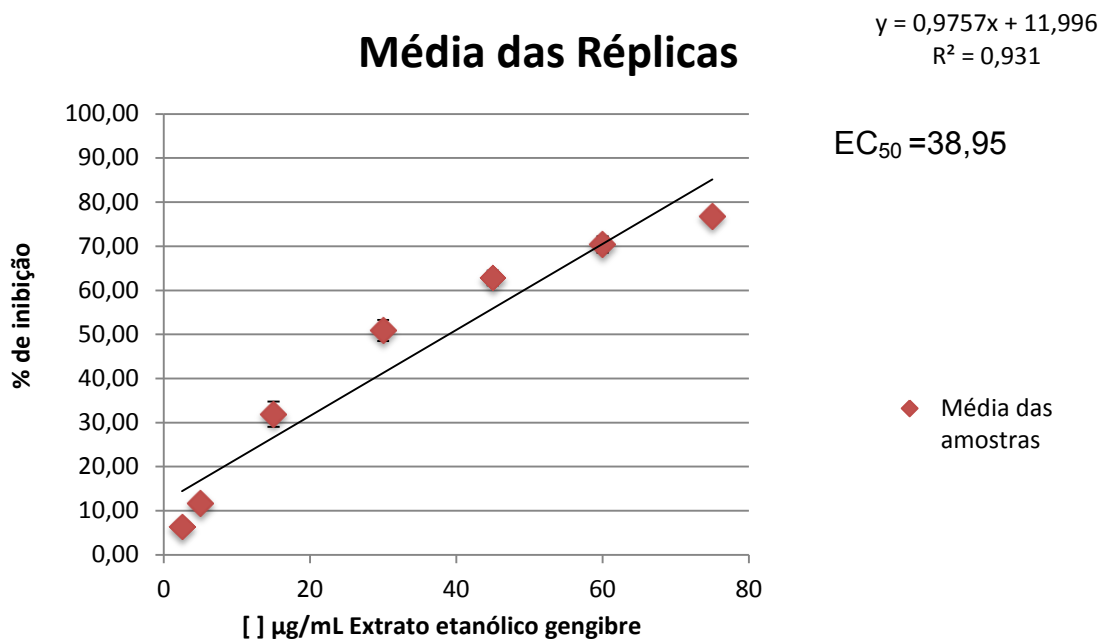


Figura 04 Atividade de inibição do DPPH pelo extrato etanólico de gengibre.

5.5 Consumo alimentar

O controle do consumo alimentar foi realizado diariamente, porém para as análises estatísticas utilizou-se o monitoramento a cada cinco dias. As figuras 05 e 06 apresentam o consumo dos grupos experimentais em dois momentos. A figura 05 nos primeiros 45 dias, em que um grupo de animais recebeu ração comercial (RC) e os outros quatro grupos receberam dieta de cafeteria (CAF), e a figura 06 apresenta o consumo alimentar no período do dia 45 ao dia 65, ocasião em que foram mantidos os padrões alimentares e iniciou o tratamento com fitoterápicos ZO por 20 dias em três grupos de animais (ZO1, ZO2 e ZO3).

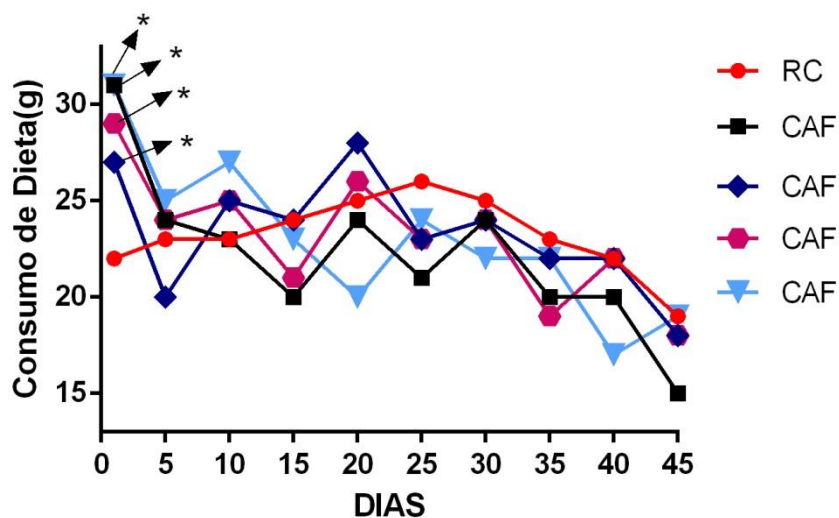


Figura 05 Consumo de dieta dos ratos alimentados com ração comercial (RC) e dieta de Cafeteria (CAF) durante 45 dias. * $p < 0,0001$ em relação ao grupo RC, & ($p < 0,01$) em relação ao grupo CAF, pelo teste Tukey.

No primeiro dia do experimento (Figura 05), os quatros grupos de animais que receberam dieta de CAF consumiram uma quantidade maior de dieta comparado aos animais que receberam ração comercial (RC) ($p < 0,0001$). Nos outros 44 dias do estudo não houve diferença quanto ao consumo dos animais que receberam ração comercial (RC) e dieta de cafeteria (CAF).

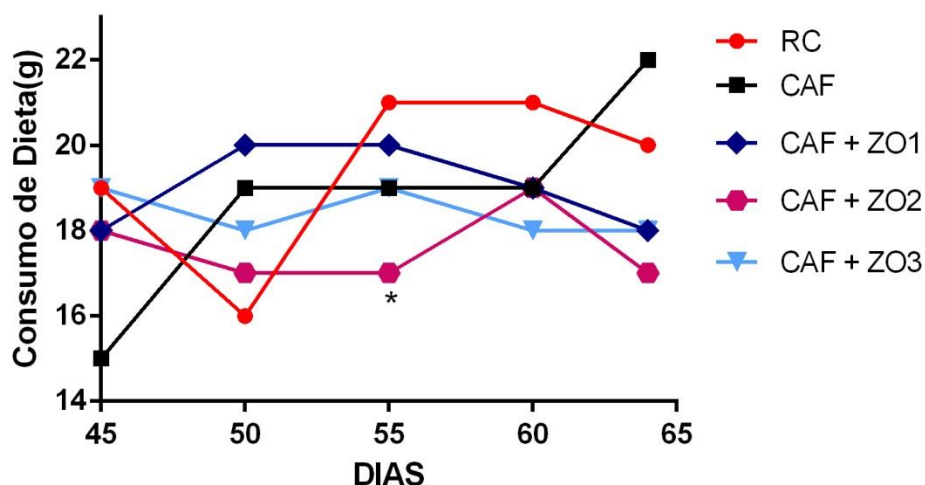


Figura 06 Consumo de dieta dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO), nas doses: ZO1(75mg/kg), ZO2(150mg/kg) e ZO3(300mg/kg), durante 20 dias. * $p < 0,01$ comparado ao RC.

No período 45-65 dias (Figura 06), iniciou em três grupos de animais alimentados com CAF o tratamento com fitoterápico contendo gengibre (ZO1, ZO2 e ZO3) nas doses 75, 150 e 300mg/kg respectivamente.

As médias de consumo a cada cinco dias mostram que os animais do grupo ZO2 (150mg/kg) apresentaram menor consumo de dieta comparado aos animais RC ($p < 0,01$) no 55° dia do experimento (Figura 06), nos outros dias não foram observadas diferenças entre o consumo dos animais.

5.6 Controle ponderal

O controle ponderal foi realizado diariamente, porém para as análises estatísticas utilizou-se o monitoramento a cada cinco dias. As figuras 07 e 08 apresentam valores de ganho de peso dos grupos experimentais em dois momentos. A figura 07 representa os primeiros 45 dias, em que um grupo de animais recebeu ração comercial (RC) e os outros quatro grupos receberam dieta do tipo cafeteria (CAF). A figura 08 apresenta ganho de peso no período do dia 45 ao dia 65, ocasião em que mantidos os padrões alimentares, iniciou-se o tratamento com fitoterápicos contendo extrato de gengibre (ZO) por 20 dias.

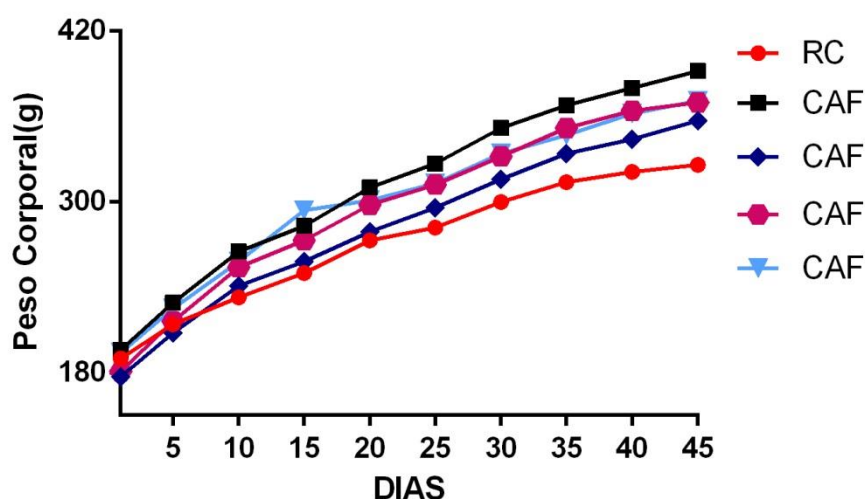


Figura 07 Evolução do ganho ponderal dos ratos alimentados com ração comercial (RC) e dieta de Cafeteria (CAF) durante 45 dias. Valores expressos como Médias \pm Desvio Padrão (n=6).

A análise estatística a cada cinco dias, mostra que o período inicial de 45 dias foi insuficiente para induzir diferenças estatísticas significativas entre as médias de peso dos animais alimentados com ração comercial (RC) e dieta CAF (Figura 07).

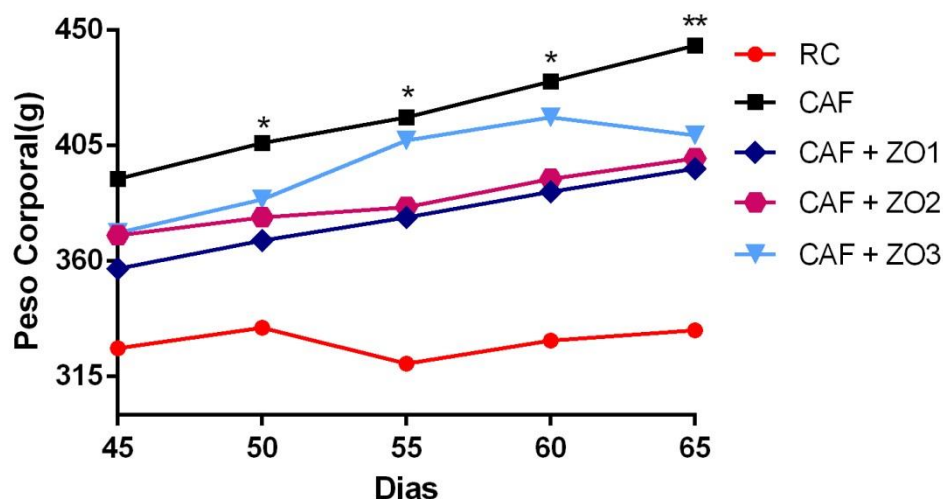


Figura 08 Evolução do ganho ponderal dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO), nas doses:: ZO1(75mg/kg), ZO2(150mg/kg) e ZO3(300mg/kg), durante 20 dias. * $p < 0,05$ e ** $p < 0,01$ em relação ao grupo RC pelo teste Tukey.

No período 46-65 dias (Figura 08) mantendo-se os padrões de dieta, iniciou-se o tratamento com o fitoterápico contendo extrato de gengibre (ZO) nos grupos ZO1, ZO2 e ZO3 nas doses 75, 150 e 300mg/kg, respectivamente. As análises estatísticas desses valores mostram que os animais do grupo que receberam apenas CAF, apresentaram aumento significativo de peso comparado aos animais do grupo RC no 50º ($p < 0,05$), 55º ($p < 0,05$), 60º ($p < 0,05$) e 65º ($p < 0,01$) dias como mostra a figura 08. Não foram observadas diferenças quanto ao ganho de massa corporal entre os outros grupos.

Os resultados mostram que o período mínimo do protocolo alimentar usado nesse estudo para interferir significativamente no peso dos animais é de 50 dias, diferença obtida pelos grupos de animais que receberam RC e dieta CAF (Figura 08). Os tratamentos empregados com fitoterápico contendo ZO nas três doses, não interferiram significativamente na massa corporal dos animais alimentados com dieta CAF.

Os resultados desse estudo quanto aos parâmetros ponderais e de consumo mostram que a dieta CAF induziu hiperfagia apenas no primeiro dia do experimento. No entanto, apesar da ausência de hiperfagia ao longo do período experimental o consumo da dieta CAF induziu aumento significativo de massa corporal a partir do 50° dia do experimento e os tratamentos com o fitoterápico ZO não interferiram no consumo alimentar e no ganho de peso dos animais.

5.7 Análises Bioquímicas

Os dados bioquímicos estão apresentados em acordo com estatística descritiva e representam as médias por grupo com suas respectivas porcentagens de variação ($\Delta\%$) em relação aos animais que receberam dieta CAF.

5.7.1 Glicose

As médias glicêmicas obtidas dos animais estão expostas na tabela 08. A dieta de cafeteria utilizada por 65 dias não elevou os níveis glicêmicos dos animais que receberam dieta CAF comparado aos animais que receberam RC. O tratamento por 20 dias com o fitoterápico contendo (ZO) nas três doses, não reduziram significativamente os níveis glicêmicos dos animais em estudo. A análise estatística mostra que os valores médios de glicose dos animais do grupo ZO2 são maiores estatisticamente comparados aos animais do grupo RC ($p < 0,05$).

Tabela 07 Concentrações séricas de glicose (mg/dl) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre(ZO).

	RC	CAF	CAF		
			ZO1	ZO2	ZO3
Glicose	152 ± 14	190 ± 53	195 ± 30	195 ± 32*	163 ± 13
$\Delta\%$	- 20%	0	3%	2 %	- 14%

Valores expressos como Médias \pm Desvio Padrão (n=6). * $p < 0,05$ em relação ao grupo RC, pelo Teste Kruskal-Wallis. RC: Ração Comercial, CAF: Dieta de Cafeteria, Fitoterápicos:

ZO1(75mg/kg), ZO2(150mg/kg) e ZO3(300mg/kg). Δ %: porcentagem de variação em relação CAF.

A análise descritiva dos dados mostra que comparado aos animais que receberam CAF, os animais que receberam RC apresentaram médias menores em 20% nos valores de glicemia. E ao analisar os animais que receberam CAF e foram tratados, observa-se que o grupo ZO3 apresentaram médias glicêmicas menores em 14% em relação ao grupo CAF, no entanto essa redução não representa diferença estatística.

Assim, o consumo da dieta de cafeteria utilizada por 65 dias não elevou e o tratamento não reduziu, estatisticamente os níveis glicêmicos dos animais.

5.7.2 Perfil Lipídico

Os níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e HDL não apresentaram diferença estatística entre os animais que receberam CAF e RC. O tratamento por 20 dias com o fitoterápico contendo ZO nos grupos ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg) não interferiram significativamente nos níveis de colesterol total e triglicerídeos e colesterol HDL (Tabela 9).

Tabela 08 Concentrações séricas de colesterol total (mg/dl), triglicerídeos (mg/dl) e colesterol HDL (mg/dl) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre(ZO).

	RC	CAF	CAF		
			ZO1	ZO2	ZO3
C. T.	72 ± 15	54 ± 6	63 ± 16	60 ± 11	55 ± 6
Δ %	34%	0	17%	11%	3%
TRIG	108 ± 36	94 ± 31	88 ± 26	95 ± 29	92 ± 32
Δ %	14%	0	- 6%	0	- 3%
HDL	24 ± 3	18 ± 2	20 ± 3	18 ± 3	18 ± 1
Δ %	29%	0	10%	- 1%	- 1%

Valores expressos como Médias \pm Desvio Padrão (n=6). C.T.: colesterol total. TRIG: triglicerídeos. HDL: colesterol HDL. RC: Ração Comercial, CAF: Dieta de Cafeteria, Fitoterápicos: ZO1(75mg/kg), ZO2(150mg/kg) e ZO3(300mg/kg). Δ %: porcentagem de variação em relação CAF.

Quanto às médias de variação, se observa que os níveis de colesterol e triglicérides dos animais que receberam RC, são maiores, sem diferença estatística, comparado aos animais que receberam CAF.

Conclui-se que o período alimentar de 65 dias do presente trabalho não foram suficientes para induzir dislipidemia e não foram evidenciados efeitos dos tratamentos com o fitoterápico ZO relacionados ao perfil lipídico estatisticamente.

5.7.3 Transaminases e Bilirrubina Total.

Os níveis médios das enzimas AST (Aspartato transaminase) e ALT (Alanina transaminase) estão expostos na tabela 10. Os níveis séricos de AST e bilirrubina não apresentaram diferença estatística entre os animais que receberam CAF e RC. No entanto, os níveis de ALT apresentaram redução estatisticamente significativa, entre os animais que receberam CAF e RC ($p < 0,05$). O tratamento por 20 dias com fitoterápico contendo (ZO) nos grupos ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg) não interferiram significativamente nos níveis de AST (Tabela 10).

Os grupos que receberam tratamento com fitoterápico na maior dose ZO3 ($p < 0,05$) apresentaram redução estatística dos níveis de ALT comparado aos animais que receberam RC. Os valores médios de bilirrubina total dos animais do grupo ZO1 foram maiores estatisticamente quando comparados aos animais do grupo RC ($p < 0,05$).

Tabela 09 Concentrações séricas das transaminases AST (mg/dl), ALT (mg/dl) e bilirrubina total(mg/dl) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre(ZO).

	RC	CAF	CAF		
			ZO1	ZO2	ZO3
AST	95 ± 15	87 ± 13	76 ± 20	77 ± 14	70 ± 7
Δ %	9%	0	-12	-11	-20
ALT	58 ± 8	40 ± 6*	45 ± 17	40 ± 8	37 ± 10*

Δ %	44%	0	13%	0	9%
B.T.	0,08 ± 0,01	0,09 ± 0,05	0,17 ± 0,08*	0,11 ± 0,02	0,12 ± 0,03
Δ %	-11%	0	88%	22%	33%

Valores expressos como Médias ± Desvio Padrão (n=6). *p<0,05 em relação ao RC pelo Teste Kruskal-Wallis. AST: Aspartato transaminase, ALT: Alanina transaminase, B.T.: Bilirrubina total. RC: Ração Comercial, CAF: Dieta de Cafeteria, Fitoterápicos: ZO1(75mg/kg), ZO2(150mg/kg) e ZO3(300mg/kg). Δ %: porcentagem de variação em relação CAF.

A análise das médias mostra que os níveis de AST foram reduzidos em 20% nos animais que receberam dieta CAF e a maior dose do fitoterápico ZO3 (300mg/kg). Os níveis de ALT aumentaram em 44% nos animais que consumiram RC comparados aos animais que receberam apenas CAF.

Os parâmetros bioquímicos descritos acima são importantes indicadores de lesões celulares, principalmente as hepáticas. Verifica-se que fitoterápico ZO não elevou os valores sanguíneos de AST e ALT, no entanto, os animais do grupo ZO1 que receberam tratamento com o fitoterápico ZO na menor dose apresentaram os níveis de bilirrubina total elevados.

5.8 Análise do Fígado

A tabela 11 apresenta os valores médios do peso do fígado dos animais no experimento. O peso do fígado não apresentou diferença estatística entre os animais que receberam CAF e RC, e o tratamento por 20 dias com fitoterápico contendo (ZO) nos grupos ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg), não interferiram estatisticamente nesse parâmetro.

Tabela 10 Peso do fígado (g) dos animais que consumiram ração comercial, dieta de cafeteria e foram tratados com fitoterápico contendo gengibre(ZO).

	RC	CAF	CAF		
			ZO 1	ZO 2	ZO 3
Fígado	12 ± 2	14 ± 1	12 ± 1	13 ± 2	13 ± 1
Δ %	- 14%	0	- 12%	- 9%	- 6%

Valores expressos como Médias ± Desvio Padrão (n=6). RC: Ração Comercial, CAF: Dieta de Cafeteria, ZO: Fitoterápico contendo Gengibre nas doses: ZO1(75mg/kg), ZO2(150mg/kg) e ZO3(300mg/kg). Δ %: porcentagem de variação em relação CAF.

5.9 Análises Histológicas

A análise qualitativa das imagens histológicas demonstra estrutura normal dos hepatócitos dos animais do grupo recebeu RC e hepatócitos “balonizados” com grande deposição de gorduras nos animais que receberam dieta CAF. Os grupos que receberam tratamento com fitoterápicos contendo gengibre apresentaram redução na quantidade de gorduras conforme se pode observar na figura 09.

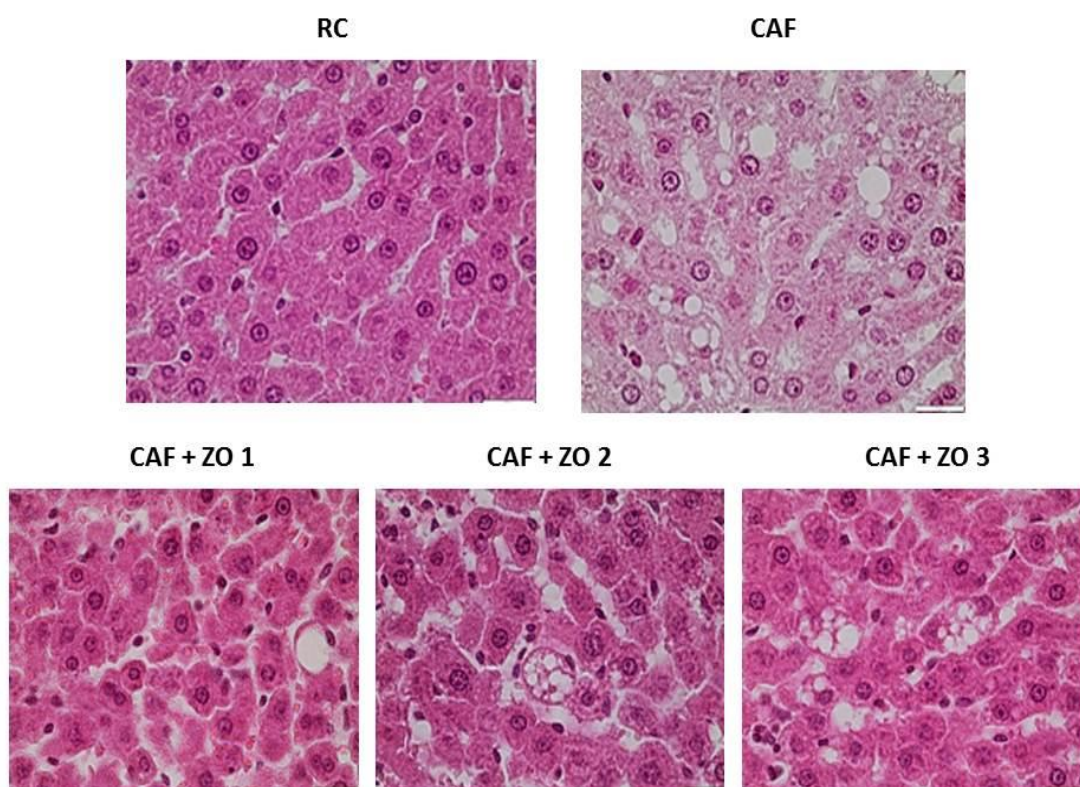


Figura 09 Análise histopatológica do fígado dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO): ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg). Coloração: H&E. Aumento: 400X.

Na análise histomorfométrica do tecido hepático, foi quantificada a média de área do núcleo (Figura 10), dos hepatócitos (Figura 11) e a densidade de volume (%) dos sinusóides hepáticos (Figura 12), assim como a área total de gotículas de lipídeos depositadas (Figura 13).

Em relação à área do núcleo (Figura 10), os animais dos grupos CAF ($p < 0,0001$), e ZO1 (75mg/kg) ($p < 0,001$) apresentaram maiores áreas de núcleo, estatisticamente significativas, comparado aos animais do grupo RC. Os animais do grupo ZO2 (150mg/kg) ($p < 0,01$) e ZO3 (300mg/kg) ($p < 0,0001$), mostraram menores médias de área dos núcleos, estatisticamente significativas, comparados aos animais dos grupos CAF.

A dieta de CAF utilizada nesse estudo elevou histologicamente o tamanho do núcleo e o tratamento com ZO por 20 dias contribuiu para redução dos mesmos.

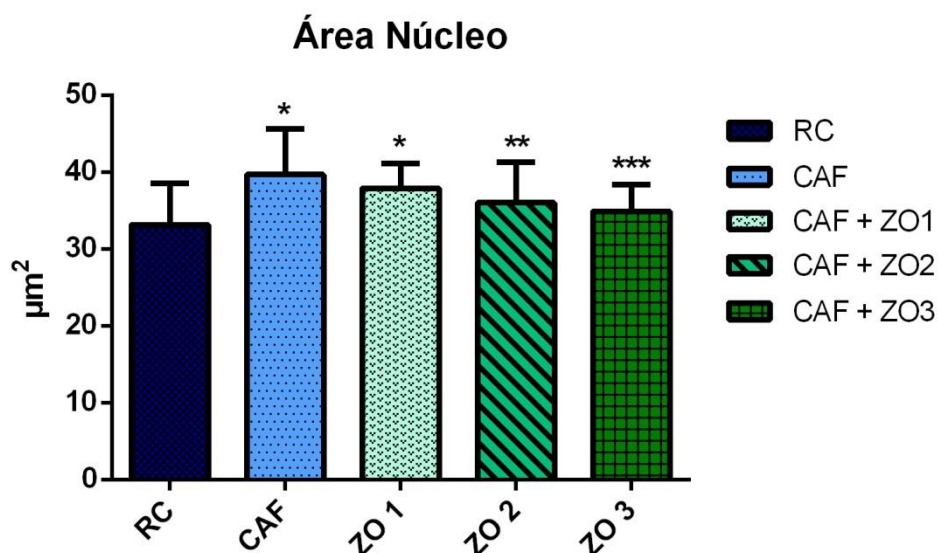


Figura 10 Áreas dos núcleos hepáticos dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO): ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg). Valores em μm^2 , expressos como Médias \pm Desvio Padrão. * $p < 0,0001$ comparado ao grupo RC, ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ comparado ao grupo CAF, pelo teste Kruskal-Wallis.

Ao analisar a área dos hepatócitos (Figura 11), observa-se que os animais do grupo CAF ($p < 0,0001$), ZO1 (75mg/kg) ($p < 0,001$) e ZO2 (150mg/kg) ($p < 0,01$), apresentaram maiores áreas de hepatócitos estatisticamente significativas, comparado aos animais dos grupos RC. Os hepatócitos dos animais do grupo ZO2 (150mg/kg) ($p < 0,001$) e ZO3 (300mg/kg) ($p < 0,0001$) mostraram médias de áreas menores estatisticamente significativas, comparados aos animais dos grupos CAF.

A dieta de CAF usada nesse estudo foi eficaz em aumentar histologicamente a área média dos hepatócitos, e os tratamentos com fitoterápico ZO nas doses 75mg/kg e 150mg/kg, conseguiram reduzir o tamanho dos hepatócitos em 20 dias de tratamento.

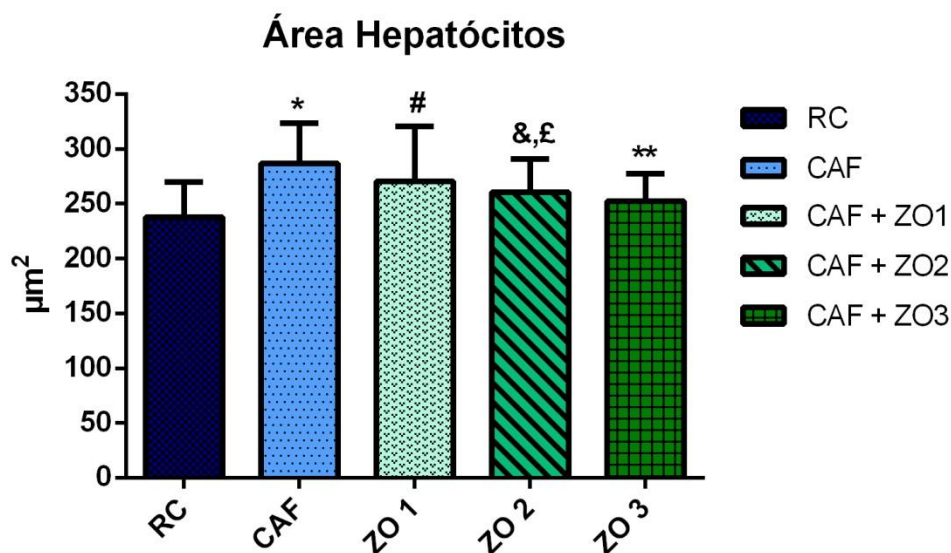


Figura 11 Áreas dos hepatócitos dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO): ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg). * $p < 0,001$, # $p < 0,01$ e & $p < 0,001$ comparado ao grupo RC, £ $p < 0,01$, ** $p < 0,001$ comparado ao grupo CAF, pelo teste Kruskal-Wallis.

Com relação à densidade volumétrica dos sinusóides, expresso em porcentagem, percebe-se que os animais dos grupos CAF ($p < 0,0001$), ZO1-75mg/kg ($p < 0,0001$), ZO2-150mg/kg ($p < 0,0001$) e ZO3-300mg/kg ($p < 0,0001$) mostraram maiores porcentagens de sinusóides hepáticos estatisticamente significativos, comparadas os animais do grupo (RC) (Figura 12). Já os animais do ZO2-150mg/kg ($p < 0,0001$), expressaram maior porcentagem de sinusóides hepáticos estatisticamente significativos, se comprados ao do grupo CAF.

Conclui-se que a dieta CAF, utilizada nesse estudo, induziu histologicamente uma maior formação de sinusóides hepáticos, comparado aos animais que receberam RC. Os animais que receberam o fitoterápico ZO na dose de 150mg/kg apresentaram maiores porcentagem de sinusóides

hepáticos comparados aos animais que consumiram CAF em 20 dias de tratamento.

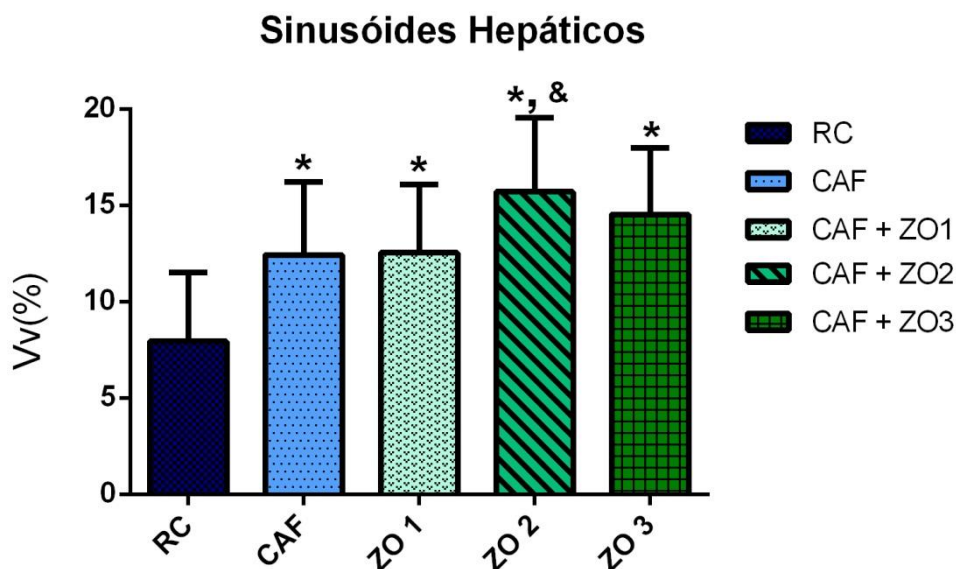


Figura 12 Densidade de volume (Vv) dos sinusóides hepáticos dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO): ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg). * $p < 0,001$ em relação ao grupo RC, & $p < 0,01$ em relação ao grupo CAF pelo teste Kruskal-Wallis.

Em relação à deposição de lipídeos nos hepatócitos (Figura 13), pode-se observar pela análise histológica que os animais dos grupos CAF ($p < 0,0001$), ZO1 (75mg/kg) ($p < 0,01$), ZO2 (150mg/kg) ($p < 0,001$) e ZO3 (300mg/kg) ($p < 0,001$), exibiram maiores áreas total de deposição lipídica estatisticamente, comparados aos animais do grupo RC. Já os animais dos grupos ZO1 (75mg/kg) ($p < 0,0001$); ZO2 (150mg/kg) ($p < 0,0001$) e ZO3 (300mg/kg) ($p < 0,0001$) expuseram menores áreas de gorduras estatisticamente, comprados aos animais dos grupos CAF.

A dieta CAF por 65 dias foi eficaz em induzir deposição de lipídeos nas células hepáticas. As três doses do fitoterápico reduziram de forma significativa a deposição lipídica induzida pela dieta de CAF em 20 dias de tratamento.

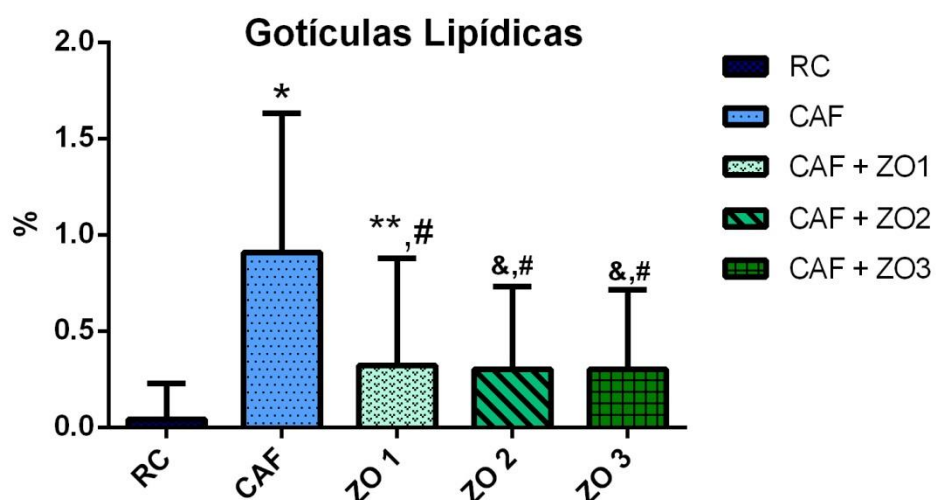


Figura 13 Deposição de gotículas lipídicas hepáticas dos ratos alimentados com ração comercial (RC), dieta de Cafeteria (CAF) e tratados com fitoterápico contendo gengibre (ZO): ZO1 (75mg/kg), ZO2 (150mg/kg) e ZO3 (300mg/kg). * $p < 0,0001$, ** $p < 0,01$ e & $p < 0,001$ em relação ao RC, # $p < 0,0001$ em relação ao CAF pelo teste Kruskal-Wallis.

Conclui-se que o tratamento com fitoterápico ZO por 20 dias, foi eficiente em modificar as alterações histológicas causadas pela dieta CAF durante o período de 65 dias.

6. DISCUSSÃO

6.1. Avaliação qualitativa do extrato

O processo de extração utilizado nesse trabalho, por maceração com utilização de etanol, após secagem dos rizomas em estufa ventilada a 40°C garantiu presença de compostos ativos do gengibre como 6-gingerol e zingibereno.

Em relação ao preparo do material vegetal, Jayashree, Visvanathan & John (2014) demonstraram em seu estudo que a qualidade do gengibre pode ser determinada por diferentes tipos de cortes e secagem, e que há redução tanto nos conteúdos voláteis (zingiberene, limoneno, linalol, geraniol e nerolidol) como não voláteis (gingerol e shogoal) com a diminuição das frações do gengibre durante processo de secagem. Segundo Jayashree, Visvanathan & John (2014) a secagem ao sol e por secador “tipo túnel” manteve máximo o teor de óleo essencial e de oleoresina e para secagem mecânica a temperatura 60°C foi considerada ótima.

Assim, a secagem em estufa com temperatura constante de 40°C e a extração com etanol nesse estudo pode ter sido fundamental para preservar as substâncias bioativas da amostra como gingerol e zingibereno. Uma vez que temperatura de secagem elevada contribui para perdas de importantes constituintes voláteis como é o caso dos óleos essenciais (CUNHA, SILVA e ROQUE 2003).

O processo de extração com diclorometano no estudo de Jolad et al., (2005) seguido de fracionamento em 10 partes do extrato contendo gengibre permitiu identificar 115 compostos diferentes por CG, dentre estes compostos sete foram da família dos gíngerois e dois isogíngerois. No entanto a extração com n-hexano no estudo do Sylvanus et al., (2015) permitiu identificar dezenove compostos a partir do óleo de gengibre dentre eles o zingerone, mas não foi encontrado gingerol.

A localização geográfica do cultivo pode determinar diferença na composição de compostos fenólicos de espécies vegetais, uma vez que estes sofrem variação em relação ao ambiente que está sendo cultivado. A padronização do solo pode permitir maior qualidade quanto à composição dos

metabólitos secundários que são importantes como os constituintes dos fitoterápicos (CUNHA, SILVA e ROQUE, 2003; LEITE, 2009). A análise de solos desse trabalho pode ser usada como referência para novas culturas, uma vez que o extrato do gengibre proveniente desse solo apresentou substâncias ativas importante do gengibre como gingerol e zingibereno.

Corroborando com esse estudo, Pawar et al., (2011) mostraram diferenças quanto a presença de compostos fenólicos em rizomas de gengibre cultivados em 12 lugares diferentes, os rizomas cultivados no Rajastão (Índia) e no Rio de Janeiro (RJ) apresentaram maior teor de 6-gingerol com forte atividade antioxidante e a maior quantidade de 6-gingerol foi encontrada no RJ.

O presente estudo utilizou extrato etanólico de rizomas de gengibre para constituir o fitoterápico a ser estudado, uma vez que este se refere a uma mistura complexa de metabólitos secundários e sua atividade farmacológica pode estar baseada na presença de um composto apenas ou ao sinergismo de ação entre diferentes substâncias presentes na planta (LEITE 2009).

Além disso, a planta medicinal além do(s) constituintes ativos possuem outros compostos que podem proteger os constituintes ativos de alterações como oxidações, hidrólises ou contribuindo até para uma melhor absorção pelo organismo. O que pode justificar um efeito maior do extrato comparado a alguma substância ativa isolada, o que chama atenção pelos medicamentos à base de extratos de plantas (CUNHA, SILVA e ROQUE 2003).

Apesar disso, estudos mostram resultados importantes com uso de substâncias presentes nos rizomas do gengibre de forma isolada (TZENG & LIU 2013; NAIDU et al., 2016, VAIBHAV et al., 2013; BASKAR et al., 2012) que foram sugestivamente encontradas no extrato utilizado neste experimento.

Tzeng & Liu (2013) apontam que 6-gingerol suprime a adipogênese e tem potencial para prevenir a obesidade. Naidu et al., (2016) demonstraram que 6-gingerol é capaz de impedir a hiperlipidemia em ratos que consumiram dieta com alto teor de gordura através da modulação de enzimas do metabolismo do colesterol. Em relação ao zingibereno há evidências em experimentos que esse possui propriedades farmacológicas variadas, incluindo ação antioxidante (VAIBHAV et al., 2013), anti-inflamatória (KUMAR, CHHIBBER, & HARJAI 2014), e ação lipolítica (HAN et al., 2008). Há registro em estudos da atividade

do composto Beta-Sitosterol como antioxidante (BASKAR et al., 2012), anti-inflamatório (KIM et al., 2014), hipoglicemiante (BALAMURUGAN, DURAI PANDIYAN & IGNACIMUTHU 2015) e outras tem sido reportados.

6.2 Atividade antioxidante do fitoterápico ZO

A avaliação da atividade antioxidante do extrato etanólico de gengibre usado na formulação do fitoterápico, mostrou uma excelente atividade antioxidante diante do consumo do DPPH, com EC_{50} de 38,95 $\mu\text{g/mL}$ e uma atividade antioxidante máxima de 76,8%.

Jorge e Andreo (2010) ao analisar o consumo de DPPH pelo extrato etanólico de gengibre encontrou valores de atividade antioxidante máxima de 79,1% e EC_{50} de 42,6 $\mu\text{g/mL}$. Para o extrato metanólico de gengibre outro estudo deparou-se com EC_{50} de 46,5 $\mu\text{g/mL}$ e na concentração de 50 $\mu\text{g/mL}$ foi identificado 51,4% de inibição de DPPH (MOJANI et al., 2014). Estes resultados estão próximo ao encontrado nesse estudo, o que confirmam a potencialidade do extrato de gengibre utilizado no presente experimento quanto sua capacidade antioxidante.

Estudos de Peng et al., (2012) e Dugasani et al., (2010) evidenciaram que 6-gingerol apresenta potente atividade antioxidante, o que pode ser relevante considerando as doenças associadas com as espécies reativas de oxigênio. Somado a isso, há evidências de que uma ingestão de antioxidantes é benéfica para saúde, uma vez que eles previnem lesões produzidas por radicais livres (BOGLIOLO, 2013).

Assim uma possível ação do fitoterápico utilizado nesse estudo pode estar relacionada à sua capacidade antioxidante, comprovada pelo consumo do DPPH. Associado a isso, a análise realizada pela cromatografia gasosa sugere presença de compostos fenólicos importantes do gengibre, como gingerol e zingiberone, que apresentam atividade antioxidante como demonstrado pelos estudos de Peng et al., (2012) e Dugasani et al., (2010) e Tzeng et al., (2015).

O Gingerol (6-gingerol) é o fenol mais importante dos constituintes do óleo de gengibre. Shogaol é o seu homólogo desidratado e juntamente com o fragmento da molécula zingiberone são produzidos quando gengibre fresco é aquecido ou cozido (DEWICK, 2009). Estes compostos foram sugestivamente

encontrados no extrato utilizado para manipular o fitoterápico em estudo e podem ser os responsáveis pela ação farmacológica do mesmo.

6.3 Consumo e Ganho ponderal

No presente estudo não foi encontrada diferença estatística entre consumo dos animais que receberam dieta CAF e RC com exceção do primeiro dia uma vez que a novidade alimentar pode ter colaborado pela diferença estatística significativa de consumo encontrada.

Outros estudos mostram que não há evidência de alteração do consumo em animais que receberam dieta CAF tipo *pellet* por 56 dias (ANDRADE et al., 2013) e por 15 semanas (LEPORE et al., 2015). No entanto, apesar da ausência de hiperfagia, outras pesquisas mostram que a ingestão alimentar sem aumento do consumo pode ser eficiente em elevar significativamente o peso dos animais (LEPORE et al., 2015; SOUZA et al., 2013), corroborando com o presente estudo.

A hiperfagia é verificada em outros estudos quando a dieta de cafeteria é oferecida na forma de porções alimentares com diferentes tipos de alimentos por dia (SHAFAT, MURRAY & RUMSEY 2009). A oferta de alimentos em porções garante novidade e variedade alimentar o que provavelmente contribui para aumento do consumo desses alimentos (WARNEKE et al., 2014; SOUZA et al. 2013).

Diferença estatística de massa corporal entre os animais que consumiram ração comercial (RC) e dieta CAF nesse estudo foi identificada a partir do 50º dia do experimento.

Lalanza et al., (2014) e Lepore et al., (2015) avaliaram semanalmente o ganho de massa corporal em ratos alimentados por CAF. Lalanza et al., (2014) identificaram um aumento de massa corporal nos ratos com 22 dias de idade em 05 semanas de consumo de CAF em porções alimentares. Já no estudo de Lepore et al (2015), ratos de 6 semanas de vida, só conseguiram aumento significativo de peso, após consumo de CAF tipo *pellet* por 15 semanas.

Dieta CAF oferecida em porções alimentares a ratos pós-desmame exibiram aumento significativo de peso com 24 semanas de tratamento (SOUZA et al., 2013) e com 30 semanas (MENDES et al., 2013), já ratos com

85 dias de vida apresentaram aumento significativo de peso com 8,5 semanas (MARQUES et al., 2015). No entanto, Souza et al (2013), Mendes et al (2013) e Marques et al (2015) não mostraram os dados sobre a evolução semanal do peso apresentados pelos ratos, o que impossibilita verificar quando se iniciou a diferença estatística. Em contraste com o exposto acima, Andrade et al, (2013), não encontraram aumento significativo de peso após ofertar CAF do tipo pellet por 56 dias em animais com 10 semanas de idade.

Warneke et al., (2014) reforçam que os efeitos ponderais da CAF são mais pronunciados em ratos mais velhos, uma vez que em seu estudo, ratos com 12 meses apresentaram aumento significativo de peso, o que não foi observado quando ratos com 06 semanas receberam o mesmo protocolo alimentar.

No entanto, Reynés et al., (2014) verificaram que dieta CAF administrada desde o início da vida (10 dias), produz aumento importante e persistente no peso corporal e alterações metabólicas permanentes que não são completamente revertidas quando a dieta CAF é substituída pela ração padrão. Outro estudo demonstrou que um curto período de exposição à dieta CAF em filhotes produz alterações metabólicas em tecidos chaves envolvidos na homeostase energética, particularmente no tecido adiposo branco, sem efeitos aparentes sobre massa corporal em ratos (CASTRO et al., 2015). Justificando assim, o estudo de ganho ponderal em animais jovens, como no atual experimento.

Pode-se concluir que a dieta CAF utilizada nesse estudo, composta de alimentos que estão presentes na dieta humana, demonstra ser um bom modelo experimental para estudo de ganho ponderal em ratos com 52 dias de vida, com aumento significativo de peso a partir de 50 dias de consumo.

Em relação ao tratamento com ZO nas três doses (ZO1, ZO2 e ZO3), verifica-se que esses não foram eficazes em alterar a massa corporal e o consumo dos animais durante o período experimental.

Li et al., (2014) observaram uma ligeira redução do peso sem diferença estatística e ausência de alteração de consumo, quando extrato de gengibre (200mg/kg) foi administrado por 10 semanas a ratos alimentados com uma dieta rica em carboidratos, o que apoia os resultados do atual estudo.

No entanto, outras pesquisas reforçam efeitos antiobesidade do tratamento com gengibre. Malik & Sharmaa, (2011) ao tratar ratos com 250, 500, e 1000 mg/Kg de gengibre em pó, por 08 semanas encontrou redução significativa da massa corporal. Nammi, Sreemantula e Roufogalis (2009) obtiveram redução na massa corporal com tratamento nas doses de 100, 200 e 400mg/kg de extrato etanólico de gengibre por 06 semanas em ratos alimentados com dieta de alto teor calórico (60% gorduras). Misawa et al., (2015), ao suplementarem com 0,3% de gengibre uma dieta composta 30% de gorduras (5% de gordura animal e 25% óleo de milho) encontrou redução da massa corporal comparado à mesma dieta sem gengibre após 18 semanas, no entanto não foi verificado diferença quanto ao consumo alimentar entre os ratos.

Pode-se concluir que o tratamento com gengibre não alterou o consumo dos animais e que o período experimental pode ter sido insuficiente para impactar na redução do peso dos animais em estudo.

6.4 Alterações bioquímicas

Em relação aos níveis bioquímicos, não foi observado aumento estatisticamente significativo após o consumo da dieta CAF pelos ratos em estudo.

Há grande variedade de respostas bioquímicas quanto aos níveis de glicose, colesterol total, HDL e triglicerídeos entre os experimentos, o que pode estar relacionado ao período alimentar e à composição de gorduras e carboidratos da dieta somada à idade dos ratos utilizados nos estudos (ANDRADE et al.,2013; WARNEKE et al., 2014; MARQUES et al., 2015; LEPORE et al., 2015), o que dificulta a comparação entre os mesmos.

Quanto aos níveis glicêmicos, Souza et al., (2013) demonstraram que a dieta CAF em porções alimentares por 06 meses em ratos *Wistar* com 21 dias não foram suficientes em elevar os níveis de glicose plasmática. Marques et al., 2015 também não encontraram aumento nos níveis de glicose ao oferecer CAF em porções de alimentos, por 60 dias em ratos *Wistar* com 85 dias de idade, apoiando resultados desse estudo. No entanto, Jindal et al., (2011) mostraram que dieta CAF tipo *pellet* aumentou os níveis de glicose no período

de 40 dias em ratos *Wistar* com 05 semanas. Lepore et al., (2015) tiveram o mesmo resultado ao ofertaram dieta CAF tipo *pellet* em 15 semanas em camundongos com 06 semanas de idade. Os níveis glicêmicos aumentaram em outros estudos quando a dieta CAF foi oferecida a ratos com 22 dias em porções por 08 semanas (LALANZA et al., 2014) e 30 semanas (MENDES et al., 2013).

Em relação ao perfil lipídico, Andrade et al., (2013) não encontraram alteração quanto aos níveis de colesterol total em ratos com 10 semanas de idade alimentados por 56 dias com CAF tipo *pellet*, composta por 12,9% proteínas, 58% de gorduras e 28% carboidratos. Macqueen et al., (2007), após alimentar ratos pós-desmame com dieta de CAF rica em açúcar, por 14 semanas, também não evidenciaram alteração quanto aos níveis de colesterol total. Contudo, Lepore et al., (2015) encontraram aumento dos níveis de colesterol total quando a dieta CAF *pellet* foi administrada por 15 semanas em ratos com 42 dias, composta por 40% gorduras e 73% de carboidratos.

Marques et al., (2015) após oferecer dieta CAF, composta por 13% proteínas, 18% de gorduras e 68% carboidratos, por 60 dias para ratos *Wistar*, encontraram uma redução dos níveis de colesterol total e HDL, e concluíram que o metabolismo poderia estar com atividade alterada e que é necessário um tempo maior de administração da dieta CAF para observar mudanças nesses parâmetros.

Outros resultados experimentais apoiam os resultados do presente estudo. Os níveis de triglicerídeos, não foram alterados, ao ofertar dieta CAF a ratos com 10 semanas de vida recebendo dieta CAF *pellet* por 56 dias composta por 12,9% proteínas, 58% de gorduras e 28% carboidratos (ANDRADE et al., 2013), ratos com 85 dias e dieta CAF em porções alimentares por 60 dias, composta por 13% proteínas, 18% de gorduras e 68% carboidratos (MARQUES et al., 2015), ratos (machos e fêmeas) com seis semanas de idade, recebendo dieta CAF em porções alimentares por 6 semanas, composta por 37% de carboidratos, 21% de gorduras e 9% de proteínas (WARNEKE et al., 2014) e ratos no pós-desmame alimentados por dieta CAF do tipo *pellet*, rica em açúcar e gorduras por 14 semanas (MACQUEEN et al., 2007) e dieta CAF em porções alimentares por 6 meses

composta por 60% de carboidrato, 25% de gorduras e 15% de proteína (SOUZA et al., 2013).

O aumento dos níveis de triglicerídeos foi encontrado em outros estudos quando ratos com 05 semanas de idade receberam CAF *pellet* por 40 dias (JINDAL et al., 2011) e ratos (macho e fêmeas) com 12 meses ingeriram CAF em porções alimentares, composta por 37% de carboidratos, 21% de gorduras e 9% de proteínas, por 06 semanas (WARNEKE et al., 2014).

Os níveis do colesterol HDL não foram modificados nos animais que receberam RC e dieta CAF por 65 dias no presente estudo. Andrade et al., (2013) também não verificaram alteração dos valores de colesterol HDL quando ratos com 10 semanas de vida foram alimentados com dieta CAF *pellet* por 56 dias. Os níveis do colesterol HDL não foram modificados após Marques et al., (2015) oferecerem dieta CAF, em porções alimentares, por 60 dias em ratos com 85 dias de vida. No entanto, redução desse parâmetro foi confirmada em outros estudos quando ratos com 05 semanas de vida receberam CAF *pellet* por 40 dias (JINDAL et al., 2011), e ratos pós-desmame por 14 semanas (MACQUEEN et al., 2007).

O tratamento com ZO por 20 dias, não levou a redução estatística dos níveis glicêmicos, colesterol total e triglicerídeos, assim como não elevou os níveis colesterol HDL. Diversos estudos associam gengibre aos protocolos dietéticos desde o início dos tratamentos (Li et al., 2014, MISAWA et al., 2015, MATSUDA et al., 2009) em um período bem superior a esse trabalho, o que pode ter prejudicado constatar a eficiência estatística do tratamento com o fitoterápico ZO. Importante considerar que os animais que receberam o fitoterápico apresentaram redução importante como de 14% dos níveis glicêmicos e aumento de 10% nos níveis de HDL em apenas 20 dias de tratamento.

Misawa et al., (2015), não encontraram alterações dos valores de glicose, mas verificaram redução nos níveis de colesterol total e de insulina ao suplementarem com 0,3% de gengibre uma dieta composta 30% de gorduras (5% de gordura animal e 25% óleo de milho) por 18 semanas. Contudo, Li et al., (2014) apontam redução da glicemia com administração de 200mg/kg de extrato de gengibre em ratos que receberam dieta rica em carboidratos (59%)

por 10 semanas. Nammi, Sreemantula & Roufogalis, (2009) ao associar dieta de alto teor calórico (60% gorduras), com extrato etanólico gengibre nas doses de 100, 200 e 400mg/kg, encontrou redução dos níveis de glicose, colesterol total e LDL após 06 semanas de tratamento, já os níveis do colesterol HDL não foram alterados.

Kulkarni & Kaur (2000), não evidenciaram alteração nos níveis de triglicerídeos e colesterol total após tratar ratos *Wistar* juntamente com dieta CAF com um fitoterápico contendo cinco espécies vegetais, dentre elas gengibre (5%), por 40 dias.

Em relação ao colesterol HDL, Bhandari, Kanojia & Pillai (2005) apontam potencialidade com tratamento com gengibre (200mg/kg) em elevar os níveis de HDL em ratos diabéticos por 20 dias. Paul et al., (2012) evidenciaram aumento dos níveis plasmáticos de HDL com a administração de gengibre *in natura* 300 mg/100 ml/ kg, por 49 dias em ratos que receberam dieta acrescida de gordura vegetal.

6.5 Aterações hepáticas

O peso do fígado dos animais desse estudo, não foi alterado entre os animais que consumiram dieta CAF e RC após os 65 dias de estudo. Romero et al., (2014), não encontraram um aumento significativo no peso do fígado dos ratos com oferecimento de dieta CAF por 28 dias.

Os níveis de aspartato aminotransferase (AST) e bilirrubina total, nesse estudo, não foram alterados entre os animais que receberam RC e dieta CAF. No entanto, houve redução dos níveis de alanina aminotransferase (ALT), entre os animais que receberam CAF e dieta RC, alterando assim a proporção das transaminases. Macqueen et al., (2007) ao administrarem CAF tipo *pellet* composta (9,8/100g de gordura, 38,9/100g de carboidratos e 22,7/100g de açúcar) por 14 semanas levou a uma redução dos valores de ALT, o que apoia os resultados do presente experimento.

A elevação sérica das aminotranferases é um indicador sensível de necrose ou lesão hepática. Há elevação de AST quando ocorrem lesões em outros órgãos como coração e rins. Nos hepatócitos, 70% da AST são originados do citoplasma e 30% das mitocôndrias Já a ALT está presente em

quantidade elevada no fígado, localizada exclusivamente no citoplasma da célula hepática, sendo por isso específica para diagnóstico de agressão hepática.

Em lesões hepáticas agudas há predomínio de ALT em relação à AST, já em lesões crônicas onde, além das lesões de membrana celular, há lesão mitocondrial, há predomínio de AST em relação à ALT (ERICHSEN, et al., 2009).

Assim, o consumo da dieta CAF ofertada nesse estudo, pode ter levado a lesão mitocondrial celular caracterizado pelo predomínio dos níveis de AST, como também pelo aumento do núcleo e das células hepáticas. Associado a isso houve alteração na proporção de ALT e AST sanguíneos, com redução significativa dos valores de ALT entre os animais que receberam dieta CAF e os que consumiram RC, o que pode ser decorrente da indução do estresse oxidativo micodondrial devido acumulação de lipídeos nos tecidos hepáticos e extra-hepáticos.

Os dados desse estudo não indicam lesões hepáticas relacionadas ao aumento do peso do fígado e dos níveis de ALT e AST causadas pelo tratamento com o fitoterápico ZO. No entanto, houve elevação dos níveis de bilirrubina nos animais que receberam a menor dose do fitoterápico (ZO1).

Jeena, Liju & Kuttan (2011) ao avaliarem a toxicidade do gengibre, confirmam a ausência de alterações nos parâmetros hematológicos, função hepática, renal, eletrólitos séricos e histopatológicos de alguns órgãos, relacionado à sua administração oral durante 13 semanas nas doses 100, 250 e 500 mg/kg em ratos *Wistar*. No estudo de Matsuda et al., (2009), os níveis sanguíneos de ALT, AST e bilirrubina em ratos, e peso do fígado, não foram alteradas com associação de gengibre à dieta enriquecida com colesterol por 12 semanas. Nwozo et al., (2014) evidenciam até um efeito hepatoprotetor em ratos *Wistar* com administração de óleo de gengibre por 28 dias antes de serem expostos ao etanol.

Pasarin et al., (2012) encontraram níveis de bilirrubina ligeiramente alterados, AST não alterado e ALT diminuído após ratos com 10 semanas de idade receberem dieta CAF em porções diárias, com 66% de gorduras saturadas por 30 dias. Estas alterações são semelhantes às identificadas

nesse trabalho, e sugere assim, que dieta CAF pode ter induzido aumento dos níveis de bilirrubina e não o tratamento com gengibre.

Apesar da ausência de alterações bioquímicas como os níveis de glicose, de colesterol total e de triglicerídeos, a dieta de cafeteria no presente trabalho induziu um importante aumento de deposição lipídica. Esta deposição lipídica pode ser decorrente do desequilíbrio das velocidades de formação e exportação dos triglicerídeos (MURRAY, GRANNER & MAYES, 2007).

A patologia da esteatose hepática não-alcoolica é obscura e embora a resistência insulínica, o aumento da oxidação mitocondrial hepática de ácidos graxos livres, do estresse oxidativo e da peroxidação lipídica tenham sido propostos como fatores etiológicos, sua evolução para cirrose é com frequência insidiosa com acréscimos moderados das enzimas hepáticas séricas (RUBIN, 2006).

É conhecido que o fígado gorduroso sem outras complicações pode não ser detectado clinicamente o que contribui para progressão de outras doenças hepáticas (ROBBINS & COTRAN 2010). Esse fato levanta ainda mais a necessidade de estudos para o melhor entendimento dos fatores responsáveis pelas alterações metabólicas que levam a esteatose hepática não alcoólica, uma vez que é alta sua prevalência podendo afetar até 25% da população geral no mundo todo e 75% dos indivíduos obesos (BOGLIOLO, 2013).

O entendimento da esteato-hepatite não alcoolica (NASH) também é dificultado pela falta de um modelo adequado para indução de NASH. Nesse sentido, Romestaing et al., (2007) investigaram os efeitos de três diferentes dietas (1-acrescida de óleo de coco, 2- manteiga, 3-dieta deficiente em metionina-colina) na indução de alterações hepáticas, por 14 semanas em ratos com 27 dias de vida. A alimentação com elevado teor de gordura saturada levou o aumento do armazenamento periférico de gorduras, mas não induziu esteatose hepática. Os autores concluíram que os ratos tem uma incrível capacidade de adaptar-se a um grande aumento de lipídeos em sua alimentação e que os protocolos apresentados não induziram insuficiência hepática e que não devem ser usados como modelo de NASH (ROMESTAING et al., 2007).

No entanto Macqueen et al., (2007) ao compararem os efeitos hepáticos provocados pela CAF e por uma dieta constituída de elevado teor de ácidos graxos saturados (sebo de boi) perceberam que a dieta CAF provoca maior alteração hepática, caracterizada pelo maior tamanho do fígado e desproporcional ao tamanho do corpo e com aparência visível de esteatose comparada a dieta acrescida com ácidos graxos saturados.

Somado a estes dados, tanto o protocolo alimentar utilizado nesse experimento, assim como dieta usada no estudo de Silva et al., (2015) composta por 38% de carboidratos e 21% de gorduras (amendoim torrado, chocolate ao leite) por 16 semanas foram eficazes em desenvolver esteatose. O que sustenta o uso da CAF em *pellet* usada nesse estudo como modelo experimental para induzir esteatose, constituída por leite em pó, biscoito doce maisena, achocolatado em pó, batata frita palha, bacon, mortadela, patê de presunto e ração comercial oferecida durante 65 dias em forma de *pellet* a ratos *wistar* com 52 dias de vida.

Assim, estudos experimentais com dietas consumidas pelos humanos devem ser desenvolvidos para um melhor entendimento de suas repercussões no organismo, como a relação entre as alterações bioquímicas e histológicas.

O tratamento por 20 dias, com o fitoterápico contendo ZO foi eficiente em diminuir a área média do núcleo e o tamanho dos hepatócitos (ZO2-150mg/kg e ZO3-300mg/kg comparado ao CAF) e impedir a acumulação de gorduras nas células hepáticas (ZO1-75mg/kg, ZO2-150mg/kg e ZO3-300mg/kg comparado ao CAF), assim como aumentar a porcentagem de sinusóides hepáticos(ZO2-150mg/kg comparado ao CAF).

Outras alterações histológicas, no presente experimento, foram identificadas como aumento do núcleo e do citoplasma dos hepatócitos após consumo da dieta CAF por 65 dias. Bogliolo, (2006) traz que mudanças nucleares são observadas em processos de necrose celular e toxicidade. As alterações no suco nuclear e na cromatina aparecem precocemente em diversas agressões e refletem as alterações do conteúdo hídrico e eletrolítico da célula e variações do pH intracelular e são acompanhadas da expansão do volume do citoplasma (BOGLIOLO, 2006)

O número de sinusóides hepáticos avaliados pela histologia hepática nos animais que receberam dieta CAF aumentaram em relação aos animais que receberam RC, esse aumento foi ainda maior no grupo dos animais tratados com o fitoterápico contendo gengibre. Nas regiões dos capilares sinusóides o fluxo sanguíneo é lento e permite a realização das trocas de solutos plasmáticos com os hepatócitos (GARTNER & HIATT, 2007). No presente estudo, o aumento da porcentagem dos sinusóides hepáticos pode ter contribuído para um melhor fluxo sanguíneo o que atende com maior eficiência as demandas fisiológicas das células, levando assim a eliminação das gotículas lipídicas.

Lai et al., (2016) apresentam resultados histológicos positivos, com uso do óleo de gengibre (62,2 e 125 mg/kg) em reduzir a acumulação de lipídios hepáticos, por 12 semanas de tratamento, em camundongos alimentados com dieta rica em gorduras.

Rahimlou et al., (2016) mostraram em estudo com pacientes diagnosticados com DHGNA, que a suplementação por doze semanas com dois gramas de gengibre, resultou em uma redução significativa da alanina aminotransferase (ALT), γ -glutamil transferase (GGT), citocinas inflamatórias (TNF- α), bem como o índice de resistência à insulina (HOMA-IR) e o grau de esteatose hepática medida por Elastografia Hepática, em comparação com o placebo (RAHIMLOU et al., 2016).

Estudos evidenciam possíveis mecanismos de ação do gengibre na redução dos níveis lipêmicos sanguíneos. Esses efeitos incluem interrupção da absorção de colesterol a partir do trato gastrointestinal uma vez que a excreção fecal de colesterol esteve aumentada nos animais tratados com gengibre (HAN et al., 2005). Interferência na biossíntese do colesterol no fígado através da sua atividade sobre a enzima 7α -hidroxilase, que estimula a conversão de colesterol hepático em ácidos biliares o que leva sua excreção (SRINIVASAN & SAMBAIAH 1991; TANABE et al, 1993; LAI et al., 2016), atuações estas que podem ter impedido a acumulação dos lipídeos nos hepatócitos desse estudo.

Assim, pode-se concluir que o fitoterápico melhorou a agressão provocada pela CAF ao reduzir a deposição de gorduras, a área do núcleo e o

tamanho dos hepatócitos. Somado a isso aumentou o número de sinusóides das células hepáticas, o que pode ter contribuído para aumento do fluxo sanguíneo para melhor atender as necessidades fisiológicas das células.

Mais estudos são importantes a fim de demonstrar as potencialidades do gengibre na redução de alterações provocadas por dietas como a CAF, uma vez que a dieta de cafeteria é um modelo altamente relevante e reflete os maus hábitos alimentares dos humanos e pode melhor mimetizar as tendências modernas da obesidade.

Observa-se pelos trabalhos citados a falta de padronização de doses a serem testadas e muitas vezes a investigação dos efeitos do gengibre ocorre com administração do mesmo na forma *in natura* (fresco) (PAUL et al., 2012, SULTANA, AKTER & KHAN 2012) associado a dieta (LI et al., 2014; MISAWA et al., 2015), ou ainda gengibre em pó incluído em cápsulas (RAHIMLOU et al., 2016) para tratamento das alterações metabólicas em diferentes protocolos.

Modelos de estudo que não avaliam os efeitos de uma formulação fitoterápica, inviabiliza a produção de um novo medicamento, o que prejudica a descoberta de novos produtos para tratamento de doenças como esteatose, obesidade e dislipidemia.

7. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos nesse estudo permite concluir que o gengibre cultivado na fazenda experimental FERC, apresentou segundo análise qualitativa por cromatografia gasosa, importantes compostos bioativos como gingerol e zingibereno. O extrato etnólico desse gengibre mostrou importante atividade antioxidante pelo método do DPPH com EC_{50} de 38,95(μ g/mL).

O consumo da dieta de cafeteria utilizada nesse experimento elevou a massa corporal dos ratos, reduziu os níveis sanguíneos de ALT, aumentou histologicamente o número de sinusóides, área do núcleo e área dos hepatócitos e induziu nas células hepáticas a acumulação de lipídeos em 65 dias de experimento. No entanto, a dieta CAF não foi eficiente em alterar o consumo, os níveis bioquímicos sanguíneos (glicose, lipêmicos, AST) e de modificar o peso do fígado dos animais em estudo.

O tratamento com o fitoterápico ZO por 20 dias, não inferiu na massa corporal, no consumo, nos níveis sanguíneos glicêmicos e lipêmicos e no peso do fígado dos animais. Mas foi eficiente pelas análises histológicas em aumentar o número de sinusóides hepáticos e diminuir a área do núcleo, dos hepatócitos e a acumulação de lipídeos induzida pela dieta de cafeteria.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDULRAZAQ, N. B.; CHO, M. M.; WIN, N. N.; ZAMAN, R.; AND RAHMAN, M. T.; Beneficial effects of ginger (*Zingiber officinale*) on carbohydrate metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. *British Journal of Nutrition* V.108, p.1194–1201, 2012.

AFSHARI, A. T.; SHIRPOOR, A.; FARSHID, A.; SAADATIAN, R.; RASMI, Y.; SABOORY, E.; ILKHANIZADEH, B.; ALLAMEH, A. The effect of ginger on diabetic nephropathy, plasma antioxidant capacity and lipid peroxidation in rats. *Food Chemistry* V.101. p.148–153, 2007.

AHMED, R. S.; SHARMA, S. B. Biochemical studies on combined effects of garlic (*Allium sativum* Linn) and ginger (*Zingiber officinale* Rosc) in albino rats. *Indian J. Exp. Biol.* v. 35, p. 841–843, 1997.

ALVES, L. F. Produção de Fitoterápicos no Brasil: História, Problemas e Perspectivas. *Rev. Virtual Quim.*, v.5, n.3, p. 450-513. Data de publicação na Web: 3 de julho de 2013.

ANDRADE, G. F.; ALMEIDA, C. DAS G. DE; ESPESCHIT, A. C. R.; DANTAS, M. I. DE S.; BENJAMIN, L. DOS A.; RIBEIRO, S. M. R.; AND MARTINO, H. S. D. The addition of whole soy flour to cafeteria diet reduces metabolic risk markers in wistar rats. *Lipids in Health and Disease*, 12:145, 2013.

ANDREO, D.; JORGE, N. Capacidade Antioxidante e Estabilidade Oxidativa de *Gengiber officinale*. *UNOPAR, Cient. Ciênc. Biol. Saúde*, v. 13, n. 1, p.33-7, 2011.

ANHE, F. F.; DESJARDINS, Y.; PILON, G.; DUDONNE, S.; GENOVESE, M. I.; LAJOLO, F. M.; MARETTE, A. Polyphenols and type 2 diabetes: A prospective review. *Pharma Nutrition* v.1.p. 105–114, 2013.

AQUINO, J. K.; PEREIRA, P.; REIS, V. M. C. P.. Hábito e Consumo Alimentar de Estudantes do Curso de Nutrição das Faculdades de Montes Claros –Minas Gerais. *Revista Multitexto*, 2015, v. 3, n. 01

ATTARI, I V. E.; OSTADRAHIMI, A.; JAFARABADI, M. A.; MEHRALIZADEH, S.; AHLUJI, S. Changes of serum adipocytokines and body weight following *Zingiber officinale* supplementation in obese women: a RCT. *Eur J Nutr.*19 August 2015.

BAIRWA, G.L; JASUJA, N.D.; JOSHI, S.C. Lipid lowering and antioxidant effects of *Amomum subulatum* seeds (Family Zingiberaceae) in cholesterol fed rabbits. *Archives of phytopathology and plant protection*, 2011; 44 (14): 1425-31.

BALAMURUGAN, R. ; DURAIPANDIYAN, V.; IGNACIMUTHU, S. Antidiabetic activity of γ -sitosterol isolated from *Lippia nodiflora* L. in streptozotocin induced

diabetic rats. *European Journal of Pharmacology*, Volume 667, Issues 1–3, 30, P. 410–418, September 2011.

BARROS, M. S.; FONSECA, V. M.; MEIO, M. D. B. B.; CHAVES, C. R. Excesso de peso entre adolescentes em zona rural e a alimentação escolar oferecida. *Cad. Saúde Colet.*, Rio de Janeiro, v.21 (2),p. 201-8, 2013.

BASKAR, A. A.; NUMAIR, K. S. AL; PAULRAJ, M. G.; ALSAIF, M. A.; MUAMAR, M. AL; AND IGNACIMUTHU, S. β -Sitosterol Prevents Lipid Peroxidation and Improves Antioxidant Status and Histoarchitecture in Rats with 1,2-Dimethylhydrazine-Induced Colon Cancer. *Journal of Medicinal Food*, V.15, Issue 4, March 21, 2012.

BATISTA, L. M.; VALENÇA, A. M. G. A Fitoterapia no Âmbito da Atenção Básica no SUS: Realidades e Perspectivas. *Pesq. Bras. Odontoped. Clin. Integr*, João Pessoa, v.12, n. 2, p. 293-96, abr./jun., 2012.

BAYOL, S. A.; SIMBI, B. H.; FOWKES, R. C.; AND STICKLAND, N. C. A Maternal “Junk Food” Diet in Pregnancy and Lactation Promotes Nonalcoholic Fatty Liver Disease in Rat Offspring. *Endocrinology*, v.151(4), p.1451–1461, April 2010.

BENAISSA, N.; MERZOUK, H.; MERZOUK, S. A.; and NARCE, M. Effects of Maternal Linseed Oil Supplementation on Metabolic Parameters in Cafeteria Diet-induced Obese Rats. *Biomed Environ Sci*; v.28(4). p. 298-302, 2015.

BHANDARI, U.; KANOJIA, R.; PILLAI, K.K. Effect of ethanolic extract of *Zingiber officinale* on dyslipidaemia in diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v. 97, p. 227–230, 2005.

BHANDARI, U.; SHARMA, J.N.; ZAFAR, R. The protective action of ethanolic ginger (*Zingiber officinale*) extract in cholesterol fed rabbits. *Journal of Ethnopharmacology*. v. 61, p. 167–171, 1998.

BIELEMANN, R. M.; MOTTA, J. V. S.; MINTEN, G. C.; HORTA, B. L.; GIGANTE, D. P. Consumo de alimentos ultraprocessados e impacto na dieta de adultos jovens. *Rev Saúde Pública*; 49:28,2015.

BOGLIOLO, Luigi. *Patologia Geral* [Editado por] Geraldo Brasileiro Filho- 5° ed.- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

BOGLIOLO, Luigi. *Patologia Geral* [Editado por] Geraldo Brasileiro Filho- 5° ed.- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

_____, Luigi. *Patologia Geral* [Editado por] Geraldo Brasileiro Filho- 8° ed.- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2012.

BRAND WILLIAMS, W., Cuvelier, M.-E., Berset, C., Use of a Free-Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Food Sci. Technol-Leb. 1995, 28, 25-30.

BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Formulário de Fitoterápicos da Farmacopéia Brasileira / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 126p, 2011a.

_____ Agência Nacional de Vigilância Sanitária. RDC nº 306. Dispõe sobre o regulamento técnico para o gerenciamento dos resíduos de serviços de saúde, 2004.

_____ Lei nº11794. Regulamentação dos procedimentos para o uso científico de animais. Diário Oficial da União. Brasília, 08 de outubro de 2008.

_____ Ministério da Saúde Relação de fitoterápicos oferecidos pelo SUS. Portal Brasil — publicado 09/11/2012 11h08, última modificação 09/11/2012 11h09. Link <http://www.brasil.gov.br/saude/2012/11/sus-tem-fitoterapicos-para-doencas-simples/relacao-de-fitoterapicos-oferecidos-pelo-sus/view>. Acesso: abril de 2015a.

_____ Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Resolução RDC nº 14, de 31 de março de 2010. Dispõe sobre o registro de medicamentos fitoterápicos. Diário Oficial da União. Seção 1:85-7. 5 abril de 2010.

_____ Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Práticas integrativas e complementares: plantas medicinais e fitoterapia na Atenção Básica. 156 p. (Série A. Normas e Manuais Técnicos) (Cadernos de Atenção Básica ; n. 31) Brasília: Ministério da Saúde, 2012b.

_____ Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica. 162 p. (Cadernos de Atenção Básica, n. 35) Brasília: Ministério da Saúde, 2014a.

_____ Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Estratégias para o cuidado da pessoa com doença crônica : obesidade / 212 p. (Cadernos de Atenção Básica, n. 38). Brasília: Ministério da Saúde, 2014b.

_____ Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Guia alimentar para a população brasileira / ministério da saúde, secretaria de atenção à saúde, departamento de atenção Básica. – 2. ed., 1. reimpr. – Brasília : ministério da saúde 156 p., 2014c.

_____ Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Atenção Básica. Política nacional de práticas integrativas e

complementares no sUs : atitude de ampliação de acesso. 2. ed. 96 p. Brasília : Ministério da saúde, 2015a.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos / Ministério da Saúde, Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos, Departamento de Assistência Farmacêutica. – Brasília: Ministério da Saúde. 60 p. Série B. Textos Básicos de Saúde, 2006.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Programa Nacional de Plantas Mediciniais e Fitoterápicos. Brasília: Ministério da Saúde. 136 p. (Série C. Projetos, Programas e Relatórios), 2009.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos. Relação Nacional de Medicamentos Essenciais: Rename 2013/ – 8. ed. 200 p – Brasília : Ministério da Saúde, 2013.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Análise de Situação de Saúde. Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022. 160 p. (Série B. Textos Básicos de Saúde). Brasília: Ministério da Saúde, 2011b.

_____. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância em Saúde. Departamento de Vigilância de Doenças e Agravos não Transmissíveis e Promoção da Saúde. Vigitel Brasil 2014: vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília : Ministério da Saúde, 2015b.

_____. Portal do **Departamento de Atenção Básica** PNAN - Política Nacional de Alimentação e Nutrição, **2012c**. Link: <http://dab.saude.gov.br/portaldab/pnan.php>

BRITO, L. F. Efeito do extrato das folhas de manga ubá (*mangífera Indica* L) e da mangiferina na modulação da expressão dos receptores cb1, ppar γ e adipocinas em ratos alimentados com dieta de cafeteria. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 100f, 2013.

BURT, A. D.; MUTTON A , D. C. P. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. Seminars in Diagnostic Pathology, v.15, n.4, p. 246-258, 1998.

CALLEGARI-JACQUES, S. M. Bioestatística: Princípios e aplicações. Porto Alegre, Ed. Artmed, 2003.

CAMPOS, L. F.; ALMEIDA, J. Z. DE; CAMPOS, F. F.; CAMPOS, L. DE A. Prática Alimentar e de Atividade Física em Adolescentes Obesos de Escolas Públicas e Privadas. *Rev Bras Promoç Saúde*, Fortaleza, 27(1): 92-100, jan./mar., 2014.

CARDOSO, S.; SANTOS, O.; NUNES, C.; LOUREIRO, E I.. Escolhas e hábitos alimentares em adolescentes: associação com padrões alimentares do agregado familiar. *Revista Portuguesa de Saúde Publica*. v. 33(2). p.128–136, 2015.

CASTRO, H; POMAR, C. A; PICÓ, C; SÁNCHEZ, J; and PALOU, A. Cafeteria diet overfeeding in young male rats impairs the adaptive response to fed/fasted conditions and increases adiposity independent of body weight. *International Journal of Obesity*. V. 39. p.430–437, 2015.

CESARETTI, M. L. R.; JUNIOR, O. K. Modelos Experimentais de Resistência à Insulina e Obesidade: Lições Aprendidas. *Arq Bras Endocrinol Metab*. V.50/2. p.190-197, 2006.

COCHRAN, W.G. *Sampling Techniques*. 3^a ed. New York. Ed.Wiley, 1977.

COELHO, L. DE C.; ASAKURA, L.; SACHS, A.; ERBERT, I.; NOVAES, C. DOS R. L.; GIMENO, S. G. A. Sistema de Vigilância Alimentar e Nutricional/SISVAN: conhecendo as práticas alimentares de crianças menores de 24 meses. *Ciência & Saúde Coletiva*, v.20(3), p.727-738, 2015.

CRISTOFOLETTI, M. F.; GIMENO, S. G. A.; FERREIRA, S. R. G.; CARDOSO, M. A. Associação entre consumo de alimentos embutidos e obesidade em um estudo de base populacional de nipo-brasileiros. *Arq Bras Endocrinol Metab*. V.57/6, 2013.

CUNHA, A. P. da; SILVA, A. P.; ROQUE, O. R. *Plantas e Produtos Vegetais em Fitoterapia*. Fundação Calouste Gulbenkian. Av. de Berna/ Lisboa, 2003.

DEON, R. G.; ROSA, R. D. DA; ZANARDO, V. P. S.; CLOSS, V. E.; SCHWANKE, C. H. A. Consumo de alimentos dos grupos que compõem a pirâmide alimentar americana por idosos brasileiros: uma revisão. *Ciência & Saúde*. V.8(1). p.26-34,2015.

DEWICK, P. M. *Medicinal natural productis: a biosynthetic approach*/3 rd ed. Wiley 2009.

DUGASANI, S. M.; PICHKA, R.; NADARAJAH, V. D.; BALIJEPALLI, M. K.; TANDRA, S; KORLAKUNTA, J. N. Comparative antioxidant and anti-inflammatory effects of [6]-gingerol, [8]-gingerol, [10]-gingerol and [6]-shogaol. *Journal of Ethnopharmacology* 127 (2010) 515–520.

EMA. European Medicines Agency. Assessment report on *Zingiber officinale* Roscoe, rhizoma. Committee on Herbal Medicinal Products (HMPC). 12 July 2011.

ERICHSEN, E. S.; VIANA, L. DE G.; FARIA, R. M. D.; SANTOS, S.M. E.. Medicina Laboratorial para o clínico / Laboratory Medicine for clinical. Belo Horizonte; Coopmed; 783 p., 2009.

FLEISSNER, C. K.; HUEBEL, N.; EL-BARY, M. M. A.; LOH, G.; KLAUS, S.; and BLAUT, M. Absence of intestinal microbiota does not protect mice from diet-induced obesity. *British Journal of Nutrition*. V.104, p. 919–929, 2010.

FLOR, L. S.; CAMPOS, M. R.; OLIVEIRA, A. F. DE; SCHRAMM, J. M. DE A.; Carga de diabetes no Brasil: fração atribuível ao sobrepeso, obesidade e excesso de peso. *Rev Saúde Pública*; p.49:29, 2015.

GARTNER, L. P. & HIATT, L. V. Tratado de histologia em cores. [Tradução de: Thais Porto Amadeu et al], Rio de Janeiro, 3 rd ed, Elsevier, 2007.

GOYAL, R. K.; KADNUR, S. V. Beneficial effects of *Zingiber officinale* on goldthioglucose induced obesity. *Fitoterapia*, v. 77, p.160–163, 2006.

GUERRA, J. F. DA C.; MACIEL, P. S.; ABREU, I. C. M. E. DE; PEREIRA, R. R.; SILVA, M.; CARDOSO, L. DE M.; PINHEIRO-SANT'ANA, H. M.; LIMA, W. G. DE; SILVA, M. E.; PEDROSA, M. L.. Dietary açai attenuates hepatic steatosis via adiponectin-mediated effects on lipid metabolism in high-fat diet mice. *Journal of functional foods*, v. 14, p.192–202, 2015.

GUO, J.; WU, H.; DU, L.; ZHANG, W.; and YANG, J. Comparative Antioxidant Properties of Some Gingerols and Shogaols, and the Relationship of Their Contents with the Antioxidant Potencies of Fresh and Dried Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *J. Agr. Sci. Tech. Vol. 16: p.1063-1072, 2014.*

HAN, L.; GONG, X.; KAWANO, S.; SAITO, M. K. Y.; OKUDA, H. Antiobesity actions of *Zingiber officinale* Roscoe. *Yakugaku Zasshi*, v.125. p.213-7, 2005.

HEEBAA, G. H.; ABD-ELGHANYB, M. I. Effect of combined administration of ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) and atorvastatin on the liver of rats. *Phytomedicine*, v. 17, p.1076–1081, 2010.

IPPOUSHI, K.; TAKEUCHI, A.; ITO, H.; HORIE, H.; AZUMA, K. Antioxidative effects of daikon sprout (*Raphanus sativus* L.) and ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) in rats. *Food Chemistry*, v. 102, p. 237–242, 2007.

ISA, Y.; MIYAKAWA, Y.; YANAGISAWA, M.; GOTO, T.; KANG, Min-Sook; KAWADA, T.; MORIMITSU, Y.; KUBOTA, K.; TSUDA, T. 6-Shogaol and 6-gingerol, the pungent of ginger, inhibit TNF- α mediated downregulation of adiponectin expression via different mechanisms in 3T3-L1 adipocytes.

Biochemical and Biophysical Research Communications, v. 373, p. 429–434, 2008.

JAFRI, S. A.; ABASS, S.; and QASIM, M. Hypoglycemic Effect of Ginger (*Zingiber officinale*) in Alloxan Induced Diabetic Rats (*Rattus norvegicus*). Pak Vet J, v. 31, n. 2, p.160-162, 2011.

JAPANESE PHARMACOPOEIA. Society of Japanese Pharmacopoeia. Official Monographs.15th ed. General Chapter 6.07, 2006.

JAYASHREE E.; VISVANATHAN R.; JOHN ZACHARIAH T. Quality of dry ginger (*Zingiber officinale*) by diferente drying methods. J Food Sci Technol, v.51, n.11, p. 3190–3198, November 2014.

JEENA K.; LIJU, V. B.; KUTTAN, R. A Preliminary 13-Week Oral Toxicity Study of *Ginger Oil in Male and Female Wistar Rats*. International Journal of Toxicology, v. 30, p. 662-670, December 2011.

JINDAL, V.; DHINGRA, D.; SHARMA, S.; PARLE, M.; HARNA, R. K. Hypolipidemic and weight reducing activity of the ethanolic extract of *Tamarindus indica* fruit pulp in cafeteria diet- and sulphuride-induced obese rats. Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics, v. 2, April-June, 2011.

JOLAD, S. D.; LANTZ, R. C.; CHEN, G. J.; BATES, R. B.; TIMMERMAN, B. N. Commercially processed dry ginger (*Zingiber officinale*): Composition and effects on LPS-stimulated PGE2 production. Phytochemistry, v. 66, p.1614–1635, 2005.

KAUR, G.; KULKARNI, S.K. Antiobesity Effect of a Polyherbal Formulation, Ob-200g in Female Rats Fed on Cafeteria and Atherogenic Diets. Indian Journal of Pharmacology, v.32, p.294-299, 2000.

KAZEEM, M. I.; AKANJI, M. A.; YAKUBU, M. T.; and ASHAFI, A.O.T. Protective Effect of Free and Bound Polyphenol Extracts from Ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on the Hepatic Antioxidant and Some Carbohydrate Metabolizing Enzymes of Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. Article ID 935486, 7 pages, Volume 2013.

KIM, Kyung-Ah; LEE In-Ah; GU, W. HYAM S. R. and KIM, Dong-Hyun. β -Sitosterol attenuates high-fat diet-induced intestinal inflammation in mice by inhibiting the binding of lipopolysaccharide to toll-like receptor 4 in the NF- κ B pathway. Molecular Nutrition & Food Research. V. 58, Issue 5, p. 963–972, May 2014.

KUCERA, O.; CERVINKOVA, Z.. Experimental models of non-alcoholic fatty liver disease in Rats. *World J Gastroenterol*, v.14, n. 20(26), p. 8364-8376, July 2014.

KUMAR, N. V.; MURTHY, P. S.; MANJUNATHA, J.R.; BETTADAIAH, B.K. Synthesis and quorum sensing inhibitory activity of key phenolic compounds of ginger and their derivatives. *Food Chemistry*, v.159 p.451–457, 2014.

KUNDE, S. S.; LAZENBY, A. J.; CLEMENTS, R. H.; AND ABRAM, G. A.Spectrum of NAFLD and Diagnostic Implications of the Proposed New Normal Range for Serum ALT in Obese Women. *HEPATOLOGY*, Vol. 42, No. 3, 2005.

LAI, Yi-Syuan; LEE, Wan-Ching; LIN, Yu-En; HO, Chi-Tang; LU, Kuan-Hung; LIN, Shih-Hang; PANYOD, Suraphan; CHU, Yung-Lin; and SHEEN, Lee-Yan . Ginger Essential Oil Ameliorates Hepatic Injury and Lipid Accumulation in High Fat Diet-Induced Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *J. Agric. Food Chem.*, v.64, n.10, p. 2062–2071, 2016.

LALANZA, J. F.; CAIMARI, A.; BAS, J. M. DEL; TORREGROSA, D. ; CIGARROA, I.; PALLÁS, M.; CAPDEVILA, L.; AROLA, L.; ESCORIHUELA, R. M. Effects of a Post-Weaning Cafeteria Diet in Young Rats: Metabolic Syndrome, Reduced Activity and Low. Anxiety-Like Behaviour. *PLOS ONE*, Volume 9, Issue 1, January 2014.

LEITE, J. P. V. *Fitoterapia: Bases científicas e tecnológicas/ Editora Atheneu. São Paulo, 2009.*

LEPORE, S. M.; MORITTU, V. M.; CELANO, M.; TRIMBOLI, F.; OLIVERIO, M.; PROCOPIO, A.; LORETO, C.DI.; DAMANTE, G.; BRITTI, D.; BULOTTA, S. AND RUSSO, D. Oral Administration of Oleuropein and Its Semisynthetic Peracetylated Derivative Prevents Hepatic Steatosis, Hyperinsulinemia, and Weight Gain in Mice Fed with High Fat Cafeteria Diet. *International Journal of Endocrinology*, Article ID 431453, 9 pages, Volume 2015.

LEVY, R. B.; CLARO, R. M.; MONDINI, L.; SICHIERI, R.; MONTEIRO, C. A. Distribuição regional e socioeconômica da disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil em 2008-2009. *Rev Saúde Pública*, v.46, n.1, p. 6-15, 2012.

LI, Y.; TRAN, V. H.; KOTA, B.P.; NAMMI, S.; DUKE, C. C.; AND ROUFOGALIS, B. D. Preventative Effect of *Zingiber officinale* on Insulin Resistance in a High-Fat High-Carbohydrate Diet-Fed Rat Model and its Mechanism of Action. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, v.115, p. 209–215, 2014.

LIN, Li-Yun; PENG, Chiung-Chi; YEH, Xian-Yü; HUANG, Bor-Yü; WANG, Hui-Er; CHEN Kuan-Chou, and PENG, Robert Y. Antihyperlipidemic bioactivity of *Alpinia officinarum* (Hance) Farw Zingiberaceae can be attributed to the coexistence of curcumin, polyphenolics, dietary fibers and phytosterols. *Food Funct.*, v.6, p.1600-1610, 2015.

LOUIS-SYLVESTRE, J.; GIACHETTI AND MAGNEN, J. LE. Sensory Versus Dietary Factors in Cafeteria-Induced Overweight *Physiology & Behavior*, Vol. 32, p. 901-905, 1984.

LOUZADA, M. L. DA C.; MARTINS, A. P. B.; CANELLA, D. S.; BARALDI, L. G.; LEVY, R. B.; CLARO, R. M.; CANNON, JEAN-CLAUDE M. G.; MONTEIRO, C. A. Alimentos ultraprocessados e perfil nutricional da dieta no Brasil. *Rev Saúde Pública*, p. 49:38, 2015.

LONGO-SILVA, G.; TOLONI, M. H. de A.; MENEZES, R. C. E. de; ASAKURA, L.; OLIVEIRA, M. A. A.; TADDEI, E J. A. de A. C. Introdução de refrigerantes e sucos industrializados na dieta de lactentes que frequentam creches públicas. *Rev Paul Pediatr*, v.33, n.1, p. 34-41, 2015.

LU, Dong-Liang; LI, Xiu-Zhuang; DAI, Fang; KANG, Yan-Fei; LI, Yan; MA, Meng-Meng; REN, Xiao-Rong; DU, Gao-Wei; JIN, Xiao-Ling; ZHOU, Bo. Influence of side chain structure changes on antioxidant potency of the [6]-gingerol related compounds. *Food Chemistry*, v.165, p.191–197, 2014.

MACQUEEN, H. A.; SADLER, D. A.; MOORE, S. A.; DAYAA, S.; BROWNE, J.Y.; SHUKER, D. E.G.; SEAMANC, M.; WASSIF, W. S.. Deleterious effects of a cafeteria diet on the livers of nonobese rats. *Nutrition Research*, v. 27, p. 38- 47, 2007.

MAHLUJI, S.; OSTADRAHIMI, A.; MOBASSERI, M.; ATTARI, V. E.; PAYAHOO, L. Anti-Inflammatory Effects of *Zingiber Officinale* in Type 2 Diabetic Patients. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, v. 3, n.2, p. 273-276, 2013.

MALIK, Z. A. and SHARMA, P.L. Attenuation of High-fat Diet Induced Body Weight Gain, Adiposity and Biochemical Anomalies after Chronic Administration of Ginger (*Zingiber officinale*) in Wistar Rats. *International Journal of Pharmacology*, V. 7, Issue: 8 Year: 2011.

MARQUES, A. DE C. R.; GABBIATTI, G. C.; GRAVENA, Â. A. F.; AMARAL, V. DO. Influência das Dietas Hipercalóricas Sobre os Parâmetros de Obesidade, Dislipidemia e Hiperglicemia em Ratos. *Revista Saúde e Pesquisa*, v. 8, n. 1, p. 55-62, jan./abr. 2015.

MARQUES, L. C. e SOUZA, C. M. Pesquisa e Desenvolvimento de Fitoterápicos: Relatos de Experiência em Indústria Farmacêutica Nacional. *Revista Fitos*. Vol,7 -nº01- Janeiro/março 2012.

MARTINS, A. P. B.; LEVY, R. B.; CLARO, R. M.; MOUBARAC, J. C.; MONTEIRO, C. A. Participação crescente de produtos ultraprocessados na dieta brasileira (1987-2009). *Rev Saúde Pública*, v.47, n.4, p. 656-65, 2013.

MARTIRE, S. I.; HOLMES, N.; WESTBROOK, R. F.; MORRIS, M. J. Altered Feeding Patterns in Rats Exposed to a PalaTabela Cafeteria Diet: Increased

Snacking and Its Implications for Development of Obesity. PLOS ONE, Volume 8, Issue 4, April 2013.

MARZZOCO, A.; TORRES, B. B.- *Bioquímica Básica*. 3ed- [Reimpr.]-Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013.

MATSUDA, A.; WANG, Z.; TAKAHASHI, S.; TOKUDA, T.; MIURA, N.; HASEGAWA, J. Upregulation of mRNA of retinoid binding protein and fatty acid binding protein by cholesterol enriched-diet and effect of ginger on lipid metabolism. *Life Sciences*, v.84 p. 903–907, 2009.

MENDES, F. C. V.; MOREIRA, B. M. T.; MARSIGLIO, G. N.; CARABELLI, B.; MUNHOZ, A. C.; BARELLA, L. F.; MAREZE-COSTA, C. E.; GOMES C. R. de G. Dieta de Cafeteria Remodela a Estrutura da Aorta de Ratos Obesos. *SaBios: Rev. Saúde e Biol.*, v.8, n.1, p.85-91, jan./abr., 2013.

MESOMO, M. C. Obtenção de Extrato de Gengibre (*Zingiber Officinale* Roscoe) Usando CO₂ Supercrítico e Propano Comprimido: Cinética de Extração e Atividade Biológica. Tese (Doutorado). Programa de Pós- Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2013.

MISAWA, K.; HASHIZUME, K.; YAMAMOTO, M.; MINEGISHI, Y.; HASE, T. A. Shimotoyodome. Ginger extract prevents high-fat diet-induced obesity in mice via activation of the peroxisome proliferator-activated receptor δ pathway. *Journal of Nutritional Biochemistry*, v.26, p.1058–1067, 2015.

MOJANI, M. S.; GHASEMZADEH, A.; RAHMAT, A.; LOH, S. P. and RAMASAMY, R. Assessment of bioactive compounds, nutritional composition and antioxidant activity of Malaysian young ginger (*Zingiber officinale* Roscoe). *International Food Research Journal*, v.21, n. 5, p.1931-1935, 2014.

MOORE, B. J. The Cafeteria Diet- An Inappropriate Tool for Studies of Thermogenesis. *J. Nutr.* 117: 227 - 231, 1987.

MOZAFFARI-KHOSRAVI, H.; TALAEI, B.; JALALI, Beman-Ali; NAJARZADEH, A.; MOZAYAN, M. R. The effect of ginger powder supplementation on insulin resistance and glycemic indices in patients with type 2 diabetes: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Complementary Therapies in Medicine*, v. 22, p. 9-16, 2014.

MURRAY, R.K., GRANNER, D.K., MAYES, P.A. et al. Harper: *Bioquímica*. São Paulo: Atheneu, 27ª edição Ed McGraw Hill, 620p 2007.

NADERALI, E. K.; PICKAVANCE, L. C.; WILDING, J. P. H.; and WILLIAMS, G. Diet-induced endothelial dysfunction in the rat is independent of the degree of increase in total body weight. *The Biochemical Society and the Medical Research Society*, v.100, p. 635–641, 2001.

NAIDU, P. B.; UDDANDRAO, V.V.S.; NAIK, R. R.; SURESH, P.; MERIGA, B.; BEGUM, M. S.; PANDIYAN, R.; SARAVANAN, G. Ameliorative potential of gingerol: Promising modulation of inflammatory factors and lipid marker enzymes expressions in HFD induced obesity in rats. *Mol Cell Endocrinol.*, v. 419, n. 5, p.139–147, January 2016.

NAMMI, S. ; SREEMANTULA, S. AND ROUFOGALIS, B. D. Protective Effects of Ethanolic Extract of *Zingiber officinale* Rhizome on the Development of Metabolic Syndrome in High-Fat Diet-Fed Rats. *Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology*, v.104, p.366–373, 2009.

NEVES, S. M. P.; FILHO, J. M.; MENEZES, E. W. de. Manual de cuidados e procedimentos com animais de laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. 216 p. il. São Paulo. 2013.

NEVES-SOUZA, R. D. DAS; JANUÁRIO, R. S. B.; MARQUEZ, A. DE S.; SANTOS, D. C. DOS; FERNANDES, K. B. P. *Associação Entre Perfil Lipídico, Estado Nutricional E Consumo Alimentar em Idosos Atendidos em Unidades de Saúde, Londrina, Pr.* Estud. interdiscipl. envelhec., Porto Alegre, v. 20, n. 1, p. 41-56, 2015.

NWOZO, S. O.; OSUNMADEWA, D. A.; OYINLOYE, B. E. Anti-fatty liver effects of oils from *Zingiber officinale* and *Curcuma longa* on ethanol-induced fatty liver in rats. *Journal of Integrative Medicine*. V.12, N.1. January 2014.

OBOH, G.; ADEMILUYI, A. O.; AKINYEMI, A. J. Inhibition of acetylcholinesterase activities and some pro-oxidant induced lipid peroxidation in rat brain by two varieties of ginger (*Zingiber officinale*). *Experimental and Toxicologic Pathology*, v. 64, p. 315– 319, 2012.

OBOH, G.; AKINYEMI, A. J.; ADEMILUYI, A. O. Antioxidant and inhibitory effect of red ginger (*Zingiber officinale* var. *Rubra*) and white ginger (*Zingiber officinale* Roscoe) on Fe²⁺ induced lipid peroxidation in rat brain in vitro. *Experimental and Toxicologic Pathology*, v. 64, p.31– 36,2012.

OJEWOLE, J. A. O. Analgesic, Antiinflammatory and Hypoglycaemic Effects of Ethanol Extract of *Zingiber officinale* (Roscoe) Rhizomes (Zingiberaceae) in Mice and Rats. *Phytother. Res.* V.20, p.764–772, 2006.

OPAS. Organizacao Pan-Americana da Saude Recomendacoes da Consulta de Especialistas da Organizacao Pan-Americana da Saude sobre a Promocao e a Publicidade de Alimentos e Bebidas Nao Alcoolicas para Crianças nas Americas Washington, D.C.: c OPAS, 2012.

PASARÍN, M.; MURA, V. LA; GRACIA-SANCHO, J.; GARCÍA-CALDERO, H.; VILARRUPLA, A. R.; GARCÍA-PAGÁN, J. C.; BOSCH, J.; ABRALDES, J. G.. Sinusoidal Endothelial Dysfunction Precedes Inflammation and Fibrosis in a Model of NAFLD. *PLoS ONE*, V. 7, Issue 4, April 2012.

PAUL, P.; ISLAM, M. K.; MUSTARI, A. and KHAN, M. Z. I. Hypolipidemic effect of Ginger Extract in Vanaspati Fed Rats. *Bangl. J. Vet. Med.*, V.10 (1& 2), p. 93-96, 2012.

PAWAR, N.; PAI, S.; NIMBALKAR, M.; DIXIT, G. RP-HPLC analysis of phenolic antioxidant compound 6-gingerol from different ginger cultivars. *Food Chemistry*, v.126, p.1330–1336, 2011.

PENG, F.; TAO, Q.; WU, X.; DOU, H.; SPENCER, S.; MANG, C.; XU, L.; SUN, L.; ZHAO, Y.; LI, H.; ZENG, S.; LIU, G.; HAO, X. Cytotoxic, cytoprotective and antioxidant effects of isolated phenolic compounds from fresh ginger. *Fitoterapia*, v. 83, p.568–585, 2012.

PORTH, C. M. e colaboradores. *Fisiopatologia*. Guanabara. Sexta edição, 2004.

QUINTON, Jean-François. *Novos animais de estimação: pequenos mamíferos*. Prefácio de Susana A. Brown: [tradução de: Nouveaux animaux de compagnie: petits mammifères por: Roberta Ferro de Godoy: revisão José Jurandir Fagliaril]. São Paulo: Roca, 2005.

RAHIMLOU, M.; YARI, Z.; HEKMATDOOST, A. ; ALAVIAN, S. M.; AND KESHAVARZ, S. A. Ginger Supplementation in Nonalcoholic Fatty Liver Disease: A Randomized, Double-Blind, Placebo-Controlled Pilot Study. *Hepat Mon.*;v. 16, n.1, p. e34897, January, 2016.

RAVAGNANI, F. C. DE P. Área de Adipócitos e Parâmetros Bioquímicos de Ratos Submetidos À Dieta Hiperlipídica e Exercício Aeróbio. Tese apresentada ao programa de Pós- Graduação e Saúde Desenvolvimento na Região Centro-oeste da Universidade Federal do Mato Grosso do Sul, para obtenção do título de Doutor. CAMPO GRANDE/MS 2011.

REINALDO, E. D. F.; SILVA, M. R. F. DA; NARDOTO, G. B.; GARAVELLO, M. E. de P. E.. Mudanças de hábitos alimentares em comunidades rurais do semiárido da região nordeste do Brasil *Interciencia*, v. 40, n. 5, p. 330-336, mayo, 2015.

REYNÉS, B.; GARCÍA-RUIZ, E.; DÍAZ-RÚA, R.; PALOU, A.; OLIVER, P. Reversion to a control balanced diet is able to restore body weight and to recover altered metabolic parameters in adult rats long-term fed on a cafeteria diet. *Food Research International*, v.64, p. 839–848, 2014.

ROBBINS & COTRAN, *Bases patológicas das doenças/Vinay Kumar...*[et al]. [Tradução de Patrícia Dias Fernandes... [et al]- Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

ROBBINS, *Patologia básica/ Vinay Kumar...*[Et al]. [Revisão Científica João Paulo Lobato dos Santos, tradução de Adriana Pittella Sudré...et al] Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.

ROLLS, B. J. ; ROWE, E.; AND TURNER, R. C. Persistent obesity in rats following a period of consumption of a mixed, high energy diet. *J. Phjio*"1, v. 298, pp. 415-427,1980.

ROLLS, B. J. and ROWE, E. A. Exercise and the Development and Persistence of Dietary Obesity in Male and Female Rats. *Physiology & Behavior*, v. 23, p. 241-247, 1979.

ROMERO, M. DEL M.; ROY, S.; POUILLOT, K.; FEITO, M.; ESTEVE, M.; GRASA, M. DEL M.; LÓPEZ, J. A. F.; ALEMANY, M.; REMESAR, X. Treatment of Rats with a Self-Selected Hyperlipidic Diet, Increases the Lipid Content of the Main Adipose Tissue Sites in a Proportion Similar to That of the Lipids in the Rest of Organs and Tissues. *PLOS ONE*, V. 9, Issue 3, March 2014.

ROMESTAING, C.; PIQUET, Marie-Astrid; BEDU, E.; ROULEAU, V.; DAUTRESME, M.; HOURMAND-OLLIVIER, I.; FILIPPI, C.; DUCHAMP, C.; AND SIBILLE, B.; Long term highly saturated fat diet does not induce NASH in Wistar rats. *Nutrition & Metabolism*, v. 4, n. 4, 2007.

ROTHWELL, BY N. J. and STOCK, M. J. Effects of feeding a palaTabela 'cafeteria' diet on energy balance in young and adult lean (+/?) Zucker rats. *Br. J. Nurr.*, v.41, p.461,1982.

RUBIN, Patologia: Bases Clínicopatológicas da Medicina/ editor chefe: Emmanuel Rubin; editores associados Fred Gorstein ... [et al], com 44 colaboradores; [Revisão Técnica João Lobato; tradução: Guiseppe Taranto... [et al]- Rio de Janeiro: Guanabara Koogan 2006.

SAHEBKAR , A. Potential efficacy of ginger as a natural supplement for nonalcoholic fatty liver disease. *World J Gastroenterol*, v.14, n.17(2), p. 271-272, January 2011.

SAMPEY, B. P.; VANHOOSE, A. M.; WINFIELD, H. M.; FREEMERMAN, A. J.; MUEHLBAUER, M. J.; FUEGER, P. T.; NEWGARD, C. B.; AND MAKOWSKI, L. Cafeteria Diet Is a Robust Model of Human Metabolic Syndrome With Liver and Adipose Inflammation: Comparison to High-Fat Diet. *Obesity*, v.19, p.1109–1117, 2011.

SARAVANAN, G.; PONMURUGAN, P.; DEEPAC, M.A.; AND SENTHILKUMARD, B. Anti-obesity action of gingerol: effect on lipid profile, insulin, leptin, amylase and lipase in male obese rats induced by a high-fat diet. Published online in Wiley Online Library: v.7 April 2014.

SCLAFANI, A. and SPRINGER, D. Dietary Obesity in Adult Rats: Similarities to Hypothalamic and Human Obesity Syndromes *Physiology & Behavior*, v. 17, p. 461-471, 1976.

SHADLI,S.; ALAM, M.; HAQUE, ANWARUL; ROKEYA, BEGUM; ALI, LIAQUAT. Antihyperglycemic Effect Of *Zingiber Officinale* Roscoe Bark In Streptozotocin-Induced Type 2 Diabetic Model Rats. Int J Pharm Pharm Sci, V.6, Issue 1, p. 711-716, 2014.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. Appetite, v. 52, p. 34–38, 2009.

SHIDFAR, F.; RAJAB, A.; RAHIDEH, T.; KHANDOUZI, N.; HOSSEINI, S.; SHIDFAR, S. The effect of ginger (*Zingiber officinale*) on glycemic markers in patients with type 2 diabetes. J Complement Integr Med., V.12, Issue 2, Jun 2015.

SILVA, G. L.,; TOLONI M. H. DE A.; MENEZES, R. C. E. DE; ASAKURA, L.; OLIVEIRA, M. A. A. E TADDEI, J.A. DE A. C. Introdução de refrigerantes e sucos industrializados na dieta de lactentes que frequentam creches públicas. Revista Paulista Pediatria. V.33, n.1, p.34-41, 2015.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, V Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. Arq. Bras. Cardiol. v. 101(4Supl.1), p. 1-22, 2013.

SOTERO, A. M.; CABRAL, P. C.; SILVA E G. A. P. da. Fatores socioeconômicos, culturais e demográficos maternos associados ao padrão alimentar de lactentes. Rev Paul Pediatr, v.33, n.4, p.445-452, 2015.

SOTERO, A. M.; CABRAL, P. C.; SILVA, G. A. P. da. Fatores socioeconômicos, culturais e demográficos maternos associados ao padrão alimentar de lactentes. Rev Paul Pediatr,v.33, n.4,p.445-452, 2015.

SOUSA, J. A.; MIRANDA, E. M. Plantas medicinais e fitoterápicos: alternativas viáveis. Disponível em:<http://ambientes.ambientebrasil.com.br/agropecuário/artigo_agropecuário/plantas_medicinais_e_fitoterapicos:_alternativas_viaveis.html?query=plantas+medicinais>. Acesso em: 10 fevereiro de 2014.

SOUZA, D. K. de; SOUZA, F. A. de; FRAGA, L. S. de; KONRAD, S. P.; BELLÓ-KLEIN, A.; SILVA, R. S. M. da AND KUCHARSKI, L. C. R.. Visceral adiposity influences glucose and glycogen metabolism in control and hyperlipidic-fed animals. Nutr Hosp, v.28, n.2, p.545-552, 2013.

SRINIVASAN K.; SAMBAIAH K. The effect of spices on cholesterol-7 α -hydroxylase activity and on serum and hepatic cholesterol levels in the rat. Int J Vit Nutr Res;v.61, p.364–9, 1991.

STOILOVA, I.; KRASTANOV, A.; STOYANOVA, A.; DENEV, P.; GARGOVA, S. Antioxidant activity of a ginger extract (*Zingiber officinale*). Food Chemistry, v.102 p.764–770, 2007.

SULTANA, S.; AKTER, S.; and KHAN, I. Anti-hyperlipidemic Action of *Zingiber Officinale* (Ginger) Juice in Alloxan Induced Diabetic Rats. Ibrahim Med. Coll. J., v.6, n.2, p. 55-58, 2012.

SYLVANUS, U.; OLAKUNLE, F.; OLUTAYO, O.; USMAN, K. Antimicrobial activities of volatile oil compound from the rhizome of *Zingiber officinale* using solvent method extraction. Pharmaceutical And Biological Evaluations, v. 2 (Issue 3), p.47-51, July 2015.

TANABE, M.; CHEN, Y. D.; SAITO, K. I.; KANO, Y. Cholesterol biosynthesis inhibitory component from *Zingiber officinale* Roscoe. Chem Pharm Bull 1993;41:710–3.

THOMSON, M.; AL-QATTAN, K. K.; AL-SAWAN, S.M.; ALNAQEEB, M. A.; KHAN, I.; ALI, M. The use of ginger (*Zingiber officinale* Rosc.) as a potential anti-inflammatory and antithrombotic agent. Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v.67, n.6, p.475-478, 2002.

TURCHETTO, Q.; ANDREATO, L. V.; ALMEIDA, F. N.; ESTEVES, J. V. DEL C.; MORAES, S. M. F. DE. Suplementação de Ácido Linoleico Conjugado Associado ao Exercício Físico Em Parâmetros Morfofuncionais De Ratos Submetidos à Dieta de Cafeteria. Rev. Educ. Fis/UEM, v. 24, n. 1, p. 121-134, 1. trim. 2013.

TURNBAUGH, P. J.; BACKHED, F.; FULTON, L.; and GORDON, J. I. Marked alterations in the distal gut microbiome linked to diet-induced obesity. Cell Host Microbe, v.3, n.4, p. 213–223. April 17, 2008.

TZENG, Thing-Fong.; LIOU, Shorong-Shii; CHANG, C.; LIU, I-Min. [6]-Gingerol dampens hepatic steatosis and inflammation in experimental nonalcoholic steato hepatitis. Phytomedicine, v.22, p.452–461, 2015.

TZENGA, Thing-Fong.; LIU, I-Min. 6-Gingerol prevents adipogenesis and the accumulation of cytoplasmic lipid droplets in 3T3-L1 cells. Phytomedicine, v. 20, p.481– 487, 2013.

UEKI, S.; MIYOSHI, M.; SHIDO, O.; HASEGAWA, J.; WATANABE, T. Systemic administration of [6]-gingerol, a pungent constituent of ginger, induces hypothermia in rats via an inhibitory effect on metabolic rate. European Journal of Pharmacology, v. 584 p.87–92, 2008.

VAIBHAV, K.; SHRIVASTAVA, P.; TABASSUM, R.; KHAN, A.; JAVED, H.; AHMED, M. E.; ISLAM, F.; SAFHI, M. M.; ISLAM, F. Delayed administration of zingerone mitigates the behavioral and histological alteration via repression of oxidative stress and *intrinsic* programmed cell death in focal transient ischemic rats. Pharmacology Biochemistry and Behavior, V.113, n.15, p.53–62, November 2013.

XIA, Dao-Zong; YU, Xin-Fen ; WANG, Hui-Ming ; REN, Qi-Ya ; and CHEN, Bing-Mei. ; Anti-Obesity and Hypolipidemic Effects of Ethanolic Extract from *Alpinia officinarum* Hance (Zingiberaceae) in Rats Fed High-Fat Diet Journal of Medicinal Food. July, v.13, n.4, p. 785-791, 2010.

WARNEKE, W.; KLAUS, S.; FINK, H.; LANGLEY-EVANS, S. C.; VOIGT, JÖRG-PETER. The impact of cafeteria diet feeding on physiology and anxiety-related behaviour in male and female Sprague–Dawley rats of different ages. Pharmacology, Biochemistry and Behavior, v.116, p.45–54, 2014.

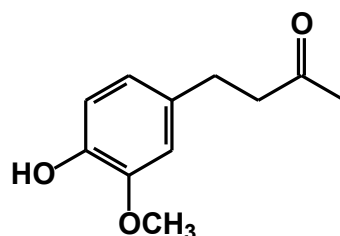
WHO. The World Health Organization. Global Strategy on Diet, Physical Activity and Health. Childhood overweight and obesity. 2016a. Disponível em: < <http://www.who.int/dietphysicalactivity/childhood/en/>. Acesso em: 23 maio de 2016.

WHO. The World Health Organization. Obesity, health topic, 2016b. Disponível em: < <http://www.who.int/topics/obesity/en/>. Acesso em: 23 maio de 2016.

WOICHIK, C.; VIEIRA, R. L. D.; KÜHL, A. M.; FREITAS, A. R. DE; TSUPAL, P. A.. Consumo Alimentar de Adolescentes: Comparação Entre a Área Rural e Urbana de Prudentópolis, Paraná. *UNICIÊNCIAS*, v. 17, n. 1, p. 25-31, Dez. 2013.

WILLIAMS, Brand,; W., Cuvelier, M.-E., Berset, C., Use of a Free-Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. Food Sci. Technol-Leb., v.28, p. 25-30, 1995.

9- APÊNDICE A

ANÁLISE DE FRAGMENTAÇÃO DOS COMPOSTOS DO GENGIBRE (*Zingiber officinale*) IDENTIFICADOS PELO CG/MS.

Zingiberona

PM 194

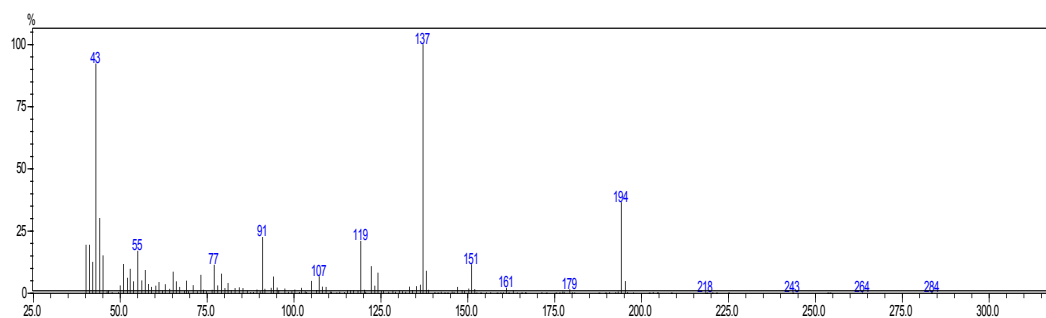
 $T_R = 30,49$ 

Figura 01 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 30,49$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

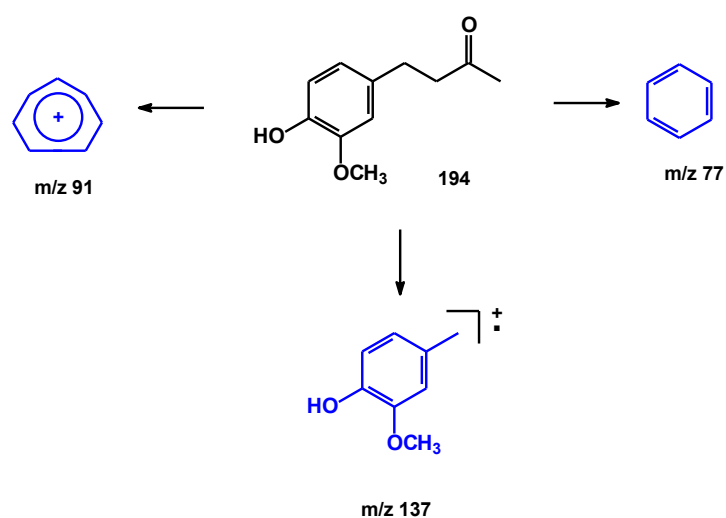
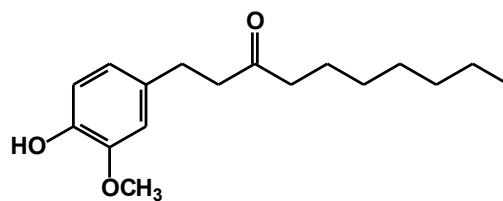


Figura 02 Proposta de fragmentação do composto zingiberona, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



Paradol

PM 278

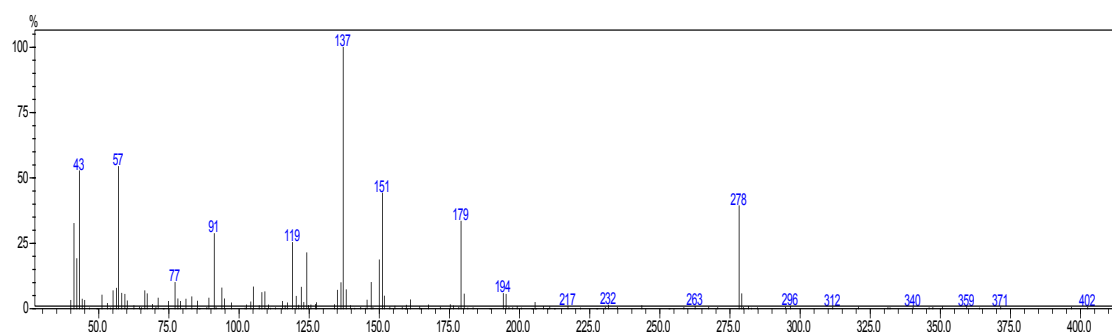
 $T_R = 38,25$ 

Figura 03 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 38,25$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

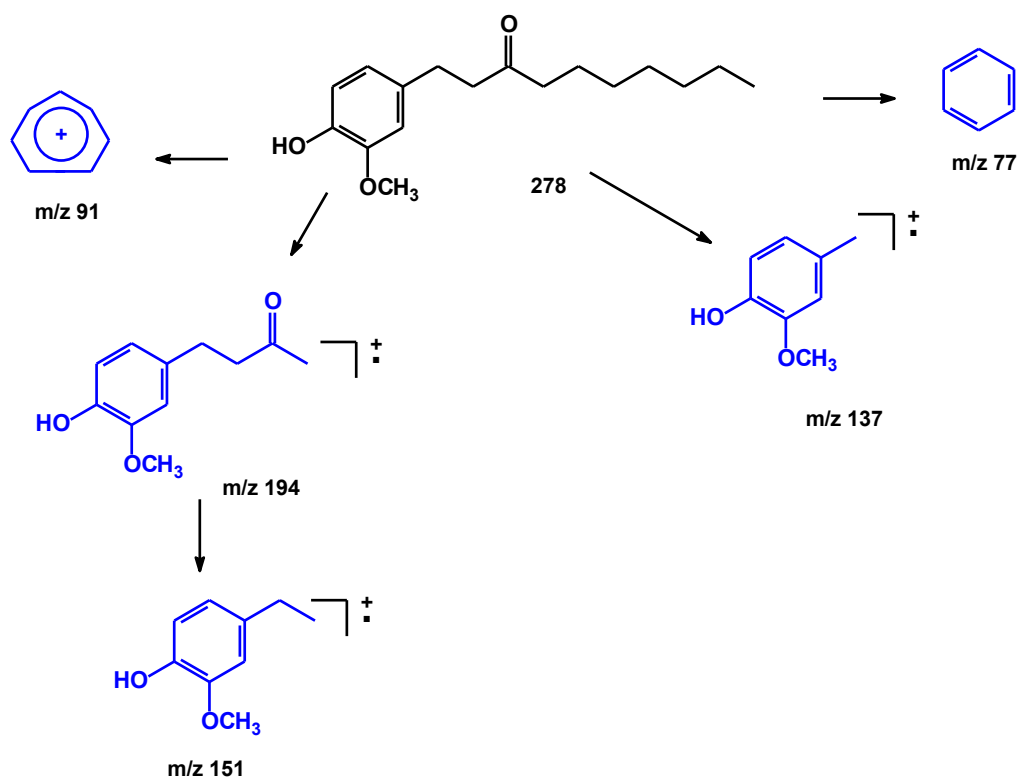
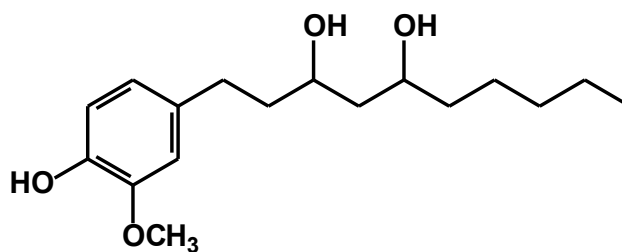


Figura 04 Proposta de fragmentação do composto paradol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



PM 296
 $T_R = 38,31$

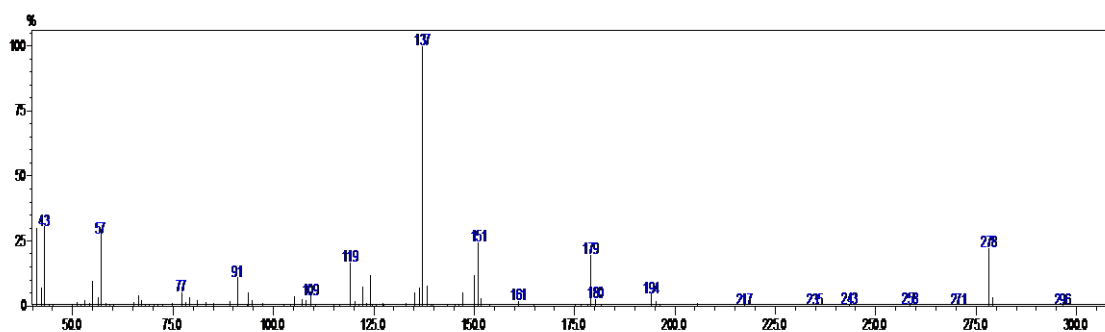


Figura 05 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 38,31$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

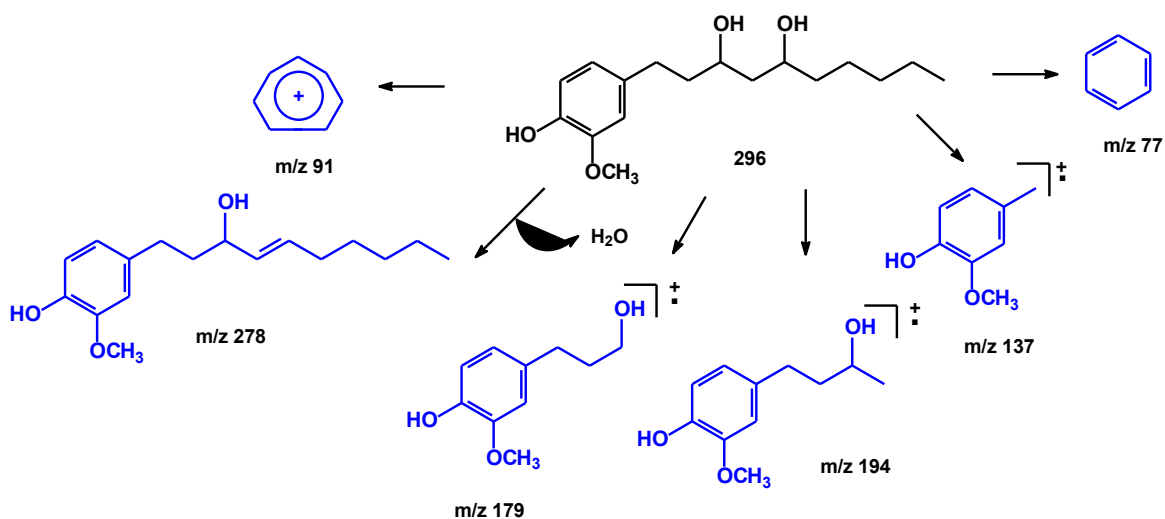
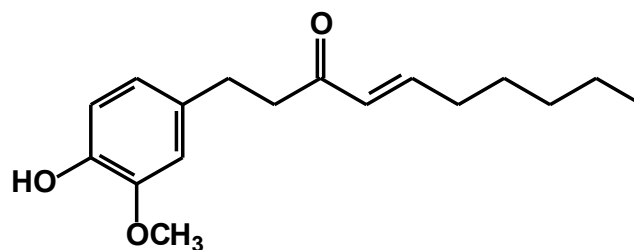


Figura 06 Proposta de fragmentação do composto 6-gingerdiol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



6-Shogol

PM 276
 $T_R = 39,03$

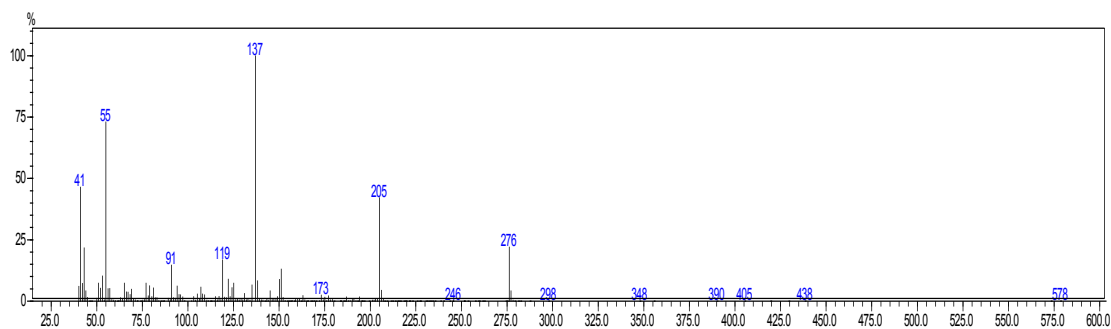


Figura 07 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 39,03$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

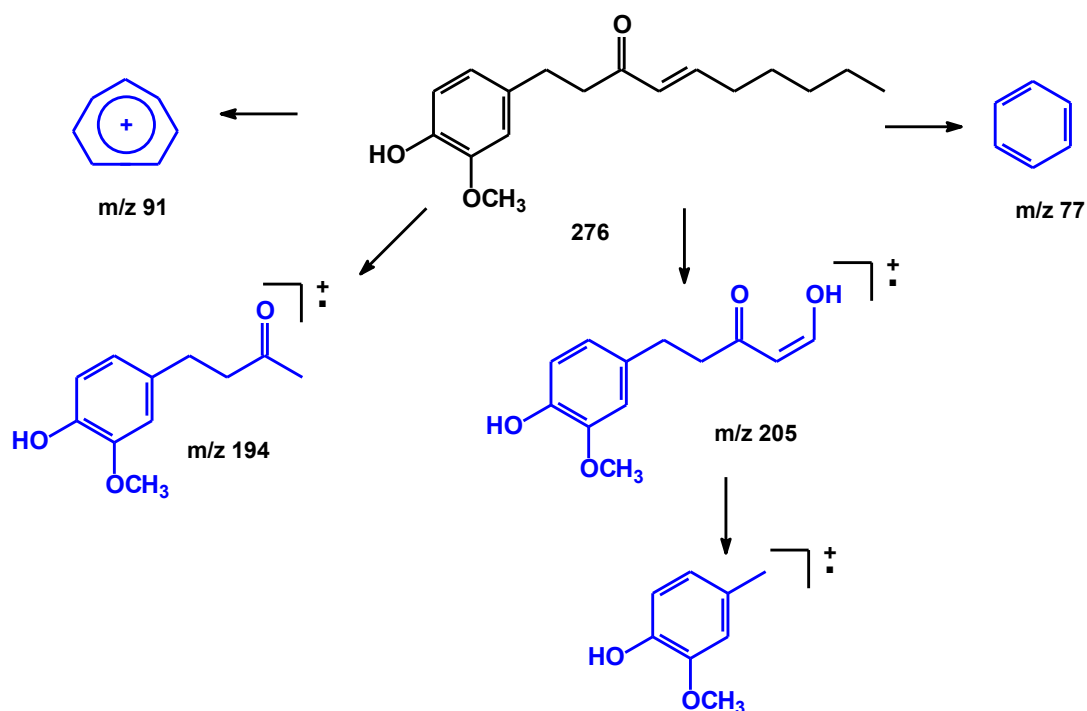
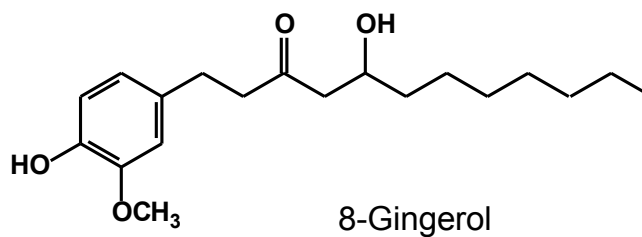


Figura 08 Proposta de fragmentação do composto 6-shogol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



PM 322
 $T_R = 39,56$

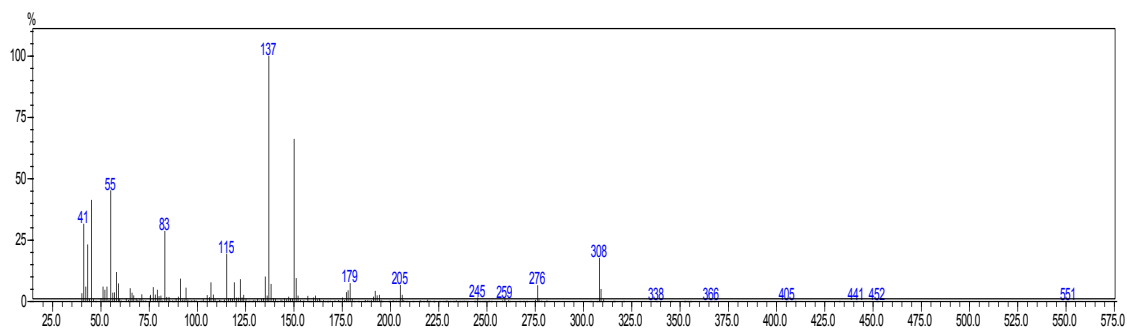


Figura 09 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 39,56$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

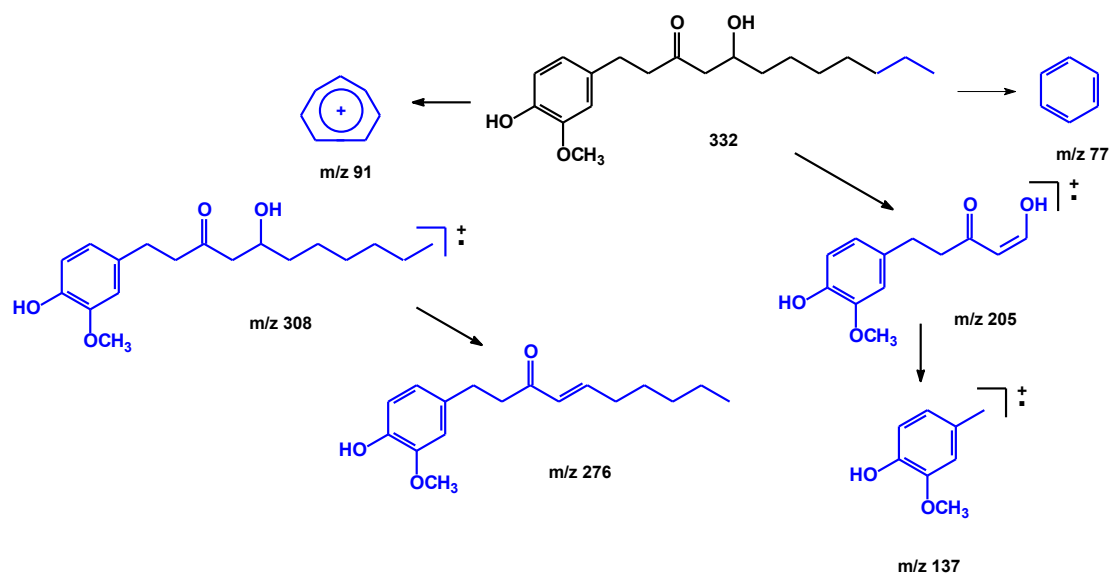
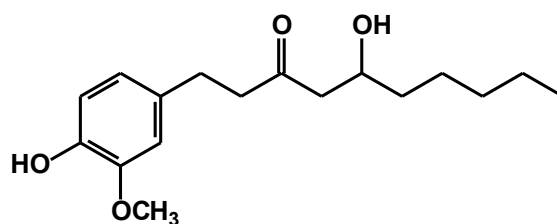


Figura 10 Proposta de fragmentação do composto 8-gingerol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



6-Gingerol

PM 294

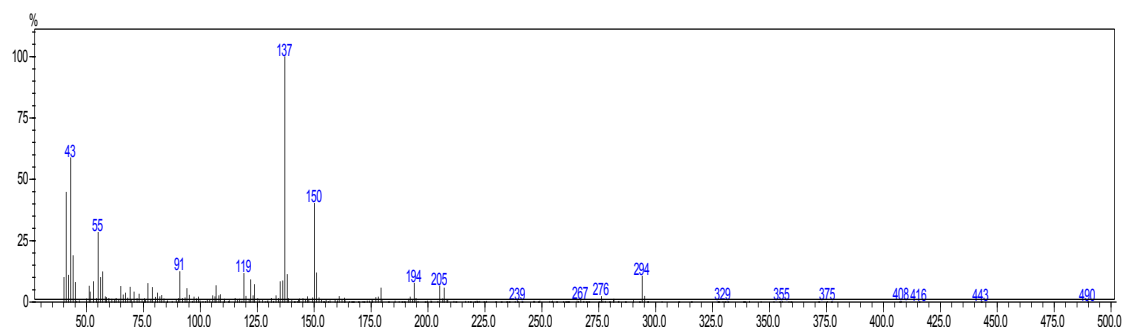
 $T_R = 40,18$ 

Figura 11 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 40,18$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

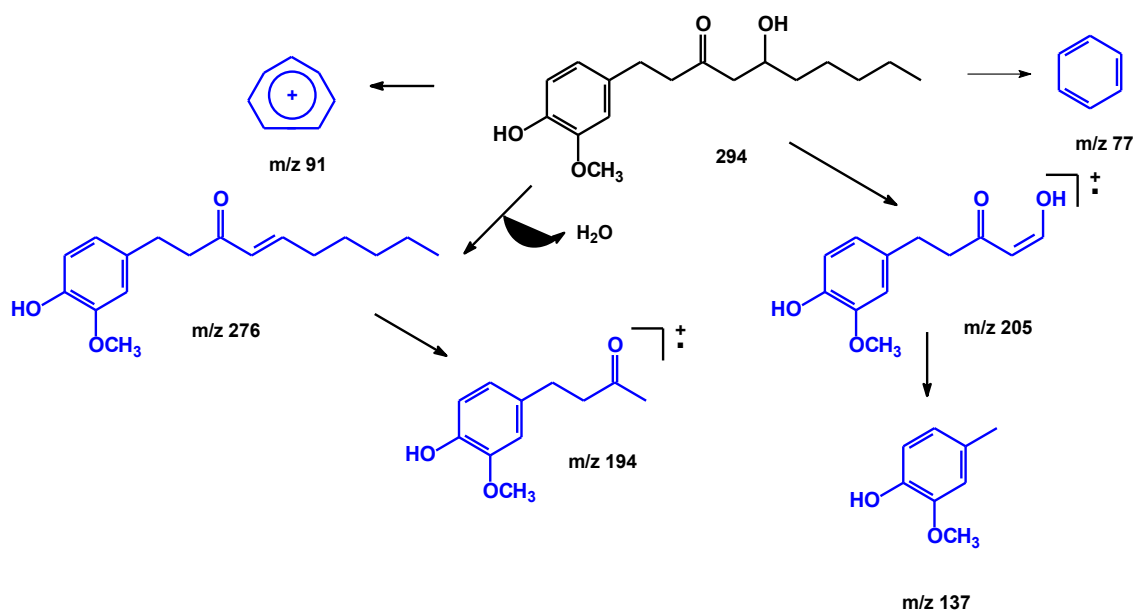
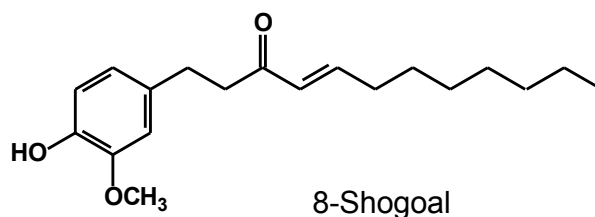


Figura 12 Proposta de fragmentação do composto 6-gingerol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



PM 304
 $T_R = 41,27$

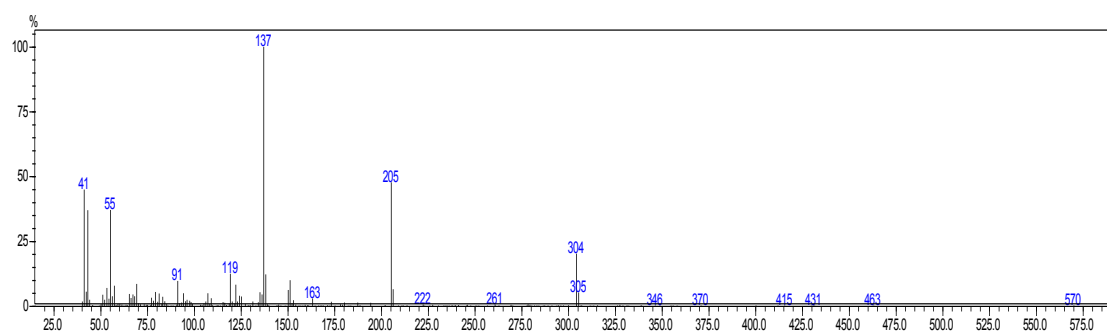


Figura 13 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 41,27$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

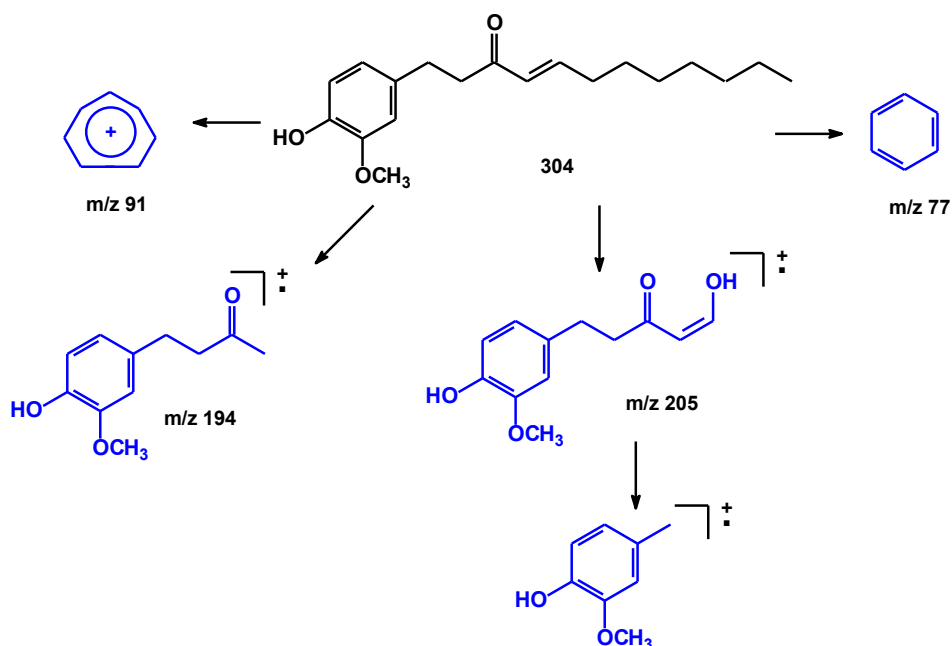
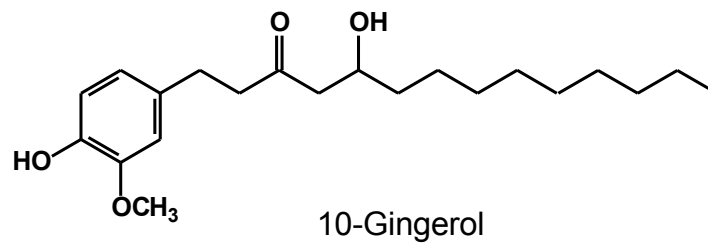


Figura 14 Proposta de fragmentação do composto 8-shogol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



PM 350
 $T_R = 41,72$

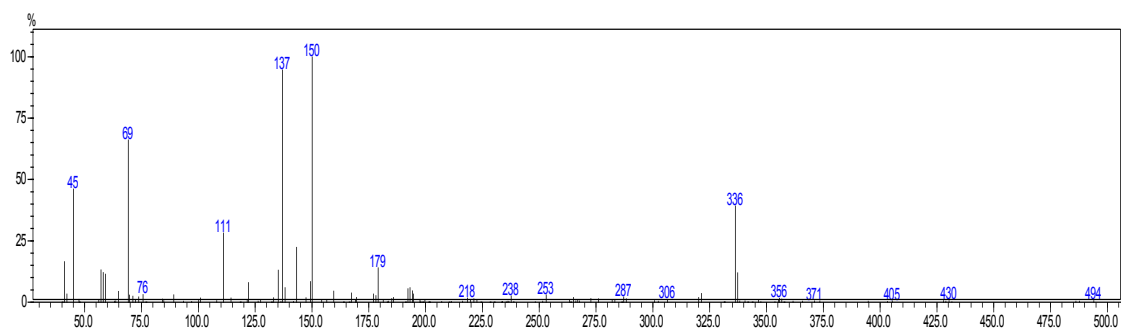


Figura 15 Espectro de massa obtida do pico $T_R = 41,72$ min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

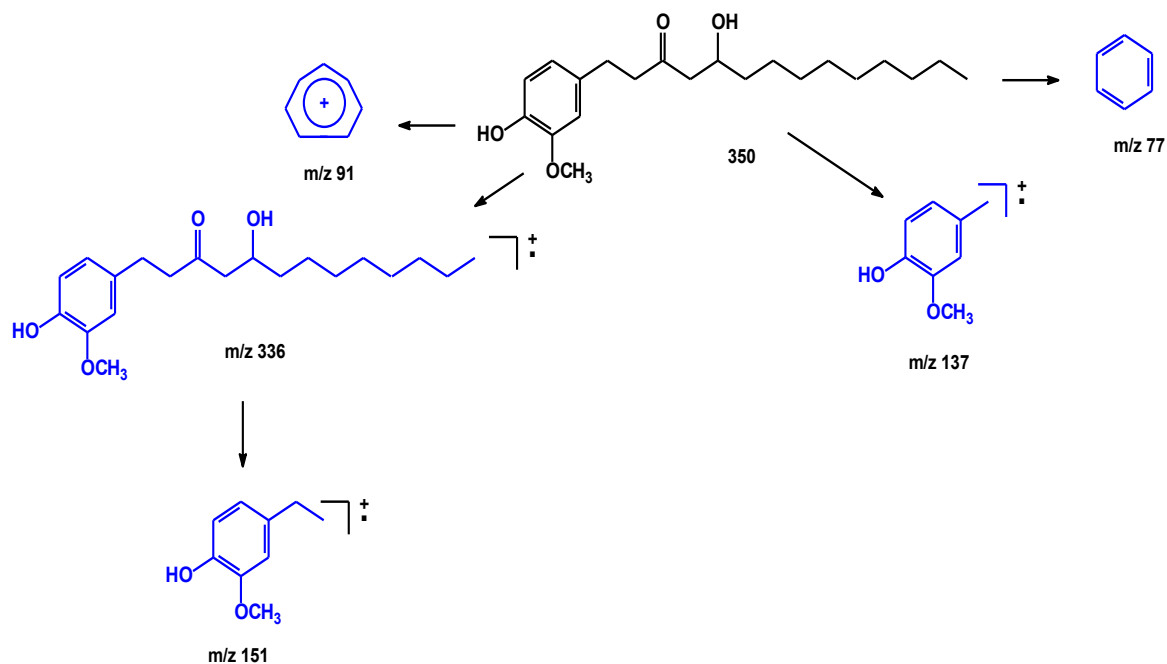
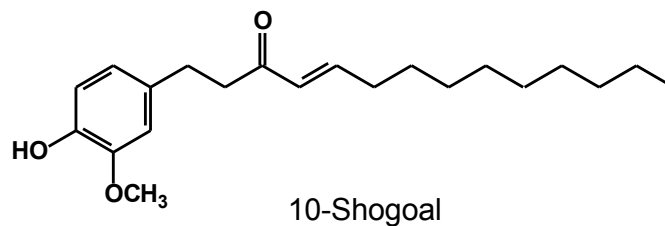


Figura 16 Proposta de fragmentação do composto 10-shogaol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



PM 332
TR = 43,46

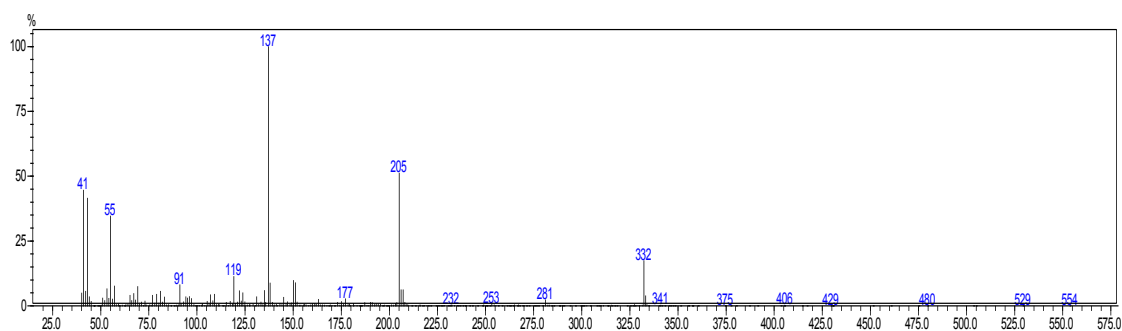


Figura 17 Espectro de massa obtida do pico TR = 43,46 min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

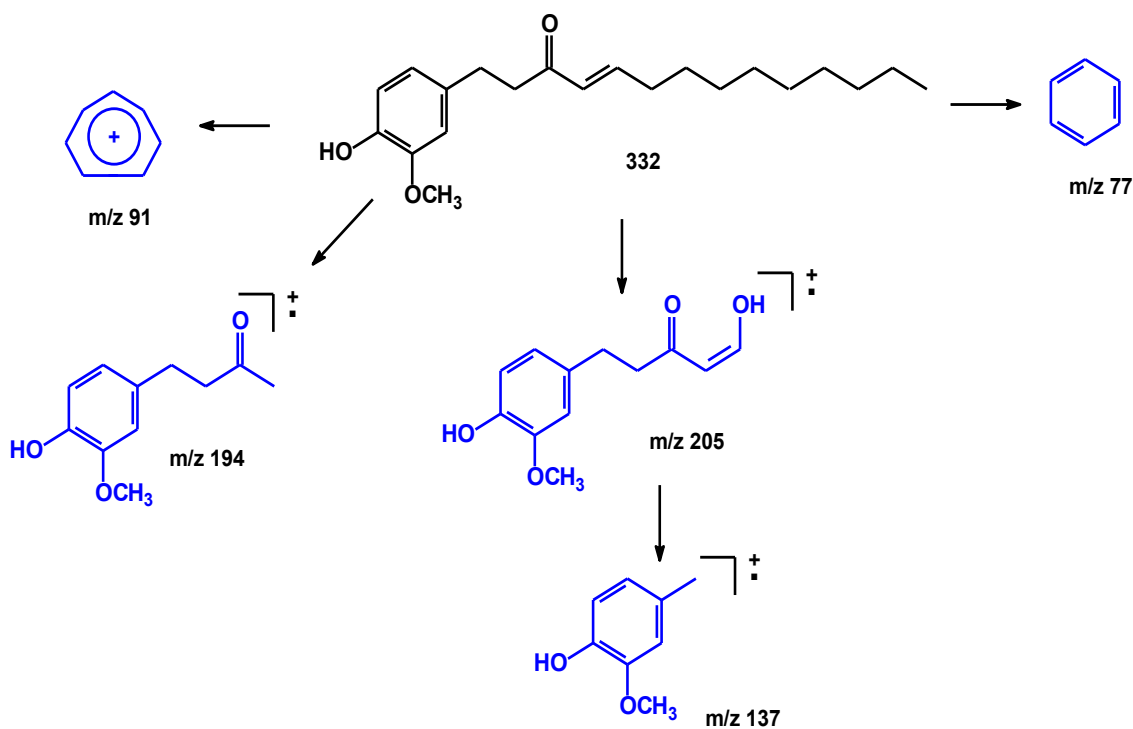
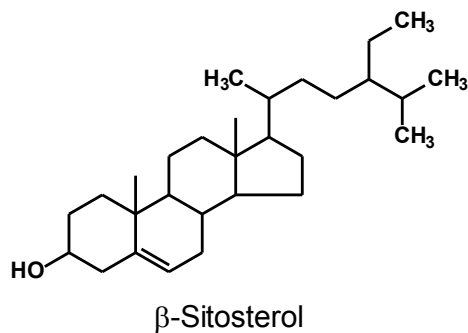


Figura 18 Proposta de fragmentação do composto 10 Shogol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.



PM 414
TR = 53,75

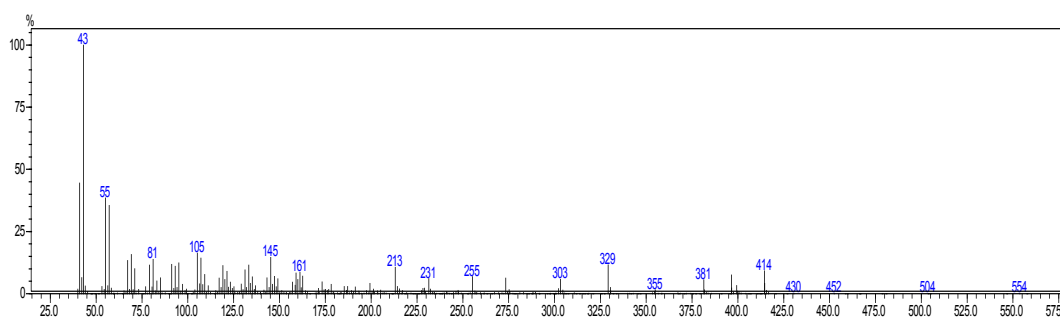


Figura 19 Espectro de massa obtida do pico TR = 53,75 min do extrato ativo etanólico de gengibre (*Zingiber officinale*).

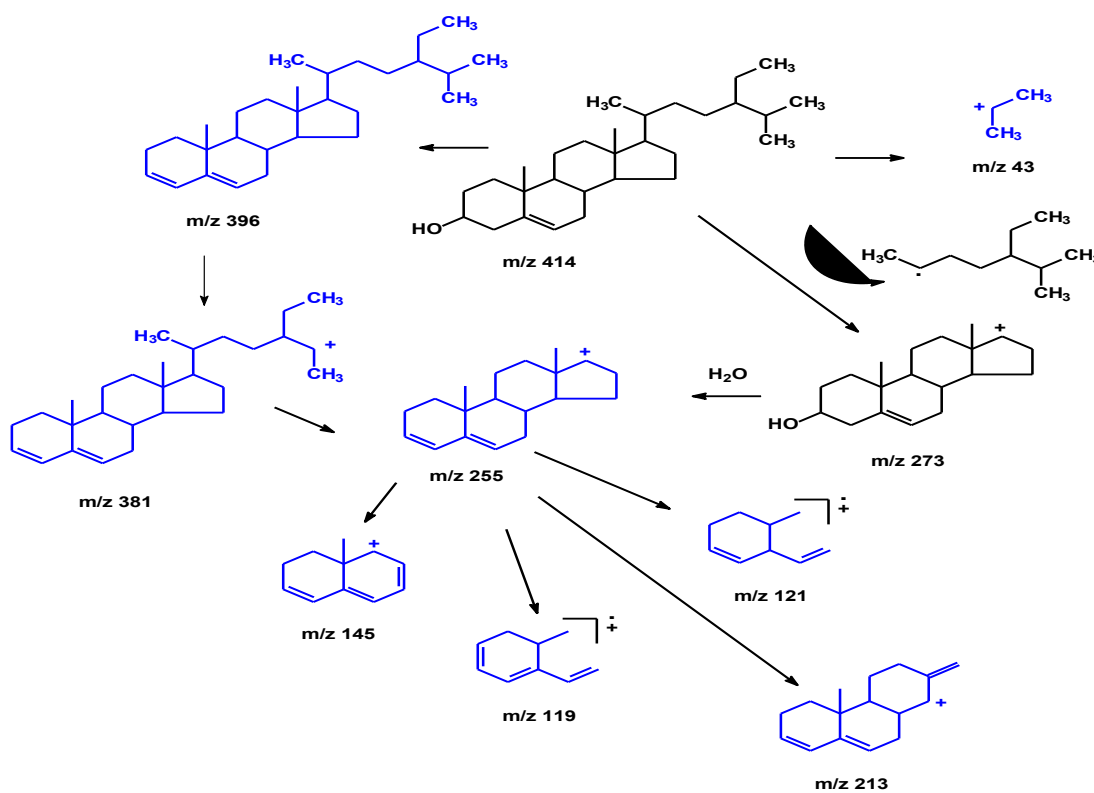


Figura 20 Proposta de fragmentação do composto β -sitosterol, onde fragmentos (em azul) corroboram com a estrutura sugerida.

10. ANEXOS

10.1 ANEXO A: PROTOCOLO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA/UFV certifica que o processo nº 80/2014, intitulado "Avaliação da atividade hipolipidêmica de formulação contendo gengibre *Zingiber Officinale Roscoe* em ratos wistar no modelo de dislipidemia induzido por dieta de cafeteria", coordenado pela professora Tânia Toledo de Oliveira do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, está de acordo com a Legislação vigente (Lei Nº 11.794, de 08 de outubro de 2008), as Resoluções Normativas editadas pelo CONCEA/MCTI, a DBCA (Diretriz Brasileira de Prática para o Cuidado e a Utilização de Animais para Fins Científicos e Didáticos) e as Diretrizes da Prática de Eutanásia preconizadas pelo CONCEA/MCTI, portanto sendo aprovado por esta Comissão em 04/12/2014, com validade de 12 meses.

CERTIFICATE

The Ethic Committee in Animal Use/UFV certify that the process number 80/2014, named "Evaluation of the hypolipidemic activity of formulation containing ginger *Zingiber Officinale Roscoe* in Wistar rats in the model induced dyslipidemia by cafeteria diet", is in agreement with the actual Brazilian legislation (Lei Nº 11.794, 2008), Normative Resolutions edited by CONCEA/MCTI, the DBCA (Brazilian Practice Guideline for the Care and Use of Animals for Scientific Purposes and Teaching) and the Guidelines of Practice the Euthanasia recommended by CONCEA/MCTI therefore being approved by the Committee on December 04, 2014 valid for 12 months.


Prof. Atima Clemente Alves Zuanon

Presidente

Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA/UFV

10.2 ANEXO B: CÁLCULO DO N AMOSTRAL

Para o cálculo do n , usamos uma estimativa de variância (s^2) de uma amostra piloto e da literatura.

Foi utilizada a seguinte fórmula proposta por Callegari-Jacques (2003) e por Cochran (1977) para estimar o tamanho amostral mínimo a ser utilizado:

$$n = \left(\frac{s^2}{(x - \mu)^2} \right) \times (t_{\alpha gl})^2$$

Onde;

n = tamanho amostral mínimo a ser utilizado no estudo;

s = Desvio padrão;

$(x - \mu)$ = Diferença entre a média a ser obtida na amostra e a média verdadeira;

$(t_{\alpha gl})$ = Valores críticos da distribuição de t de Student;

Os valores utilizados no estudo foram baseados no parâmetro de área lesionada, e são os seguintes:

Valores do estudo piloto:

μ (média) = 0,290;

s (desvio-padrão) = 0,226

Valores de estudo prévio (Castro, 2011):

x = 0,597

Cálculo de $(t_{\alpha gl})$:

Para α (nível de significância) adotamos 95%, ($\alpha = 0,05$).

Para gl (graus de liberdade) usamos a fórmula $(n - 1)$. Como não sabemos o “ n ” iremos adotar um “ n_0 ”(n inicial) = 5. Adotamos para n_0 o n utilizado no estudo de Castro, et al (2011) para o parâmetro em questão.

Cálculos:

$(t_{\alpha gl})$: $\alpha = 0,05$;

$gl = (5-1) = 4$;

Então o valor tabelado de $(t_{0,05;4}) = 2,776$

$$n_1 = \left(\frac{s^2}{(x - \mu)^2} \right) \times (\text{tagl})^2 \rightarrow n_1 = \left(\frac{0,226^2}{(0,597 - 0,290)^2} \right) \times (2,776)^2 \rightarrow n_1$$

$$= 4,176$$

$n_1 = 4,176$, logo faz-se a aproximação para o número inteiro subsequente, desta forma $n_1 = 5$.

Como o valor de n_0 e n_1 foram os mesmos, o cálculo foi estabilizado, logo o valor do número mínimo para a amostra será de $n_1 = 5$. Dessa forma, foram necessários no mínimo 5 animais para estimar com 95% de confiança, a média da área lesionada no estudo citado. Serão utilizados **seis animais por grupo** a fim de manter um grau de confiabilidade do número de animais frente a possibilidade de óbito no decurso da experimentação.