

UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

FERNANDA ASSIS ALMEIDA DE ÁVILA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA DO CÓRTEX MOTOR E DO GIRO DENTEADO EM
ANIMAIS HIPERLIPIDEMICOS E TRATADOS COM *Maytenus ilicifolia***

Uberlândia

2026

FERNANDA ASSIS ALMEIDA DE ÁVILA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA DO CÓRTEX MOTOR E DO GIRO DENTEADO EM
ANIMAIS HIPERLIPIDEMICOS E TRATADOS COM *Maytenus ilicifolia***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Graciele Zanon
Coorientadora: Dra. Fernanda Naves Araújo do
Prado Mascarenhas

Uberlândia

2026

FERNANDA ASSIS ALMEIDA DE ÁVILA

**ANÁLISE MORFOLÓGICA DO CÓRTEX MOTOR E DO GIRO DENTEADO EM
ANIMAIS HIPERLIPIDEMICOS E TRATADOS COM *Maytenus ilicifolia***

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
ao Instituto de Ciências Biomédicas da
Universidade Federal de Uberlândia como
requisito parcial para obtenção do título de
bacharel em Biomedicina.

Orientadora: Profa. Dra. Renata Graciele Zanon
Coorientadora: Dra. Fernanda Naves Araújo do
Prado Mascarenhas

Uberlândia, 27 de julho de 2026

Banca Examinadora:

Profa. Dra. Renata Graciele Zanon – (UFU)

Dr. Bruno Antônio Ferreira – (UFU)

Dra. Tária Gonçalves do Carmo Oliveira – (Externo)

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha mãe, Fabiana, por fazer até o impossível para garantir a realização dos meus sonhos. Foi você que sempre segurou minha mão, independentemente de qualquer coisa, e eu tenho plena certeza de que absolutamente nada disso teria sido possível sem você. Aos meus irmãos: Marcos Filho, Pedro Henrique e Felipe, obrigada por serem inspiração para a irmã mais nova de vocês e me ajudarem tanto com seus conselhos quanto com suas distrações. E é claro, à minha sobrinha Emilia por encher nossas vidas de ainda mais amor e alegria. E ao restante da família, que me apoia, também deixo meus agradecimentos.

Gostaria de agradecer também aos meus amigos de infância, especialmente Luana e Eduardo, que acompanham a minha trajetória não só desde o início da faculdade, como o caminho até chegar nela. Não só eles, como também meus outros amigos tanto de Ituiutaba quanto de Uberlândia, obrigada por me trazem alegria diariamente e tornarem a minha vida mais leve. Ao meu grupo da faculdade, que acompanhou, compartilhou e dividiu tanto os meus surtos com todas as atribulações, quanto gostosas risadas, sou grata pela amizade de cada um e toda a ajuda de vocês para que eu conseguisse chegar até aqui. E à LAGEM que não só me proporcionou experiências únicas e indescritíveis, acadêmicas e pessoais, como também me permitiu fazer mais amizades especiais.

Agradeço à toda equipe do LAMOC pelo acolhimento, especialmente minha orientadora, professora doutora Renata Zanon, obrigada pela oportunidade de ingressar no laboratório e por todos os ensinamentos e orientações. Também minha coorientadora e xará, doutora Fernanda Mascarenhas, que me ensinou e acompanhou de perto a realização da maioria dos experimentos e, mesmo de longe, continuou me auxiliando.

Por fim, gostaria de agradecer à Universidade Federal de Uberlândia por ser o local onde pude concretizar o sonho de cursar Biomedicina.

RESUMO

A hiperlipidemia é um distúrbio metabólico caracterizado pelo aumento dos níveis de lipídios circulantes e está associada à inflamação sistêmica, ao estresse oxidativo e ao desenvolvimento de alterações estruturais no sistema nervoso central. Nesse contexto, compostos naturais com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa), têm despertado interesse devido ao seu potencial neuroprotetor. O presente estudo teve como objetivo investigar diferenças morfométricas no córtex motor e no giro denteado do hipocampo de camundongos normolipidêmicos, hiperlipidêmicos e hiperlipidêmicos tratados via gavagem com extrato etanólico de *Maytenus ilicifolia* com o intuito de verificar se haveria diferenças nessas regiões que podem estar associadas a doenças neurais. Foram utilizados 16 camundongos C57BL/6 distribuídos em quatro grupos experimentais: normolipidêmico, hiperlipidêmico, hiperlipidêmico tratado com 100 mg/kg do extrato e hiperlipidêmico tratado com 400 mg/kg do extrato. A hiperlipidemia foi induzida pela administração de Tyloxapol durante 21 dias. Após a eutanásia, os cérebros foram coletados, processados para análise histológica e corados pelo método de Nissl. A avaliação morfológica incluiu a mensuração da espessura do córtex motor, da espessura das camadas do giro denteado e da densidade e área neuronal, utilizando o software ImageJ. Os resultados demonstraram redução significativa da espessura cortical nos animais hiperlipidêmicos em comparação aos normolipidêmicos, sem alterações na densidade neuronal cortical. No giro denteado, animais tratados com 100 mg/kg de *Maytenus ilicifolia* mostraram maior espessura da camada granular, além de tendência de preservação da camada molecular em relação ao animal não tratado. Esses achados sugerem que a hiperlipidemia promove alterações morfométricas cerebrais e que *Maytenus ilicifolia* apresenta potencial efeito neuroprotetor.

Palavras-chave: hiperlipidemia; *Maytenus ilicifolia*; neuroproteção; córtex cerebral; giro denteado; morfometria.

ABSTRACT

Hyperlipidemia is a metabolic disorder characterized by elevated circulating lipid levels and is associated with systemic inflammation, oxidative stress, and the development of structural alterations in the central nervous system. In this context, natural compounds with antioxidant and anti-inflammatory properties, such as *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa), have attracted interest due to their potential neuroprotective effects. The present study aimed to investigate morphometric differences in the motor cortex and dentate gyrus of the hippocampus in normolipidemic, hyperlipidemic, and hyperlipidemic mice treated with an oral gavage of the ethanolic extract of *Maytenus ilicifolia* to verify if there would be differences in these regions that could be related to neural diseases. Sixteen C57BL/6 mice were divided into four experimental groups: normolipidemic, hyperlipidemic, hyperlipidemic treated with 100 and 400 mg/kg of the extract. Hyperlipidemia was induced with Tyloxapol for 21 days. After euthanasia, the brains were collected and processed for histological analysis using Nissl staining. The morphological analyses included measurements of motor cortex thickness, dentate gyrus layer thickness, neuronal area and density, performed using ImageJ software. The results demonstrated a significant reduction in cortical thickness in hyperlipidemic animals compared with normolipidemic animals, without changes in cortical neuronal density. In the dentate gyrus, animals treated with 100 mg/kg of *Maytenus ilicifolia* showed greater thickness of the granular layer, as well as a tendency toward preservation of the molecular layer compared with untreated hyperlipidemic animals. These findings suggest that hyperlipidemia promotes morphometric alterations in the brain and that *Maytenus ilicifolia* exhibits potential neuroprotective effects.

Keywords: hyperlipidemia; *Maytenus ilicifolia*; neuroprotection; cerebral cortex; dentate gyrus; morphometry.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	3
1.1 Hiperlipidemia e sistema nervoso	3
1.2 Modelo animal para hiperlipidemia	6
1.3 <i>Maytenus ilicifolia</i> e neuroproteção	6
2 JUSTIFICATIVA	7
3 OBJETIVOS	8
3.1 Geral	8
3.2 Específicos	8
4 METODOLOGIA	8
4.1 Preparo do extrato	8
4.2 Animais	8
4.3 Indução da doença e tratamentos	9
4.4 Extração do material biológico e confecção de lâminas	10
4.5 Análises	11
4.5.1 <i>Morfometria</i>	11
4.5.2 <i>Análise estatística</i>	13
5 RESULTADOS	14
6 DISCUSSÃO	17
7 CONCLUSÃO	20
REFERÊNCIAS	21
ANEXO A – COMPROVANTE DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS	28

1 INTRODUÇÃO

1.1 Hiperlipidemia e sistema nervoso

A hiperlipidemia é uma doença crônica caracterizada por níveis elevados de lipídeos na corrente sanguínea, incluindo colesterol e triglicerídeos, e pode surgir a partir de fatores de risco como desordens genéticas, consumo excessivo de alimentos gordurosos e distúrbios metabólicos (Chen et al., 2022). Aproximadamente 39% da população adulta mundial apresenta hiperlipidemia, condição que pode levar a complicações graves com impacto significativo na saúde e na qualidade de vida (Quan; Yin; Zhang, 2025). No Brasil, de acordo com as análises laboratoriais da Pesquisa Nacional de Saúde (PNS) entre os anos de 2014 e 2015, foi encontrada uma prevalência de 32,7% de colesterol total elevado na população (Malta et al., 2019).

Os lipídeos são compostos orgânicos essenciais para os seres vivos, desempenhando múltiplas funções. Eles integram a estrutura das membranas celulares, atuam como reserva de energia, podem servir como cofatores enzimáticos, funcionar como mensageiros intracelulares e, em muitos casos, exercer o papel de hormônios (Karam; Yang; Li, 2017). O desenvolvimento, manutenção e funcionamento do Sistema Nervoso Central (SNC) dependem de diversas moléculas, dentre elas os lipídeos (Jantsch et al., 2021).

Embora essenciais para a homeostase cerebral, alterações no metabolismo dos lipídeos podem resultar no seu acúmulo anormal no tecido nervoso (Wilfling et al., 2013). Nesse contexto, a dislipidemia tem sido associada a um maior risco de desenvolvimento de comportamentos depressivos e ansiosos, e ao comprometimento da memória (Zhuang et al., 2022).

O encéfalo concentra a maior quantidade de colesterol do corpo humano, e esse lipídeo é fundamental, pois participa tanto da neurogênese quanto da sinaptogênese, evidenciando sua importância na estruturação e funcionamento desse órgão (Shin; Moussa; Park, 2024). Ademais, o colesterol atua como precursor da síntese de hormônios esteroides, incluindo os glicocorticoides, que além da capacidade de ultrapassar a barreira hematoencefálica (BHE), conseguem ultrapassar a membrana neuronal (O'Léime; Cryan; Nolan, 2017).

A neurogênese adulta corresponde ao processo de geração, diferenciação e integração de novos neurônios aos circuitos neuronais preexistentes, ela ocorre em nichos no quais as células-tronco neurais se

encontram em associação aos vasos sanguíneos e, dessa maneira, sinais provenientes da vasculatura e das células neuronais maduras influenciam a sua performance (Ozek et al., 2018; Rafii; Butler; Ding, 2016). Ela é descrita ocorrendo principalmente em duas regiões do cérebro adulto: a zona subventricular dos ventrículos laterais e a zona subgranular do giro denteado, migrando até o bulbo olfatório ou a camada granular do giro denteado, respectivamente, onde se incorporam aos circuitos neurais existentes (Aimone et al., 2014). Contudo, de acordo com os indícios, em humanos, os níveis de neurogênese na zona subventricular não são tão expressivos quanto em roedores (Spalding et al., 2013).

O hipocampo é caracterizado por suas funções de formação e controle da memória, navegação espacial e regulação emocional (Bryant; Barker, 2020). Ele é subdividido em três regiões principais: giro denteado, formado especialmente por células granulares que constituem a parte terminal do hipocampo próxima a fissura hipocampal, cornu ammonis, que é composto pelas regiões CA1, CA2, CA3 e CA4, e subículo (Mufson et al., 2015). Uma pesquisa realizada com camundongos knockout para o receptor de lipoproteína de baixa densidade (LDLR $^{-/-}$) observou diminuição da neurogênese e da proliferação celular no giro denteado, ocasionando alterações comportamentais relacionadas a essa estrutura (Engel et al., 2019).

Alterações no metabolismo lipídico no SNC têm sido associadas a diversas doenças neurodegenerativas, como Alzheimer, Parkinson, Huntington e Esclerose Amiotrófica Lateral (ELA) (Jin; Park; Park, 2019). Além disso, evidências indicam que a hiperlipidemia, por induzir inflamação sistêmica e estresse oxidativo, os quais comprometem o tecido nervoso, pode agravar a progressão da esclerose múltipla (Weinstock-Guttman et al., 2011). Estudos também demonstram que dietas ricas em lipídeos estão associadas à disfunção da BHE, promovendo aumento de sua permeabilidade e alterações estruturais vasculares em modelos animais (Cavaliere et al., 2023). Ademais, a hiperlipidemia está relacionada a níveis elevados de lipoproteína de baixa densidade oxidada (oxLDL), que, ao serem reconhecidas pelos receptores presentes nas membranas neuronais, ativam enzimas responsáveis pela geração de espécies reativas de oxigênio (EROs) nos neurônios (Wu; Cao; He; Xiong, 2012).

Estudos com camundongos knockout para o receptor de LDL (LDLr $^{-/-}$) indicam que as deficiências cognitivas estão associadas a disfunção mitocondrial, neuroinflamação, aumento da atividade da acetilcolinesterase, alterações sinápticas, apoptose hipocampal e estresse oxidativo (Oliveira; Moreira; Bem, 2024). O cérebro é altamente vulnerável ao estresse oxidativo devido aos baixos níveis de antioxidantes, elevada demanda energética e abundância de lipídeos passíveis de peroxidação (Penna et al., 2020). Assim, doenças neurodegenerativas, caracterizadas pela disfunção progressiva dos neurônios, dependem da integridade da neuroglia, sensível à inflamação e ao estresse oxidativo (Yang et al., 2022). A ativação da micróglia libera citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 β , IFN- α , IFN- γ e TNF- α , que são determinantes na manipulação da neurogênese hipocampal, afetando a proliferação, diferenciação e maturação das células progenitoras neuronais (Borsini et al., 2015).

Análises executadas por meio de randomização mendeliana sugerem uma relação causal entre os níveis de lipídios sanguíneos e variações na estrutura cerebral, incluindo alterações na área de superfície cortical e na espessura cortical (Zeng et al., 2023). A diminuição da espessura cortical tem sido associada ao declínio das funções cognitivas, configurando-se como um biomarcador estrutural relevante dos processos neurodegenerativos observados em desordens como a doença de Alzheimer (Subotic et al., 2021). Ademais, levando em consideração o papel fundamental do hipocampo na memória e em outras habilidades cognitivas, a sua atrofia também é correlacionada à diminuição cognitiva (Bashir et al., 2025).

Atualmente, as estatinas, como a sinvastatina, inibem a enzima 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA redutase (HMG-CoA redutase) e estão entre os principais fármacos utilizados para tratar hiperlipidemia devido à sua efetividade (Mansouri et al., 2022). Apesar disso, podem causar mialgia em até 10% dos pacientes, com taxas mais elevadas em estudos observacionais (Pergolizzi Jr et al., 2020). Evidências em humanos também sugerem piora da neuropatia, sobretudo com estatinas lipofílicas (Iqbal et al., 2021), além de impacto negativo sobre a cognição, tempo de reação e área cortical (Rosoff et al., 2022). Diante desses efeitos adversos, torna-se necessário o desenvolvimento de alternativas terapêuticas mais eficazes e seguras (Wang et al., 2025).

1.2 Modelo animal para hiperlipidemia

Camundongos são amplamente empregados com o intuito de simular doenças humanas para que os pesquisadores possam desenvolver estratégias terapêuticas e potenciais curas (Hickman et al., 2016). Eles são ferramentas fundamentais para o estudo da genética e dos mecanismos patofisiológicos de doenças humanas (Lutz; Osborne, 2013). No contexto da hiperlipidemia, esses indivíduos apresentam alterações metabólicas semelhantes às observadas em humanos, permitindo assim a investigação dos mecanismos moleculares da doença no tecido nervoso (Kennedy et al., 2010).

O uso do detergente não iônico Triton WR1339 (*Tyloxapol*) é relatado em diversas pesquisas para a indução da hiperlipidemia em animais (Xiao et al., 2023; Ibrahim et al., 2016; Khelifi et al., 2019). Ele atua inibindo a atividade da lipoproteína lipase, causando a estimulação da HMG-CoA redutase, o que resulta no acúmulo de triglicerídeos e no aumento da biossíntese de colesterol (Jo et al., 2014; Ramos et al., 2021; Zarzecki et al., 2014). Frações isoladas de diferentes espécies vegetais têm sido avaliadas em modelos murinos para quantificar o efeito anti-hiperlipidêmico e esclarecer os seus mecanismos de ação (Liu et al., 2022).

De modo geral, o uso de roedores tem sido crucial para o entendimento do neurodesenvolvimento e das desordens neurais (Zhao; Bhattacharyya, 2018). Nesse contexto, estudos com compostos vegetais têm mostrado indicativos de seus efeitos neuroprotetores, como é o caso da curcumina em modelos murinos de Parkinson ao modular vias metabólicas e inflamatórias essenciais (Cui et al., 2022). Em outra pesquisa, o tratamento com o extrato de *Stephania japonica* melhorou a memória e aprendizagem de camundongos ao reduzir a atividade da acetilcolinesterase e o estresse oxidativo (Lim et al., 2024).

1.3 *Maytenus ilicifolia* e neuroproteção

A *Maytenus ilicifolia*, conhecida popularmente como “espinheira-santa”, é uma planta brasileira utilizada para tratar doenças do trato gastrointestinal e inflamações devido às suas propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias e cicatrizantes (Silva; Leite; Vasconcelos, 2022). Essa espécie é nativa da região Sul do Brasil, do Paraguai, do Uruguai e da porção norte da Argentina (Veloso et al., 2017). As folhas de várias espécies de *Maytenus* são utilizadas

tradicionalmente por indígenas como infusões contra disfunções gástricas (Rocha et al., 2004). Além disso, ela é um dos 12 medicamentos fitoterápicos encontrados na Relação Nacional de Medicamentos Essenciais (Rename) ofertados pelo Sistema Único de Saúde (SUS) (Brasil, 2026).

As folhas dessa espécie possuem uma alta variedade de classes de compostos, dentre eles os alcaloides, flavonoides, fenóis e taninos que podem apresentar possíveis efeitos anti-hiperlipidêmicos (Zhang et al., 2020). Estudos realizados com outras espécies de plantas revelaram que os triterpenos, mais um de seus constituintes, apresentam efeitos hipolipemiantes em roedores (Santos et al., 2012).

Uma das substâncias encontradas em grandes concentrações, os polifenóis, modulam estresse oxidativo e peroxidação lipídica, demonstrando uma possível base para efeitos neuronais protetores (De Souza et al., 2008). Esses polifenóis interagem com a superfície do LDL, protegendo-o da ação de radicais livres e inibindo a peroxidação lipídica por meio do controle da produção de espécies reativas de oxigênio, além de inibirem a acetilcolinesterase, um mecanismo relevante para tratamento de demências (Bittar et al., 2024). Compostos semelhantes, encontrados em outras plantas, já demonstraram potencial antioxidante com efeitos promissores no tratamento de doenças cerebrais associadas ao estresse oxidativo e à inflamação, como as doenças neurodegenerativas (Jurikova et al., 2025).

2 JUSTIFICATIVA

A relevância desse trabalho reside na pesquisa das possíveis alterações morfológicas cerebrais decorrentes da hiperlipidemia, considerando sua possível relação com processos neurodegenerativos, já que os efeitos dessa doença não são tão estudados nesse tecido quanto em outros, como é o caso do tecido cardíaco e hepático. Ao investigar o potencial efeito protetor da *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa) no tecido neural, esse estudo contribui para a investigação de abordagens terapêuticas de origem natural capazes de reduzir os danos originados por alterações metabólicas. Dessa forma, os achados, além de serem responsáveis por ampliar a compreensão dos mecanismos envolvidos na neuroproteção, podem fornecer subsídios para o desenvolvimento de

intervenções mais seguras e acessíveis, com potencial impacto na saúde pública e prevenção de doenças neurológicas.

3 OBJETIVOS

3.1 Geral

Investigar diferenças morfométricas no cérebro de camundongos normolipidêmicos em relação aos hiperlipidêmicos não tratados e aos tratados com *Maytenus ilicifolia*.

3.2 Específicos

- Medir as distâncias correspondentes às espessuras do córtex motor e do giro denteado do hipocampo e comparar entre os grupos.
- Medir a densidade de neurônios corticais e a área deles e comparar entre os grupos.

4 METODOLOGIA

4.1 Preparo do extrato

A escolha do extrato etanólico deu-se após análise de citotoxicidade de diferentes extratos da planta em cultura celular e esse não apresentou efeito tóxico para as células. Para a obtenção do extrato etanólico, foi executado o procedimento de maceração estática, no qual foram utilizados 800 gramas de folhas secas de *Maytenus ilicifolia* em 4 litros de etanol 98% de pureza durante sete dias em temperatura ambiente e protegido de luz. No sétimo dia, a solução foi filtrada com filtro de papel comum e o solvente remanescente foi removido por processo de rotaevaporação (Buchi Rotavapor R-215, Suíça) a 40°C sob pressão controlada e reduzida. Após a rotaevaporação, o extrato etanólico de *M.ilicifolia* foi submetido à liofilização (L101, Liotop, Brasil) para completa retirada de água na amostra.

4.2 Animais

Todos os procedimentos com os animais foram aprovados pelo Comitê de Ética de Uso Animal (CEUA) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU) pelo protocolo 039/19. O modelo utilizado foi de camundongos machos da linhagem

C57BL/6 com 6 semanas de idade, livres de germes patogênicos específicos, obtidos e mantidos na Rede de Biotérios de Roedores (REBIR) da UFU. Os animais foram alojados no biotério com ciclo de 12h claro-escuro e temperatura controlada ($20 \pm 2^\circ\text{C}$) com ração e água *ad libitum*. Foram utilizados 16 camundongos ($n = 4$ por grupo), sendo 4 grupos distribuídos conforme a Tabela 1. A hiperlipidemia foi comprovada através da análise de colesterol total e triglicerídeos no soro sanguíneo extraído dos animais pela veia da cauda, considerando os valores de referência para camundongos C57BL/6 propostos por Santos et al. (2016), que variam de 80 a 100 mg/dL para colesterol e 80 a 120 mg/dL para triglicerídeos. Essa quantificação foi realizada através do método de Folch (1957), que utiliza uma solução de metanol e clorofórmio para separar os lipídios da sua associação com outros componentes celulares e posterior adição de solução salina para separação das fases:

Tabela 1 – Distribuição dos camundongos em grupos experimentais

Grupo	Condição	Colesterol (mg/dL)	TG (mg/dL)	Tratamento	Dose (mg/Kg)
1	Normolipidêmico	90,31 $\pm$ 1,8	45,2 $\pm$ 5,7	Não tratado	-
2	Hiperlipidêmico	247,64 $\pm$ 4,1	629,4 $\pm$ 7,7	Não tratado	-
3	Hiperlipidêmico	104,73 $\pm$ 5,5	45,1 $\pm$ 6,5	Extrato etanólico	100
4	Hiperlipidêmico	220,33 $\pm$ 2,8	150,3 $\pm$ 8,6	Extrato etanólico	400

Fonte: Própria autora (2026).

4.3 Indução da doença e tratamentos

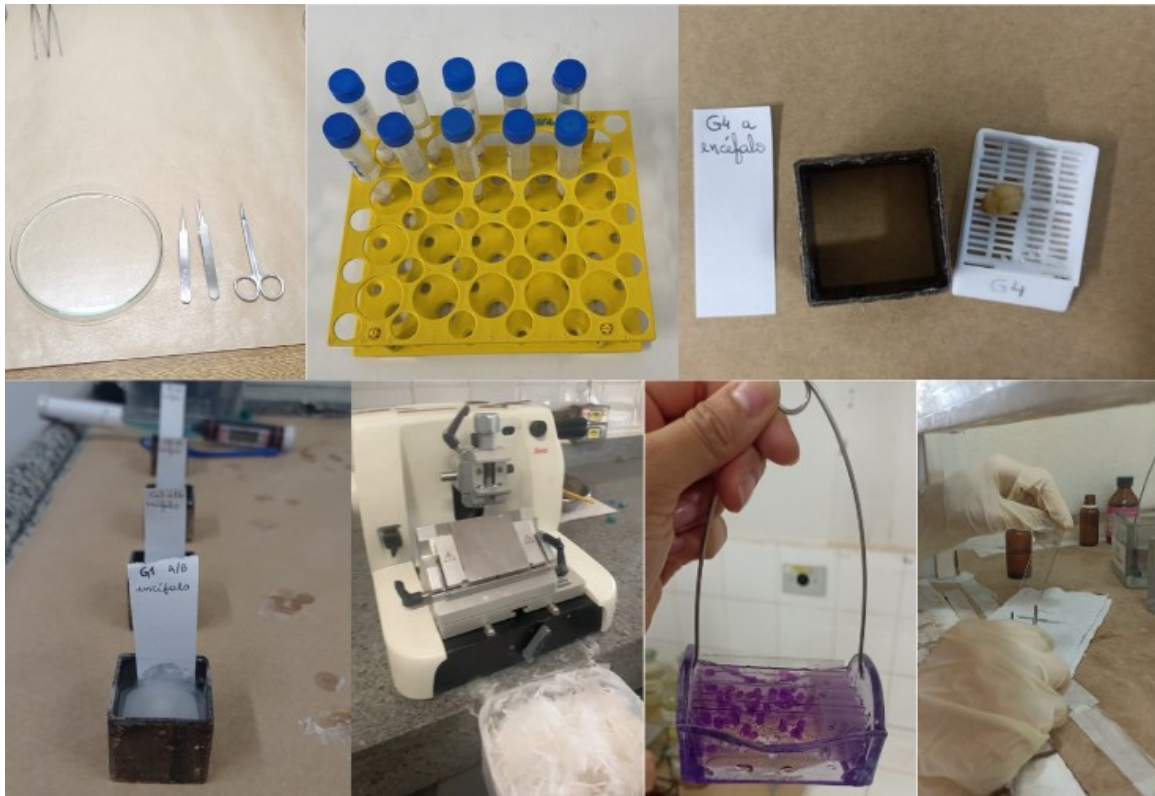
A indução da hiperlipidemia foi feita com o *Tyloxapol* (Triton WR1339) por meio de injeção intraperitoneal de 400 mg/Kg (Oh; Lee; Lim, 2006) a cada 48 horas, pois já foi demonstrado que após esse período os valores de colesterol retornam aos basais, sendo que os animais não induzidos receberam a mesma dose intraperitoneal de solução salina. Para a dosagem correta, todos eram previamente pesados em balança analítica. Os animais também receberam gavagem todos os dias da execução, sendo os dois primeiros grupos com salina e os outros dois com as respectivas concentrações do extrato etanólico da planta

(100 mg/Kg no grupo 3 e 400 mg/Kg no grupo 4). O período do experimento foi de 21 dias.

4.4 Extração do material biológico e confecção de lâminas

Após a eutanásia dos animais, os cérebros foram dissecados e colocados no fixador Carnoy em volume 10 vezes maior que o volume dos tecidos por cerca de 3 horas. Em seguida, os materiais foram colocados em cassetes histológicos e submersos em soluções crescentes de álcool para desidratação (70%; 80%; 90% e 100% I, II e III), ficando por 1 hora em cada uma das soluções. Para que o álcool pudesse ser removido, os tecidos foram submersos em xilol dentro de capela de exaustão, efetuando-se duas trocas (xilol I e II), também por 1 hora em cada. A parafina histológica foi aquecida em estufa a uma temperatura de 60°C para impregnação do material, também sendo utilizadas parafina I e II por 30 minutos cada. Por fim, foi feita a inclusão do material com pinça nos moldes contendo parafina líquida. Os blocos foram cortados de forma seriada em micrótomo com espessura de 5µm e, como referência, foram utilizadas as coordenadas estereotáticas descritas no atlas de Paxinos e Franklin (2008) para camundongos. As lâminas com os cortes frontais de cérebro foram coradas pela técnica da coloração de Nissl, a qual evidencia os corpúsculos de Nissl (retículos endoplasmáticos rugosos presentes em neurônios). Para isso, as lâminas foram colocadas em berços para coloração e foi necessário passar pela desparafinização, processo no qual as lâminas ficaram no interior da capela por 5 minutos em xilol I e II, para depois serem hidratadas em concentrações decrescentes de álcool (100% I e II; 90%; 80% e 70%) por 3 minutos cada. Para a coloração em si, os cortes foram submersos em Solução Cresyl por 5 minutos, lavados rapidamente em água destilada e colocados em soluções crescentes de álcool (70%, 80%, 90%, 100% I e II) por 1 minuto cada. Então, ficaram em xilol por 5 minutos e, por fim, utilizou-se o bálsamo do Canadá para aderir às lamínulas em cada uma das lâminas.

Figura 1 – Etapas do processo de dissecação e de confecção das lâminas.



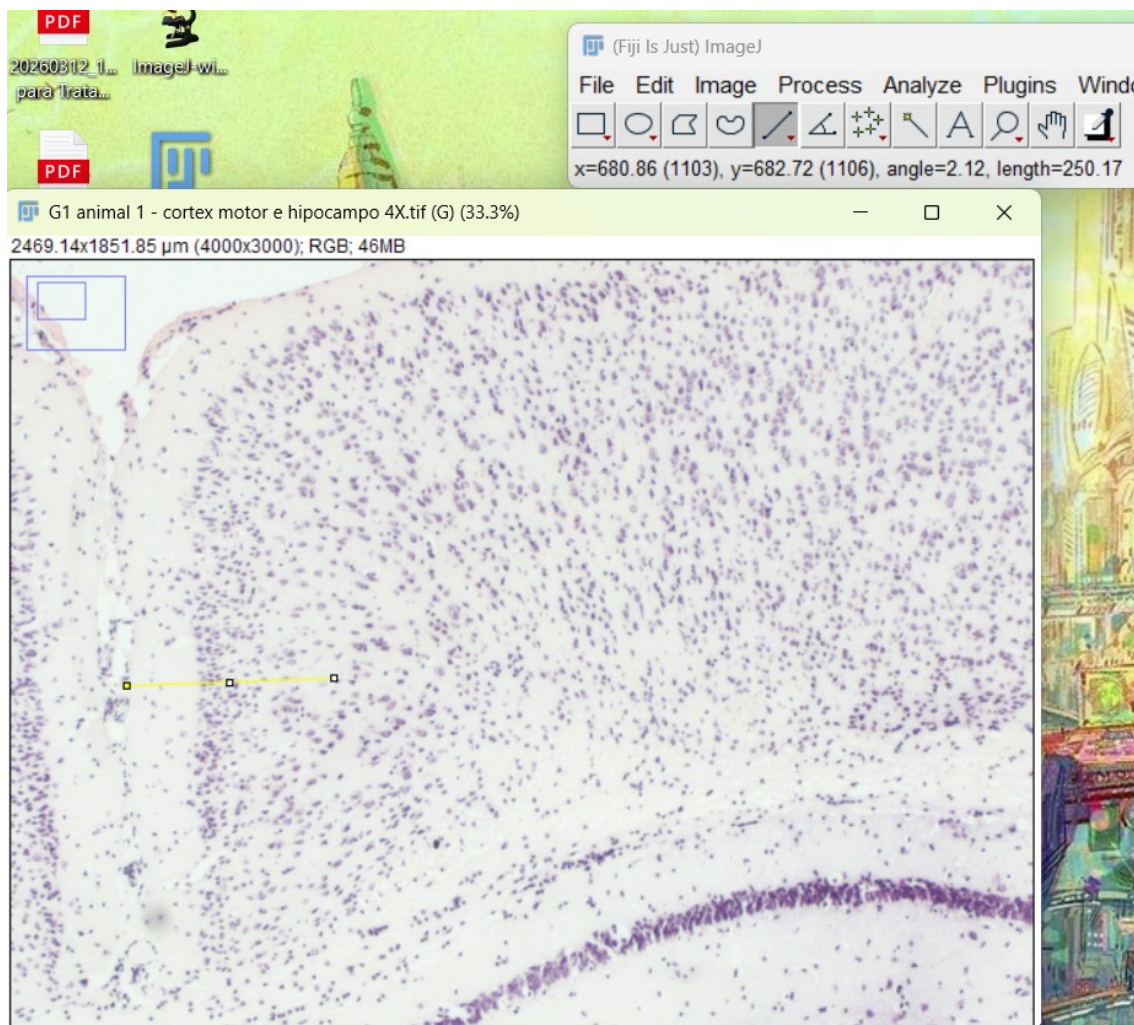
Fonte: Própria autora (2026).

4.5 Análises

4.5.1 Morfometria

As lâminas foram fotografadas no microscópio invertido (Nikon Ti-S) através do software Opticam nos aumentos de 4x e 20x. Para determinar possíveis diferenças morfológicas entre os grupos experimentais, foram realizadas medições através do software ImageJ Fiji (x86-64) da espessura do córtex, da densidade celular e da espessura de cada uma das camadas do giro denteado (molecular, polimórfica e granular). A partir de fotos de réguas em cada um dos aumentos, foi determinada a distância em pixels correspondente a 100 μm para que o software fosse capaz de medir corretamente. Ao definir a escala, a medição da espessura do córtex foi sempre feita a 250 μm da fissura mediana.

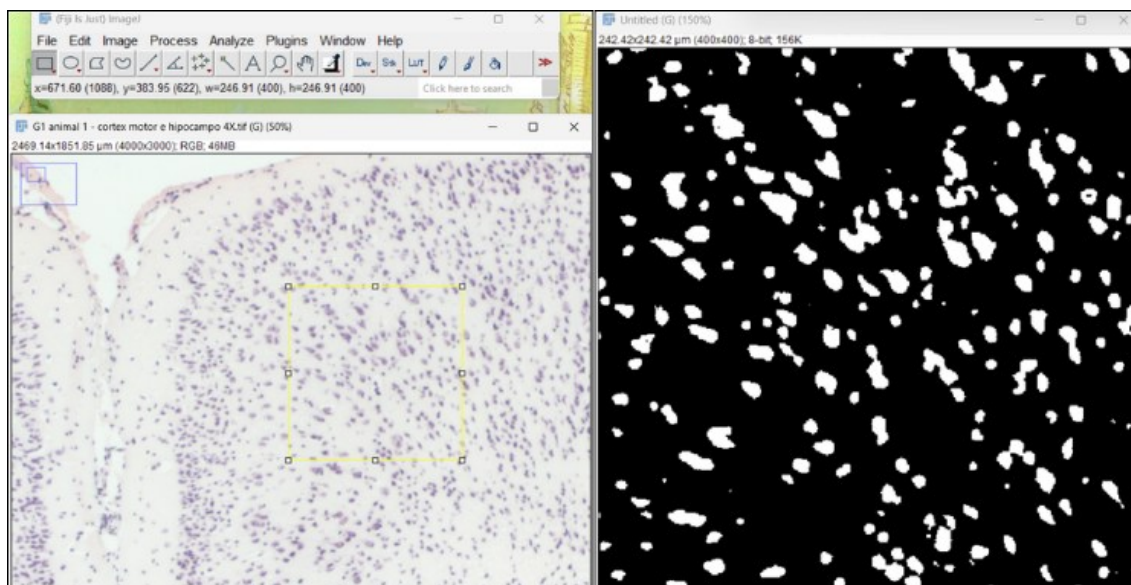
Figura 2 – Medida da espessura a partir de 250 μm da fissura mediana.



Fonte: Própria autora (2026).

A densidade de neurônios foi quantificada a partir de um quadrado de 400x400 pixels, partindo da mesma distância de 250 μm e de uma nova calibração considerando essa imagem criada. Em seguida, foi feito o ajuste pela ferramenta “*threshold*” e as partículas (correspondentes ao tamanho dos neurônios) foram quantificadas. Para que apenas neurônios fossem contados, foi previamente determinada uma média da área dos menores e maiores neurônios encontrados.

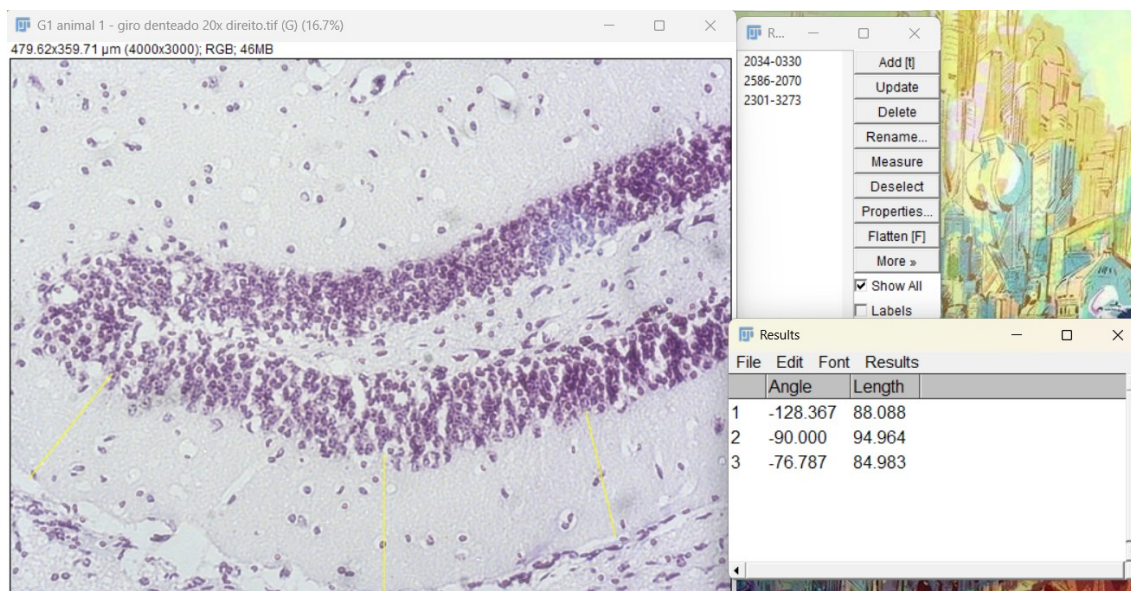
Figura 3 – Quadrado de 400x400 pixels e “*threshold*”.



Fonte: Própria autora (2026).

As camadas do giro denteado foram medidas a partir de imagens fotografadas no aumento de 20x. Após a nova calibração, a espessura de cada camada foi mensurada em três pontos distintos e a média entre eles foi calculada. Por fim, as médias de cada um dos grupos foram obtidas para que a estatística pudesse ser analisada.

Figura 4 – Medida da espessura das camadas do giro denteado.



Fonte: Própria autora (2026).

4.5.2 Análise estatística

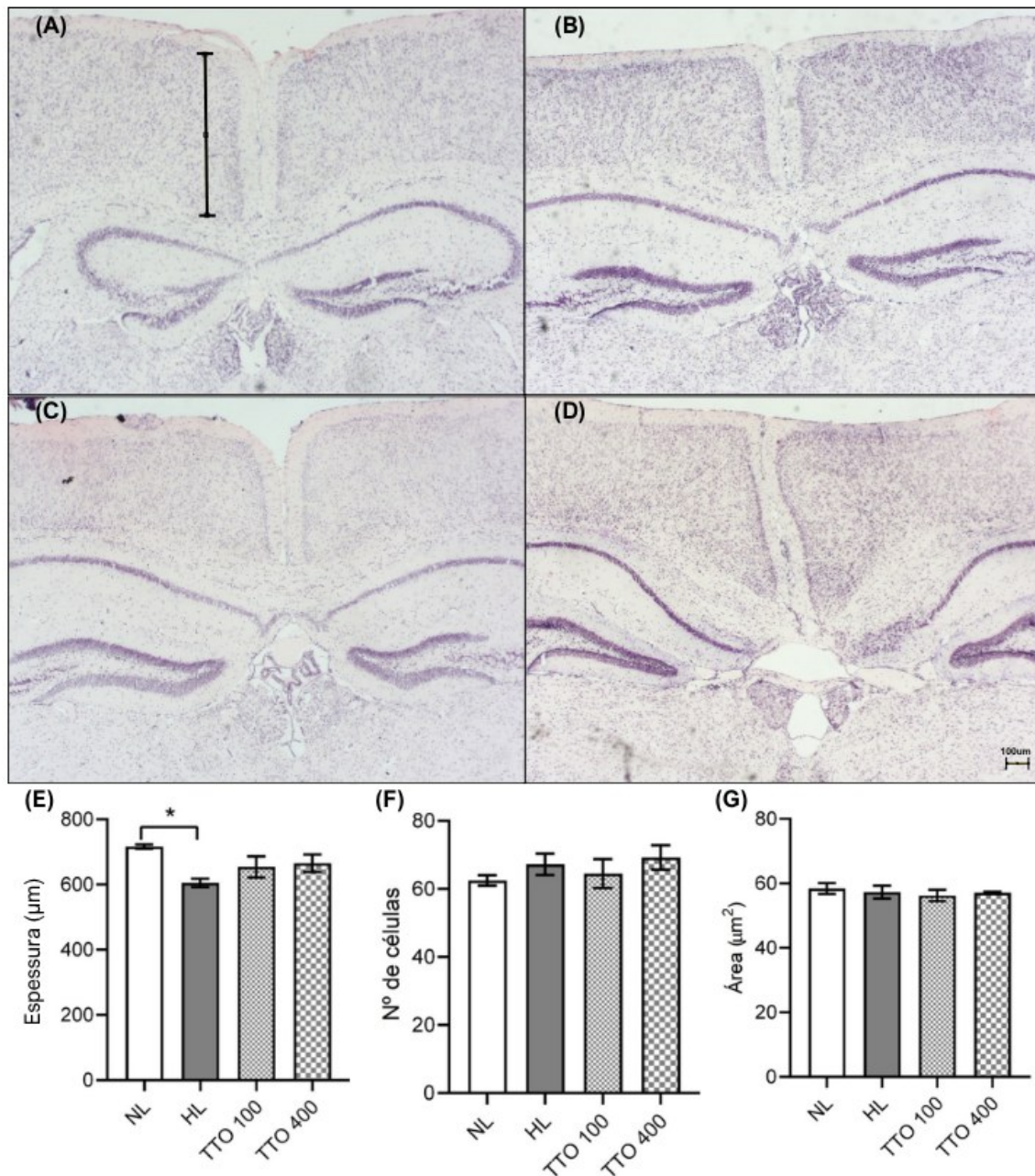
Os dados numéricos foram analisados com estatística descritiva para observação do padrão de distribuição da amostra no software GraphPad Prism 8.0. Para a escolha do teste estatístico adequado, foi executado o teste de normalidade de Shapiro-Wilk com o intuito de verificar se os resultados possuíam uma distribuição normal. Para os dados paramétricos, foi utilizada a ANOVA de uma via com pós-teste de Tukey. Já para os dados não paramétricos, foi utilizado o Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn. Foi considerado $p \leq 0,05$.

5 RESULTADOS

5.1 Córtex motor

Ao comparar a espessura do córtex entre cada um dos grupos pelo Anova com pós-teste de Tukey foi demonstrado que a espessura cortical do grupo normolipidêmico foi significativamente maior que a do hiperlipidêmico (Figura 5E). Contudo, não houve significância na diferença de espessura do grupo hiperlipidêmico em relação a nenhum dos tratamentos.

Figura 5 – Fotomicrografias do córtex dos animais de cada um dos grupos estudados: **A**- normolipidêmico (NL, reta mostrando o local da medição); **B**- hiperlipidêmico (HL); **C**- tratado com 100 mg/Kg (TTO 100); e **D**- tratado com 400 mg/Kg (TTO 400). Em **E**, **F** e **G**, gráficos mostrando as médias por grupo da espessura do córtex, da quantidade e da área de neurônios em uma área determinada do córtex motor. Notou-se redução de espessura para o grupo HL (*, $p < 0,05$). Escala = 100 μm .



Fonte: Dados da pesquisa (2026).

Ao analisar a densidade celular do córtex motor, não foi encontrada significância entre nenhum dos grupos, se tratando de número de células (Figura 5F), analisado pelo Anova com pós-teste de Tukey, ou da área delas (Figura 5G), realizada pelo teste de Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn.

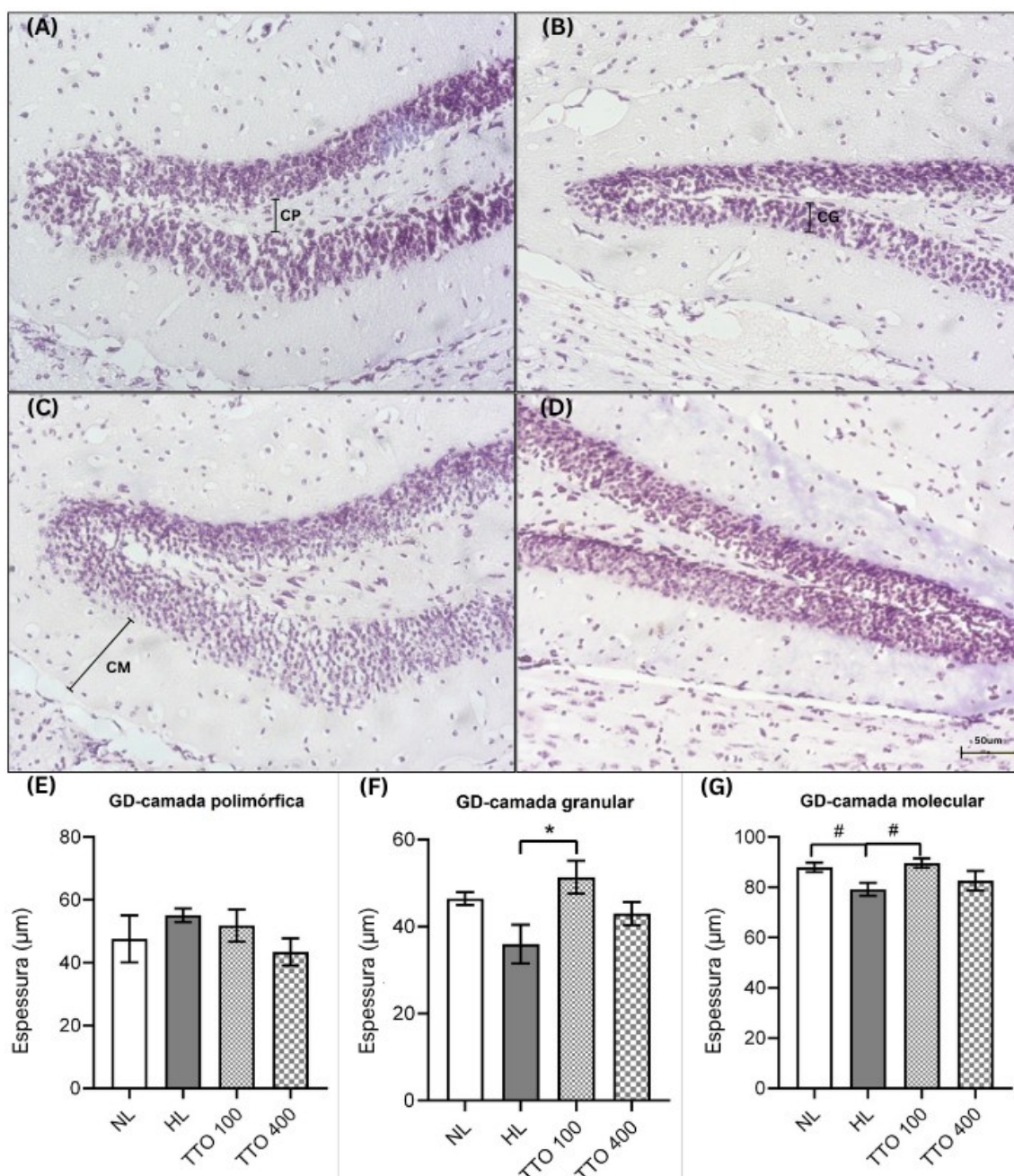
5.2 Giro denteado

Foram medidas as camadas polimórfica, granular e molecular do hipocampo. A camada polimórfica do giro denteado não apresentou diferenças

significativas ao ter sua espessura comparada entre os grupos pelo teste paramétrico Anova com o pós-teste de Tukey (Figura 6E).

Quanto à espessura da camada granular do giro denteado, após o teste de Anova com pós-teste de Tukey, foi identificado um aumento significativo no grupo hiperlipidêmico tratado com 100 mg/Kg de *Maytenus ilicifolia* quando comparado ao grupo hiperlipidêmico (Figura 6F). Adicionalmente, na análise da espessura da camada molecular do giro denteado por meio do teste não paramétrico Kruskal-Wallis com pós-teste de Dunn, observou-se tendência (p limítrofe, # 1.0<p>0.05) de diferenças entre os grupos normolipidêmico (NL) e hiperlipidêmico (HL), e, dele com o grupo hiperlipidêmico tratado com 100 mg/Kg da planta (TTO 100) (Figura 6G).

Figura 6 – Fotomicrografias do giro denteado dos animais de cada um dos grupos estudados: **A**- normolipidêmico (NL); **B**- hiperlipidêmico (HL); **C**- tratado com 100 mg/Kg (TTO 100); e **D**- tratado com 400 mg/Kg (TTO 400). As fotomicrografias em **A**, **B** e **C** mostram, respectivamente, retas com a localização das camadas polimórficas (CP), granulares (CG) e moleculares (CM). Em **E**, **F** e **G** gráficos mostrando as médias por grupo da espessura das camadas polimórfica, granular e molecular, respectivamente. Notou-se a maior espessura da camada granular e molecular do giro denteado de animais do grupo hiperlipidêmico tratado com 100 mg/Kg de *Maytenus ilicifolia* (*, $p < 0.05$ e # $p < 1.0$). Escala = 50 μm .



Fonte: Dados da pesquisa (2026).

6 DISCUSSÃO

O presente trabalho tinha como objetivo investigar possíveis alterações morfológicas causadas pela hiperlipidemia no tecido neural de camundongos e avaliar se o tratamento com a *Maytenus ilicifolia* era capaz de recuperar ou manter parâmetros semelhantes à normalidade histológica do cérebro de animais normolipidêmicos, sendo isso, uma possível ação protetora da planta. A partir de análises realizadas em cortes histológicos, foram empregados

parâmetros morfométricos de comparação entre os grupos seguidos de testes estatísticos para verificação da significância das diferenças.

A investigação da espessura cortical revelou uma redução significativa nos camundongos hiperlipidêmicos quando comparados aos normolipidêmicos, esse achado concorda com dados da literatura clínica em humanos, os quais associam níveis elevados de colesterol ao aumento da atrofia cortical (Walhovd et al., 2014). De maneira semelhante, uma pesquisa que associou a espessura cortical a diferentes fatores de risco da síndrome metabólica, incluindo a dislipidemia, também encontrou um afinamento dessa estrutura (Schwarz et al., 2018), o que reforça o impacto negativo do desequilíbrio lipídico sobre o córtex.

Contudo, não foi encontrado um decréscimo do número de células ou modificação na área celular nessa região, indicando que o afinamento observado não decorre de uma morte celular excessiva. Embora nesse modelo a contagem celular direta não tenha identificado diferenças, Lu et al. (2023), ao realizar um estudo com camundongos induzidos por dieta rica em gordura, observaram tanto um arranjo desordenado dos neurônios na região do córtex cerebral quanto uma desorganização da arquitetura tecidual. Além disso, ratos alimentados com uma dieta rica em colesterol demonstraram que níveis elevados de triglicerídeos no cérebro foram responsáveis pela liberação de citocinas pró-inflamatórias indutoras de danos neuronais e vasculares (Yang et al., 2017).

Ao olharmos para o giro denteado do hipocampo, verificamos primeiro o comprometimento especialmente da camada molecular, com afinamento em relação ao normal. Contexto identificado por outros pesquisadores, como Kim et al. (2009) que analisaram o impacto causado por uma dieta rica em colesterol na proliferação celular e nos neuroblastos utilizando os marcadores Ki-67 e DCX, respectivamente, e, demonstraram que ambos estavam diminuídos nesses camundongos, indicando que essa dieta pode prejudicar a proliferação e diferenciação celular no giro denteado desses animais. Adicionalmente, Wang et al. (2014), ao pesquisar camundongos knockout para o receptor de LDL, perceberam uma diminuição na densidade sináptica do giro denteado, demonstrada pela menor quantidade de botões pré-sinápticos imunorreativos à sinaptofisina, e ao analisar a ultraestrutura, foram percebidos a diminuição de vesículas e o aumento de fendas. Sendo uma alteração relevante no contexto de doenças neurodegenerativas, uma vez que, de acordo com o analisado por

Lim et al. (2025), o volume da camada molecular pode ser um biomarcador precoce de demência.

Por outro lado, observamos resultados que possivelmente apontam um efeito protetor da *Maytenus ilicifolia*. O aumento significativo da espessura da camada granular do giro denteado dos camundongos hiperlipidêmicos tratados com 100 mg/Kg da planta pode sugerir um estímulo à proliferação e sobrevivência celular, características do processo de neurogênese hipocampal. Esse possível efeito neuroprotetor assemelha-se ao encontrado por uma pesquisa que testou o efeito da berberina em ratos induzidos à hiperlipidemia pelo Poloxamer 407 e verificou uma diminuição do número de células positivas para BrdU, marcador de proliferação celular, no giro denteado de ratos hiperlipidêmicos, mas um aumento dessas mesmas células após o tratamento com o composto (Kim et al., 2019).

Entre as limitações do presente estudo, pode ser citado o tamanho amostral limitado, causado pela perda de animais e pela impossibilidade de repetição dos experimentos. Por causa disso, também não foi possível analisar o cérebro de animais tratados com a sinvastatina, fármaco de referência, para comparar com o tratamento natural. Além disso, a aglomeração de células na camada granular do giro denteado não permitiu uma quantificação fidedigna dos neurônios nessa região; portanto, não usamos esses resultados em nossa pesquisa.

Diante do exposto, as implicações deste estudo sugerem um ponto de partida para um maior entendimento da relação entre a hiperlipidemia e alterações no cérebro de camundongos. Ademais, as investigações fornecem evidências preliminares do papel da *Maytenus ilicifolia* na mitigação de danos cerebrais decorrentes da hiperlipidemia. Pesquisas futuras, utilizando técnicas imunohistoquímicas para marcações neuronais específicas, são necessárias para elucidar os mecanismos moleculares associados à hiperlipidemia no tecido cerebral, assim como para comparar esses achados com o tratamento com a *M.ilicifolia*, integrando conhecimentos acerca de uma doença crônica a um possível tratamento fitoterápico.

7 CONCLUSÃO

Os resultados demonstram que a hiperlipidemia promove alterações morfológicas no cérebro de camundongos, evidenciadas pelo afinamento do córtex cerebral e da camada molecular do giro dentado. Por outro lado, o tratamento com *Maytenus ilicifolia* (100 mg/kg) demonstrou maior espessura da camada granular do giro dentado, sugerindo um possível efeito neuroprotetor.

Assim, o objetivo do estudo foi alcançado ao identificar diferenças morfológicas entre animais normolipídêmicos, hiperlipídêmicos e hiperlipídêmicos tratados com *Maytenus ilicifolia*. No entanto, estudos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos envolvidos e confirmar o potencial neuroprotetor da planta.

REFERÊNCIAS

- AIMONE, J. B.; LI, Y.; LEE, S. W.; CLEMENSON, G. D.; DENG, W.; GAGE, F. H. Regulation and Function of Adult Neurogenesis: From Genes to Cognition. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 94, n. 4, p. 991-1026, 2014. <https://doi.org/10.1152/physrev.00004.2014>
- BASHIR, S.; MIR GH, H.; MIR, M. F.; MAJEED, H. Hippocampal Volume Loss as A Marker of Cognitive Decline in Dementia and Mild Cognitive Impairment: A Comprehensive Prospective Study. **National Journal of Medical Research**, v. 15, n. 2, 2025. <https://doi.org/10.55489/njmr.150220251079>
- BITTAR, V. P.; BORGES, A. L. S.; JUSTINO, A. B.; CARRILLO, M. S. P.; DUARTE, R. F. M.; SILVA, N. B. S.; GONÇALVES, D. S.; PRADO, D. G.; ARAÚJO, I. A. C.; MARTINS, M. M.; MARTINS, C. H. G.; BOTELHO, F. V.; SILVA, N. M.; OLIVEIRA, A.; ESPÍNDOLA, F. S. Bioactive compounds from the leaves of *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reissek: Inhibition of LDL oxidation, glycation, lipid peroxidation, target enzymes, and microbial growth. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 319, n. 3, p. 117315, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117315>
- BORSINI, A.; ZUNSZAIN, P. A.; THURET, S.; PARIANTE, C. M. The role of inflammatory cytokines as key modulators of neurogenesis. **Trends in Neurosciences**, v. 38, n. 3, p. 145–157, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.tins.2014.12.006>
- BRASIL. Ministério da Saúde. Plantas medicinais e fitoterápicos no SUS. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2026.
- BRYANT, K. G.; BARKER, J. M. Arbitration of Approach-Avoidance Conflict by Ventral Hippocampus. **Frontiers in Neuroscience**, Lausanne, v. 14, art. 615337, 2020. <https://doi.org/10.3389/fnins.2020.615337>
- CAVALIERE, G.; CIMMINO, E.; TRINCHESE, G.; CATAPANO, A.; PETRELLA, L.; D'ANGELO, M.; LUCCHIN, L.; MOLLICA, M., P. From Obesity-Induced Low-Grade Inflammation to Lipotoxicity and Mitochondrial Dysfunction: Altered Multi-Crosstalk between Adipose Tissue and Metabolically Active Organs. **Antioxidants**, v. 12, p. 1172, 2023. <https://doi.org/10.3390/antiox12061172>
- CHEN, C.; WEN, M.; WANG, C.; YUAN, Z.; JIN, Y. Differential proteomic analysis of mouse cerebrums with high-fat diet (HFD)-induced hyperlipidemia. **PeerJ**, v. 10, p. 13806, 2022. <https://doi.org/10.7717/peerj.13806>
- CUI, C.; HAN, Y.; LI, H.; YU, H.; ZHANG, B.; LI, G. Curcumin-driven reprogramming of the gut microbiota and metabolome ameliorates motor deficits and neuroinflammation in a mouse model of Parkinson's disease. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, v. 12, e887407, 2022. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.887407>

DE SOUZA, L. M.; CIPRIANI, T. R.; IACOMINI, M.; GORIN, P. A. J.; SASSAKI, G. L. HPLC/ESI-MS and NMR analysis of flavonoids and tannins in bioactive extract from leaves of *Maytenus ilicifolia*. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 47, n. 1, p. 59–67, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2007.12.008>

ENGEL, D. F.; GRZYB, A. N.; OLIVEIRA, J.; KEMPERMANN, G.; DE BEM, A. F. Impaired adult hippocampal neurogenesis in a mouse model of familial hypercholesterolemia: A role for the LDL receptor and cholesterol metabolism in adult neural precursor cells. **Molecular Metabolism**, Amsterdam, v. 30, p. 1-15, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.09.002>

FOLCH, J.; LEES, M.; SLOANE STANLEY, G. H. **A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues**. *The Journal of Biological Chemistry*, v. 226, n. 1, p. 497-509, 1957. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)64849-5](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)64849-5)

HICKMAN, D. L.; JOHNSON, J.; VEMULAPALLI, T. H.; CRISLER, J. R.; SHEPHERD, R. Commonly used animal models. In: SUCKOW, M. A.; STEWART, K. L. **Principles of animal research for graduate and undergraduate students**, v. 7, n. PMC7150119, p. 117–175, 2016. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-802151-4.00007-4>

IBRAHIM, A. Y.; HENDAWY, S. F.; ELSAYED, A. A. A.; OMER, E. A. Evaluation of hypolipidemic *Marrubium vulgare* effect in Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in mice. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, Haikou, v. 9, n. 5, p. 453-459, 2016. <https://doi.org/10.1016/j.apjtm.2016.03.038>

IQBAL, Z.; BASHIR, B.; FERDOUSI, M.; KALTENIECE, A.; ALAM, U.; MALIK, R.A.; SORAN, H. Lipids and peripheral neuropathy. **Current Opinion in Lipidology**, v. 32, n. 4, p. 249-257, 2021. <https://doi.org/10.1097/MOL.0000000000000770>

JANTSCH, M. H.; BERNARDES, V.M.; OLIVEIRA, J.S.; PASSOS, D.F.; DORNELLES, G.L.; MANZONI, A.G.; CABRAL, F.L.; SILVA, J.L.G.; SCHETINGER, M.R.C.; LEAL, D.B.R. Tucumã (*Astrocaryum aculeatum*) prevents memory loss and oxidative imbalance in the brain of rats with hyperlipidemia. **Journal of Food Biochemistry**, v. 45, n. 4, p. 13636, 2021. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13636>

JIN, U.; PARK, S.J.; PARK, S.M. Cholesterol metabolism in the brain and its association with Parkinson's disease. **Experimental Neurobiology**, v. 28, n. 5, p. 554–567, 2019. <https://doi.org/10.5607/en.2019.28.5.554>

JO, S.-P.; KIM, J.-K.; LIM, Y.-H. Antihyperlipidemic effects of stilbenoids isolated from *Morus alba* in rats fed a high-cholesterol diet. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 65, p. 213-218, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.12.040>

JURIKOVA, T.; TINAKOVA, S., M.; ZIAROVSKA, J.; SZEKERES, L.; MLEK, J.; FARTCOV-SRAMKOVA, K.; KNAZICKA, Z.; SKROVANKOVA, S. Polyphenolic Spectrum of Goji Berries and Their Health-Promoting Activity. **Foods**, v. 14, n. 8, p. 1387, 2025. <https://doi.org/10.3390/foods14081387>

KARAM, I.; YANG, Y.J.; LI, J.Y. Hyperlipidemia Background and Progress. **SM Atherosclerosis Journal**, v. 1, n. 1, p. 1–8, 2017.

KENNEDY, A. J.; ELLACOTT, K.L.J.; KING, V.L.; HASTY, A.H. Mouse models of the metabolic syndrome. **Disease Models & Mechanisms**, v. 3, n. 3–4, p. 156–166, 2010. <https://doi.org/10.1242/dmm.003467>

KHLIFI, R.; LAHMAR, A.; DHAOUFEI, Z.; KALBOUSSI, Z.; M'SAKNI, M.; SKHIRI, F.; GHARBI, K.; GHEDIRA, C.; GHEDIRA, L. Assessment of hypolipidemic, anti-inflammatory and antioxidant properties of medicinal plant *Erica multiflora* in triton WR-1339-induced hyperlipidemia and liver function repair in rats: A comparison with fenofibrate. **Regulatory Toxicology and Pharmacology**, San Diego, v. 107, art. 104404, 2019. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2019.104404>

KIM, M.; KIM, T.-W.; KIM, C.-J.; SHIN, M.-S.; HONG, M.; PARK, H.-S.; PARK, S.-S. Berberine Ameliorates Brain Inflammation in Poloxamer 407-Induced Hyperlipidemic Rats. **International Neuropsychology Journal**, Seoul, v. 23, suppl. 2, p. S102-S110, 2019. <https://doi.org/10.5213/inj.1938216.108>

KIM, I. Y.; HWANG, I. K.; CHOI, J. W.; YOO, K.-Y.; KIM, Y. N.; YI, S. S.; WON, M.-H.; LEE, I. S.; YOON, Y. S.; SEONG, J. K. Effects of High Cholesterol Diet on Newly Generated Cells in the Dentate Gyrus of C57BL/6N and C3H/HeN Mice. **Journal of Veterinary Medical Science**, Tokyo, v. 71, n. 6, p. 753-758, 2009. <https://doi.org/10.1292/jvms.71.753>

LIM, D. W.; LEE, J.-E.; LEE, C.; KIM, Y. T. Natural products and their neuroprotective effects in degenerative brain diseases: a comprehensive review. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 20, e11223, 2024. <https://doi.org/10.3390/ijms252011223>

LIM, M. J. R.; TAN, J.; ROBERT, C.; TAN, W. Y.; VENKETASUBRAMANIAN, N.; CHEN, C.; HILAL, S. The effect of hippocampal subfield volumes on cognitive decline and incident dementia in a memory clinic cohort. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 105, n. 2, p. 538-549, 2025. <https://doi.org/10.1177/13872877251329574>

LIU, Y.; LIU, C.; KOU, X.; WANG, Y.; YU, Y.; ZHEN, N.; JIANG, J.; ZHAXI, P.; XUE, Z. Synergistic hypolipidemic effects and mechanisms of phytochemicals: a review. **Foods**, v. 11, n. 18, e2774, 2022. <https://doi.org/10.3390/foods11182774>

LU, Z.; WANG, H.; ZHANG, X.; HUANG, X.; JIANG, S.; LI, Y.; LIU, T.; LU, X.; GAO, B. High fat diet induces brain injury and neuronal apoptosis via down-regulating 3- β hydroxycholesterol 24 reductase (DHCR24). **Cell and Tissue Research**, Berlin, v. 393, n. 3, p. 471-487, 2023. <https://doi.org/10.1007/s00441-023-03804-3>

LUTZ, C.M.; OSBORNE, M.A. Optimizing mouse models of neurodegenerative disorders: are therapeutics in sight? **Future neurology**, v. 9, n. 1, p. 67–75, 2013. <https://doi.org/10.2217/fnl.13.66>

MALTA, D. C.; SZWARCOWALD, C. L.; MACHADO, I. E.; PEREIRA, C. A.; FIGUEIREDO, A. W.; SÁ, A. C. M. G. N.; VELASQUEZ-MELENDEZ, G.; SANTOS, F.

M.; SOUZA JUNIOR, P. B.; STOPA, S. R.; ROSENFELD, L. G. Prevalência de colesterol total e frações alterados na população adulta brasileira: Pesquisa Nacional de Saúde. **Revista Brasileira de Epidemiologia**, São Paulo, v. 22, supl. 2, e190005.SUPL.2, 2019. <https://doi.org/10.1590/1980-549720190005.supl.2>

MANSOURI, A.; REINER, Z.; RUSCICA, M.; SAHEBKAR, A. Antioxidant effects of statins by modulating Nrf2 and Nrf2/HO-1 signaling in different diseases. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 5, p. 1313, 2022. <https://doi.org/10.3390/jcm11051313>

MUFSON, E. J.; MAHADY, L.; WATERS, D.; COUNTS, S. E.; PEREZ, S. E.; DEKOSKY, S. T.; GINSBERG, S. D.; IKONOMOVIC, M. D.; SCHEFF, S. W.; BINDER, L. I. Hippocampal Plasticity During the Progression of Alzheimer's Disease. **Neuroscience**, Oxford, v. 309, p. 51-67, 2015. <https://doi.org/10.1016/j.neuroscience.2015.03.006>

OH, Phil-Sun; LEE, Sei-Jung; LIM, Kye-Taek. Hypolipidemic and antioxidative effects of the plant glycoprotein (36 kDa) from *Rhus verniciflua* Stokes fruit in Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, v. 70, n. 2, p. 447-456, 2006. <https://doi.org/10.1271/bbb.70.447>

O'LEÍME, Ciarán S.; CRYAN, John F.; NOLAN, Yvonne M. Nuclear deterrents: Intrinsic regulators of IL-1 β -induced effects on hippocampal neurogenesis. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 66, p. 394-412, nov. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2017.07.153>

OLIVEIRA, J.; MOREIRA, E.L.G.; BEM, A.F. Beyond cardiovascular risk: Implications of Familial hypercholesterolemia on cognition and brain function. **Ageing Research Reviews**, v. 93, p. 102149, 2024. <https://doi.org/10.1016/j.arr.2023.102149>

OZEK, C.; KROLEWSKI, R. C.; BUCHANAN, S. M.; RUBIN, L. L. Growth Differentiation Factor 11 treatment leads to neuronal and vascular improvements in the hippocampus of aged mice. **Scientific Reports**, London, v. 8, p. 17293, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35716-6>

PENNA, E.; PIZZELLA, A.; CIMMINO, F.; TRINCHESE, G.; CAVALIERE, G.; CATAPANO, A.; ALLOCCA, I.; CHUN, J. T.; CAMPANOZZI, A.; MESSINA, G.; PRECENZANO, F.; LANZARA, V.; MESSINA, A.; MONDA, V.; MONDA, M.; PERRONE-CAPANO, C.; MOLLIKA, M. P.; CRISPINO, M. Neurodevelopmental Disorders: Effect of High-Fat Diet on Synaptic Plasticity and Mitochondrial Functions. **Brain Sciences**, v. 10, n. 11, p. 805, 2020. <https://doi.org/10.3390/brainsci10110805>

PERGOLIZZI JR., J.V.; MAGNUSSON, P.; LEQUANG, J.A.; RAZMI, R.; ZAMPOGNA, G.; TAYLOR JR., R. Statins and neuropathic pain: a narrative review. **Pain and Therapy**, v. 9, n. 1, p. 97–111, 2020. <https://doi.org/10.1007/s40122-020-00153-9>

QUAN, Z.; YIN, H.; ZHANG, Y. The relationship between hyperlipidemia and physical activity in the elderly after controlling for demographic, health, and lifestyle variables. **Medicine**, v. 104, n. 16, p. 42140, 2025. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000042140>

RAFII, S.; BUTLER, J. M.; DING, B.-S. Angiocrine functions of organ-specific endothelial cells. **Nature**, London, v. 529, n. 7586, p. 316-325, 2016. <https://doi.org/10.1038/nature17040>

RAMOS, L. P. A.; JUSTINO, A. B.; TAVERNELLI, N.; SARAIVA, A. L.; FRANCO, R. R.; SOUZA, A. V.; SILVA, H. C. G.; MOURA, F. B. R.; BOTELHO, F. V.; ESPINDOLA, F. S. Antioxidant compounds from *Annona crassiflora* fruit peel reduce lipid levels and oxidative damage and maintain the glutathione defense in hepatic tissue of Triton WR-1339-induced hyperlipidemic mice. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, Paris, v. 142, art. 112049, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2021.112049>

ROCHA, C.S.; MAGALHÃES, R.M.P.; PERRELLI, R.; XAVIER, H.S. Morfoanatomia de folhas de *Maytenus rigida* Mart. (Celastraceae); uma espécie utilizada como medicinal no Nordeste do Brasil. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 23, n. 4, p. 472-476, 2004.

ROSOFF, D.B.; BELL A.S.; JUNG J.; WAGNER J.; MAVROMATIS L.A.; LOHOFF F.W. Mendelian randomization study of PCSK9 and HMG-CoA reductase inhibition and cognitive function. **J Am Coll Cardiol**, v. 80, n. 7, p. 653–662, 2022. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2022.05.041>

SANTOS, E. W.; OLIVEIRA, D. C. de; HASTREITER, A.; SILVA, G. B. da; BELTRAN, J. S. de O.; TSUJITA, M.; CRISMA, A. R.; NEVES, S. M. P.; FOCK, R. A.; BORELLI, P. Hematological and biochemical reference values for C57BL/6, Swiss Webster and BALB/c mice. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, São Paulo, v. 53, n. 2, p. 138-145, 2016. <https://doi.org/10.11606/issn.1678-4456.v53i2p138-145>

SANTOS, F.A.; FROTA, J.T.; ARRUDA, B.R.; MELO, T.S.; SILVA, A.A.C.A.; BRITO, G.A.C.; CHAVES, M.H.; RAO, V.S. Antihyperglycemic and hypolipidemic effects of α , β -amyrin, a triterpenoid mixture from *Protium heptaphyllum* in mice. **Lipids in Health and Disease**, v. 11, n. 98, 2012. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-11-98>

SCHWARZ, N. F.; NORDSTROM, L. K.; PAGEN, L. H. G.; PALOMBO, D. J.; SALAT, D. H.; MILBERG, W. P.; MCGLINCHEY, R. E.; LERITZ, E. C. Differential associations of metabolic risk factors on cortical thickness in metabolic syndrome. **NeuroImage: Clinical**, Amsterdam, v. 17, p. 98-108, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.nicl.2017.09.022>

SHIN, K.C.; MOUSSA, H.Y.A.; PARK, Y. Cholesterol imbalance and neurotransmission defects in neurodegeneration. **Experimental & Molecular Medicine**, v. 56, n. 8, p. 1685–1690, 2024. <https://doi.org/10.1038/s12276-024-01273-4>

SILVA, M.K.C.P.; LEITE, V.G.F.F.; VASCONCELOS, T.C.L. Atividade cicatrizante e antioxidante da *Maytenus ilicifolia* (espinheira-santa): uma revisão. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 14, p. 523111436604, 2022. <https://doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36604>

SPALDING, K. L.; BERGMANN, O.; ALKASS, K.; BERNARD, S.; SALEHPOUR, M.; HUTTNER, H. B.; BOSTRÖM, E.; WESTERLUND, I.; VIAL, C.; BUCHHOLZ, B. A.; POSSNERT, G.; MASH, D. C.; DYMECKI, S. M.; FRISÉN, J. Dynamics of Hippocampal Neurogenesis in Adult Humans. **Cell**, Cambridge, v. 153, n. 6, p. 1219-1227, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2013.05.002>

SUBOTIC, A.; MCCREARY, C. R.; SAAD, F.; NGUYEN, A.; ALVAREZ-VERONESI, A.; ZWIERS, A. M.; CHARLTON, A.; BEAUDIN, A. E.; ISMAIL, Z.; PIKE, G. B.; SMITH, E. E. Cortical Thickness and Its Association with Clinical Cognitive and Neuroimaging Markers in Cerebral Amyloid Angiopathy. **Journal of Alzheimer's Disease**, v. 81, n. 4, p. 1663-1671, 2021. <https://doi.org/10.3233/JAD-210138>

VELOSO, C.C.; SOARES, G.L.; PEREZ, A.C.; RODRIGUES, V., G.; SILVA, F., C. Pharmacological potential of *Maytenus* species and isolated constituents, especially tingenone, for treatment of painful inflammatory diseases. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 27, n. 4, p. 533–540, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2017.02.006>

WALHOVD, K. B.; STORSVE, A. B.; WESTLYE, L. T.; DREVON, C. A.; FJELL, A. M. Blood markers of fatty acids and vitamin D, cardiovascular measures, body mass index, and physical activity relate to longitudinal cortical thinning in normal aging. **Neurobiology of Aging**, New York, v. 35, n. 5, p. 1055-1064, 2014. <https://doi.org/10.1016/j.neurobiolaging.2013.11.011>

WANG, M.; YANG, T.; XIANG, Y.; PANG, J.; WANG, Y.; SUN, D. Coix Seed Extract Attenuates Glycolipid Metabolism Disorder in Hyperlipidemia Mice Through PPAR Signaling Pathway Based on Metabolomics and Network Pharmacology. **Foods**, v. 14, n. 5, p. 770, 2025. <https://doi.org/10.3390/foods14050770>

WANG, S.-H.; HUANG, Y.; YUAN, Y.; XIA, W.-Q.; WANG, P.; HUANG, R. LDL receptor knock-out mice show impaired spatial cognition with hippocampal vulnerability to apoptosis and deficits in synapses. **Lipids in Health and Disease**, London, v. 13, art. 175, 2014. <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-175>

WEINSTOCK-GUTTMAN, B.; ZIVADINOV, R.; MAHFOOZ, N.; CARL, E.; DRAKE, A.; SCHNEIDER, J.; TETER, B.; HUSSEIN, S.; MEHTA, B.; WEISKOPF, M.; DURFEE, J.; BERGSLAND, N.; RAMANATHAN, M. Serum lipid profiles are associated with disability and MRI outcomes in multiple sclerosis. **Journal of Neuroinflammation**, v. 8, n. 1, p. 127, 2011. <https://doi.org/10.1186/1742-2094-8-127>

WILFLING, F.; WANG, H.; HAAS, J.T.; KRAHMER, N.; GOULD, T.J.; UCHIDA, A.; CHENG, J.X.; GRAHAM, M.; CHRISTIANO, R.; FROHLICH, F.; LIU, X.; BUHMAN, K.K.; COLEMAN, R.A.; BEWERSDORF, J.; FARESE, R.V.; WALTHER, T.C. Triacylglycerol Synthesis Enzymes Mediate Lipid Droplet Growth by Relocalizing from the ER to Lipid Droplets. **Developmental Cell**, v. 24, n. 4, p. 384–399, 2013. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2013.01.013>

WU, S.; CAO, X.; HE, R.; XIONG, K. Detrimental impact of hyperlipidemia on the peripheral nervous system. **Neural Regeneration Research**, v. 7, n. 5, p. 392–399, 2012. <https://doi.org/10.3969/j.issn.1673-5374.2012.05.011>

XIAO, G.; XU, A.; JIANG, J.; CHEN, Z.; LI, Y.; LI, S.; CHEN, W.; ZHANG, J.; JIA, C.; ZENG, Z.; BI, X. Metabolomics analysis delineates the therapeutic effects of Yinlan Tiaozhi capsule on triton WR-1339-induced hyperlipidemia in mice. **Frontiers in Pharmacology**, Lausanne, v. 14, art. 1252146, 2023.

<https://doi.org/10.3389/fphar.2023.1252146>

YANG, D.; WANG, X.; ZHANG, L.; FANG, Y.; ZHENG, Q.; LIU, X.; YU, W.; CHEN, S.; YING.; HUA, F. Lipid metabolism and storage in neuroglia: role in brain development and neurodegenerative diseases. **Cell Biosci**, v. 12, n. 106, 2022.

<https://doi.org/10.1186/s13578-022-00828-0>

YANG, W.; SHI, H.; ZHANG, J.; SHEN, Z.; ZHOU, G.; HU, M. Effects of the duration of hyperlipidemia on cerebral lipids, vessels and neurons in rats. **Lipids in Health and Disease**, London, v. 16, art. 26, 2017.

<https://doi.org/10.1186/s12944-016-0401-6>

ZARZECKI, M. S.; ARAUJO, S. M.; BORTOLOTTI, V. C.; DE PAULA, M. T.; JESSE, C. R.; PRIGOL, M. Hypolipidemic action of chrysin on Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in female C57BL/6 mice. **Toxicology Reports**, Amsterdam, v. 1, p. 200-208, 2014.

<https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.02.003>

ZENG, Y.; GUO, R.; CAO, S.; YANG, H. Causal associations between blood lipids and brain structures: a Mendelian randomization study. **Cerebral Cortex**, v. 33, n. 21, p. 10901–10908, 2023.

<https://doi.org/10.1093/cercor/bhad334>

ZHANG, L.; JI, M. Y.; QIU, B.; LI, Q. Y.; ZHANG, K. Y.; LIU, J. C.; DANG, L. S.; LI, M. H. Phytochemicals and biological activities of species from the genus *Maytenus*.

Medicinal Chemistry Research, v. 29, n. 4, p. 575–606, 2020.

<https://doi.org/10.1007/s00044-020-02509-4>

ZHAO, X.; BHATTACHARYYA, A. Human Models Are Needed for Studying Human Neurodevelopmental Disorders. **American Journal of Human Genetics**, v. 103, n. 6, p. 829–857, 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.ajhg.2018.10.009>

ZHUANG, H.; YAO, X.; LI, H.; LI, Q.; YANG, C.; WANG, C.; XU, D.; XIAO, Y.; GAO, Y.; GAO, J.; BI, M.; LIU, R.; TENG, G.; LIU, L. Long-term high-fat diet consumption by mice throughout adulthood induces neurobehavioral alterations and hippocampal neuronal remodeling accompanied by augmented microglial lipid accumulation.

Brain, Behavior, and Immunity, Amsterdam, v. 100, p. 155-171, 2022.

<https://doi.org/10.1016/j.bbi.2021.11.018>

ANEXO A – COMPROVANTE DA COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS



SERVIÇO PÚBLICO FEDERAL
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Comissão de ética na Utilização de Animais



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Avaliação das propriedades hipolipidêmica, antiinflamatórias e antioxidantes de polifenóis da *Annona crassiflora* Mart. na hiperlipidemia induzida por Triton WR-1339 (tiloxapol) em camundongos”, protocolo nº 039/19, sob a responsabilidade de Foued Salmen Espindola – que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, para fins de pesquisa científica – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela COMISSÃO DE ÉTICA NA UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS (CEUA) da UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA, em reunião **29 de outubro de 2024**.

(We certify that the project entitled “Avaliação das propriedades hipolipidêmica, antiinflamatórias e antioxidantes de polifenóis da *Annona crassiflora* Mart. na hiperlipidemia induzida por Triton WR-1339 (tiloxapol) em camundongos”, protocol 039/19, under the responsibility of Foued Salmen Espindola - involving the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata, for purposes of scientific research - is in accordance with the provisions of Law nº 11.794, of October 8th, 2008, of Decree nº 6.899 of July 15th, 2009, and the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and it was **approved** for ETHICS COMMISSION ON ANIMAL USE (CEUA) from FEDERAL UNIVERSITY OF UBERLÂNDIA, in meeting of **October 29th, 2024**).

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica
Vigência do Projeto	Início: 02/09/2019 Término: 31/12/2026
Espécie / Linhagem / Grupos Taxonômicos	Camundongo Isogênico
Número de animais	243 Animais
Peso / Idade	20g/ 06 semanas
Sexo	Macho
Origem / Local	Rede de Biotérios – UFU (REBIR – UFU)
Local onde serão mantidos os animais:	Rede de Biotérios – UFU (REBIR – UFU)

Alteração realizada: Alteração na data término do projeto de 31/12/2024 para **31/12/2026**.

Inclusão de novos colaboradores:

- Allisson Benatti Justino
- Ana Luiza Silva Borges
- Cecilia Silva Pereira
- Françoise Vasconcelos Botelho
- Julia Noêmia Bernardo de Sousa
- Karine Fernandes Souza
- Raquel Toledo Dohler
- Renata Roland Teixeira
- Rodrigo Lima Borges
- Tarcísio Paiva Mendonça
- Vinicius Prado Bittar

Uberlândia, 29 de outubro de 2024.


Prof. Dr. Luiz Fernando Moreira Izidoro
UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
Comissão de Ética na Utilização de Animais
Coordenador da CEUA
Portaria 4400/2024