



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
FACULDADE DE MEDICINA**

José Henrique Capelari da Costa

**Avaliação dos potenciais efeitos do *Hibiscus sabdariffa* nas
alterações morfológicas da próstata induzida pela obesidade:
modelo experimental em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual Paulista
“Júlio de Mesquita Filho”, Campus de
Botucatu, para obtenção do título de Mestre
em Bases Gerais da Cirurgia.

Orientador: Professor Associado Paulo Roberto Kawano

**Botucatu
2025**

José Henrique Capelari da Costa

**Avaliação dos potenciais efeitos do *Hibiscus sabdariffa* nas
alterações morfológicas da próstata induzida pela
obesidade: modelo experimental em ratos**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina, Universidade Estadual
Paulista “Júlio de Mesquita Filho”,
Campus de Botucatu, para obtenção do
título de Mestre em Bases Gerais da
Cirurgia.

Orientador: Professor Associado Paulo Roberto Kawano

**Botucatu
2025**

C238a	Capelari da Costa, Jose Henrique Avaliação dos potenciais efeitos do Hibiscus Sabdariffa nas alterações morfológicas da próstata induzida pela obesidade: Modelo experimental em ratos / Jose Henrique Capelari da Costa. -- Botucatu, 2025 65 f. Dissertação (mestrado profissional) - Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Medicina, Botucatu Orientador: Paulo Roberto Kawano Coorientador: Hamílto A Yamamoto 1. Obesidade. 2. Próstata. 3. Plantas medicinais. 4. Ratos. I. Título.
-------	---

Impacto potencial desta pesquisa

A presente dissertação possui relevante impacto social ao abordar a obesidade, uma condição de alta prevalência e reconhecida como um grave problema de saúde pública, intimamente relacionada a diversas comorbidades metabólicas e inflamatórias. Ao investigar os efeitos do chá de hibisco sobre o tecido prostático e parâmetros metabólicos e inflamatórios em um modelo experimental de obesidade, o estudo contribui para o avanço do conhecimento científico acerca do potencial terapêutico de substâncias naturais e de baixo custo, que podem representar alternativas complementares às estratégias convencionais de prevenção e tratamento da obesidade e de suas complicações.

Os resultados obtidos podem servir de base para futuras pesquisas clínicas que avaliem a aplicabilidade do chá de hibisco em humanos, incentivando o uso racional de fitoterápicos e promovendo o diálogo entre a medicina tradicional e a ciência moderna. Além disso, o estudo reforça a importância da investigação dos efeitos sistêmicos da obesidade, incluindo suas repercussões sobre órgãos não tradicionalmente relacionados ao metabolismo energético, como a próstata. Dessa forma, esta dissertação contribui não apenas para a formação científica e acadêmica, mas também para o desenvolvimento de práticas de saúde mais integradas, sustentáveis e voltadas ao bem-estar da população.

Social Impact of the Research

This dissertation has a significant social impact by addressing obesity, a highly prevalent condition recognized as a serious public health problem, closely associated with various metabolic and inflammatory comorbidities. By investigating the effects of hibiscus tea on prostatic tissue and metabolic and inflammatory parameters in an experimental model of obesity, this study contributes to advancing scientific knowledge regarding the therapeutic potential of natural and low-cost substances that may represent complementary alternatives to conventional strategies for the prevention and treatment of obesity and its complications.

The results obtained may serve as a foundation for future clinical studies evaluating the applicability of hibiscus tea in humans, encouraging the rational use of phytotherapeutic agents and promoting dialogue between traditional medicine and modern science. Furthermore, this study reinforces the importance of investigating the systemic effects of obesity, including its impact on organs not traditionally associated with energy metabolism, such as the prostate. Thus, this dissertation contributes not only to scientific and academic development but also to the promotion of more integrated, sustainable, and population-oriented health practices.

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE JOSÉ HENRIQUE CAPELARI DA COSTA, DISCENTE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIRURGIA E MEDICINA TRANSLACIONAL, DA FACULDADE DE MEDICINA - CÂMPUS DE BOTUCATU.

Aos 28 de novembro de 2025, às 9h, no(a) Solário da Divisão de Urologia, realizou-se a defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO de JOSÉ HENRIQUE CAPELARI DA COSTA, intitulada **AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS EFEITOS DO HIBISCUS SABDARIFFA NAS ALTERAÇÕES MORFOLÓGICAS DA PRÓSTATA INDUZIDA PELA OBESIDADE: MODELO EXPERIMENTAL EM RATOS**. A Comissão Examinadora foi constituída pelos seguintes membros: Prof. Dr. PAULO ROBERTO KAWANO (Orientador(a) - Participação Presencial) do(a) Departamento de Especialidades Cirúrgicas e Anestesiologia / UNESP / Câmpus de Botucatu - FMB, Profa. Dra. JULIANY GOMES QUITZAN (Participação Presencial) do(a) Departamento de Cirurgia Veterinária e Reprodução Animal / UNESP / Câmpus de Botucatu - FMVZ, Profa. Dra. NATÁLIA BARALDI CUNHA (Participação Presencial) do(a) Instituto de Câncer de Bauru, Após a exposição pelo mestrando e arguição pelos membros da Comissão Examinadora que participaram do ato, de forma presencial e/ou virtual, o discente recebeu o conceito final: aprovado. Nada mais havendo, foi lavrada a presente ata, que após lida e aprovada, foi assinada pelo(a) Presidente(a) da Comissão Examinadora.

Prof. Dr. PAULO ROBERTO KAWANO

Dedicatória

Dedico este trabalho à Deus, à minha família, amigos e professores.

*Entrega ao Senhor tudo o que você faz, e os teus planos serão estabelecidos
(Provérbios 16:3).*

Que esta passagem bíblica inspire e reflita a minha profunda gratidão à todos que contribuíram para a realização desta pesquisa. Esta dissertação é também uma homenagem a todos que ofereceram apoio intelectual, emocional e prático, reconhecendo que o conhecimento científico é construído coletivamente. A cada orientação, incentivo e contribuição recebida ao longo desta jornada, deixo meu sincero agradecimento.

Agradecimentos

A realização desta dissertação foi possível graças ao apoio e à contribuição de diversas pessoas, a quem expresso minha mais profunda gratidão.

Primeiramente, à **Deus** que nos guia em todas as nossas ações e caminhos e a minha família. À minha amada esposa, **Larissa Zambuzi**, pelo amor, paciência e suporte incondicional em todos os momentos desta jornada. À minha amada filha **Helena**, que representa o mais puro amor e me trouxe felicidade em todos os momentos. Aos meus pais, **Rosi Capelari** e **José Carlos da Costa**, que me ensinaram o valor da dedicação e da perseverança e, sempre acreditaram e me guiaram em minha trajetória. Ao meu irmão Luiz Carlos Capelari pelos votos de apoio sempre.

Agradeço ao **Prof. Dr. Paulo Kawano**, que além de pilar fundamental de todo projeto, é um exemplo para mim como profissional e um grande preceptor dessa grande parte da minha vida, chamada Urologia. Estendo meu agradecimento à todos os meus **preceptores da saudosa Divisão da Urologia – UNESP e amigos residentes** que participaram ativamente na minha formação.

À **Dra. Daniela** da Divisão de Patologia que me ajudou nas leituras das lâminas, empenhando tempo de estudo e trabalho. Assim como agradeço aos alunos da graduação **Yuri Oliveira Fernandes** e **Thiago Fugita** que me auxiliaram nas análises e leitura das lâminas.

Um agradecimento especial à Pós-Graduação, nas pessoas da **Sra. Marcia Piagentini Cruz** (secretária) e à coordenadora do Programa, a **Professora Associada Patrícia Pintor dos Reis**, que nos forneceram os recursos e o estímulo necessários para a realização deste trabalho.

Por fim, aos **amigos, colegas e familiares** que, de diversas formas, me incentivaram e apoiaram durante todo o processo, minha eterna gratidão. Cada um de vocês desempenhou um papel fundamental na conclusão desta etapa tão importante de minha vida.

Obrigado.

RESUMO

Introdução: A obesidade está associada a diversas comorbidades, como alterações da função renal, doenças cardiovasculares, hipertensão e dislipidemias, bem como a alterações prostáticas. Excesso de tecido adiposo e o estado inflamatório crônico de baixo grau característico da obesidade podem contribuir para modificações estruturais e funcionais da próstata, incluindo alterações no estroma e no epitélio glandular, além de possível influência no desenvolvimento de condições como a hiperplasia prostática benigna. Dentre as possíveis formas de tratamento e/ou prevenção, o uso de plantas medicinais, como o chá de *Hibiscus sabdariffa*, vem sendo estudado, tanto por seus potenciais efeitos benéficos sobre a lipemia quanto por sua possível atuação na atenuação dos efeitos sistêmicos e teciduais da obesidade como um todo.

Objetivo: Avaliar os efeitos sistêmicos do chá do *Hibiscus sabdariffa* (HS) e no tecido prostático de ratos Wistar, em um modelo experimental de obesidade induzida por dieta palatável hiperlipídica (DPH).

Metodologia: Foram estudados 48 ratos Wistar, machos, divididos em 4 grupos (n=12): G1 (controle): animais alimentados com ração comercial e ingestão de água; G2: dieta comercial e ingestão de chá de HS; G3: DPH e água e G4: DPH e HS. Os animais receberam as dietas e o chá durante 16 semanas *ad libitum*, sendo pesados semanalmente e avaliados quanto a ingestão alimentar e líquida. Ao final do experimento, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue (destinado a análise bioquímica, hormonal e quantificações das principais citocinas inflamatórias) e da próstata, para análise das alterações histológicas e histomorfométricas.

Resultados: Os animais suplementados com DPH (G3 e G4) apresentaram ganho de peso expressivo (616,2 e 591,8g) quando comparados ao controle (493,2g; $p < 0,05$), sendo mais evidente em G3. A taxa de depuração da creatinina de urina de 24 horas (16ª semana) mostrou uma diminuição significativa no G3 em relação a G1 (1,34 x 2,69 e 2,66ml/kg/min, respectivamente), porém se manteve inalterada nos grupos que receberam o chá de hibisco. A dosagem da testosterona sérica não demonstrou diferença entre os grupos, enquanto que a análise dos eletrólitos séricos evidenciou apenas elevação do sódio em G4 em relação ao controle (142,15 x 138,23 mEq/L, respectivamente). A avaliação do perfil lipídico evidenciou redução expressiva da fração LDL do colesterol e das triglicérides em G2 quando comparado ao controle (5,0 x 7,5 e 46,3 x 83,2mg/dL; respectivamente; $p < 0,05$). Dentre as citocinas inflamatórias avaliadas observou-se aumento expressivo da leptina nos grupos indução de obesidade (G3 e G4) além de redução dos níveis séricos da IL-1 α nos animais que receberam o chá, particularmente em G4. A análise histomorfométrica revelou aumento no volume nuclear em G3 e G4, além da redução da espessura do epitélio em relação a G1. Todos os grupos exibiram redução da área do interstício quando comparados ao controle.

Conclusão: O modelo experimental de obesidade em ratos foi capaz de promover alterações bioquímicas e inflamatórias sistêmicas, além induzir variações estruturais na próstata desses animais. O chá de hibisco apresentou vários efeitos benéficos nos parâmetros avaliados, mesmo em animais em situação de não obesidade, apenas não foram suficientes para reverter ou prevenir integralmente as alterações morfológicas e funcionais induzidas pela obesidade neste modelo de estudo.

Palavras-chave: rato; obesidade; *Hibiscus*; próstata.

ABSTRACT

Introduction: Obesity is associated with several comorbidities, such as impaired renal function, cardiovascular diseases, hypertension, and dyslipidemia, as well as prostatic alterations. Recent evidence indicates that excess adipose tissue and the chronic low-grade inflammatory state characteristic of obesity may contribute to structural and functional changes in the prostate, including modifications in the stromal and glandular epithelial compartments, and may also influence the development of conditions such as benign prostatic hyperplasia. Among the possible strategies for treatment and/or prevention, the use of medicinal plants, such as *Hibiscus sabdariffa* tea, has been investigated both for its potential lipid-lowering effects and for its possible role in attenuating the systemic and tissue-level consequences of obesity as a whole.

Objective: To evaluate the systemic effects of *Hibiscus sabdariffa* (HS) tea and its impact on the prostatic tissue of Wistar rats, using an experimental model of obesity induced by a palatable high-fat diet (HFD).

Methodology: Forty-eight male Wistar rats were studied, divided into four groups (n=12): G1 (control): animals fed a commercial diet and given water; G2: commercial diet and HS tea; G3: HFD and water; and G4: HFD and HS tea. The animals received their respective diets and tea *ad libitum* for 16 weeks, being weighed weekly and evaluated for food and fluid intake. At the end of the experiment, the animals were euthanized for blood collection (for biochemical, hormonal, and inflammatory cytokine analyses) and prostate collection (for histological and histomorphometric evaluations).

Results: Animals supplemented with HFD (G3 e G4) showed a significant weight gain (616.2 and 591.8 g) compared to the control group (493.2 g; $p < 0.05$), more evident in G3. The 24-hour urine creatinine clearance rate (16th week) showed a significant decrease in G3 compared to G1 (1.34 vs. 2.69 and 2.66 mL/kg/min, respectively), but remained unchanged in the groups that received HS tea. Serum testosterone levels showed no significant differences between groups, while serum electrolyte analysis revealed only an increase in sodium levels in G4 compared to the control (142.15 vs. 138.23 mEq/L, respectively). Lipid profile assessment showed a significant reduction in LDL cholesterol and triglycerides in G2 compared to the control (5.0 vs. 7.5 and 46.3 vs. 83.2 mg/dL, respectively; $p < 0.05$). Among the inflammatory cytokines analyzed, a marked increase in leptin was observed in the obesity-induced groups (G3 and G4), along with a reduction in serum IL-1 α levels in the groups receiving HS tea, particularly G4. Histomorphometric analysis revealed increased nuclear volume in G3 and G4, as well as a reduction in epithelial thickness compared to G1. All groups showed a reduction in interstitial area compared to the control.

Conclusion: The experimental model of obesity in rats was able to induce systemic biochemical and inflammatory alterations, in addition to promoting structural changes in the prostate of these animals. *Hibiscus sabdariffa* tea showed several beneficial effects on the evaluated parameters, even in non-obese animals; however, these effects were not sufficient to fully reverse or prevent the morphological and functional alterations induced by obesity in this study model.

Keywords: rat; obesity; *Hibiscus*; prostate.

LISTA DE ABREVIATURAS

°C: Grau Celsius

CaP: Câncer de próstata

Ccr: *Clearance* de creatinina

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CONCEA: Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal.

dL: Decilitro

DNA: Ácido desoxirribonucleico (*Desoxyribonucleic acid*)

FGF21: Fator de Crescimento de Fibroblastos 21

FMVZ: Faculdade de medicina veterinária e zootecnia

g: Grama

HDL: *High density lipoprotein* (Lipoproteína de alta densidade)

HE: Hematoxilina-eosina

HPB: Hiperplasia prostática benigna

HS: *Hibiscus sabdariffa*

IFN γ : Interferon gama

IGF-1: Fator de crescimento semelhante à Insulina-1

IL-8: Interleucina 8

IM: Intramuscular

IMC: Índice de massa corpórea

IP: Intraperitoneal

Kg: Quilogramas

LDL: *Low density lipoprotein* (Lipoproteína de baixa densidade)

LUTS: *Lower urinary tract symptom* (Sintomas do trato urinário baixo)

m²: Metro quadrado

min: Minutos

mL: Mililitros

MMP-9: Metaloproteinase 9

ng: nanograma

OC: Obesidade central

RPM: Rotações por minuto

SM: Síndrome metabólica

TNF: Fator de necrose tumoral

UNESP: Universidade Estadual Paulista

VGEF: Fator de crescimento endotelial vascular (*Vascular growing endotelial factor*)

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: A. <i>Pellet</i> moldado da DPH após secagem. B. <i>Pellets</i> da ração comercial Labina® (Purina).	22
Figura 2: Becton Dickinson (BD) FACSCalibur Flow Cytometer 4 Color.	25
Figura 3. Lobo prostático do rato, aumento de 10 vezes.	26
Figura 4: Scanner Aperio, da marca LEICA®	27
Figura 5. Acino prostático do rato (aumento de 20 vezes).....	27
Figura 6. Exemplo de análise histomorfométrica utilizando o programa Panoramic Viewer: Medida da espessura do epitélio (A) e tamanho do núcleo (B).	29

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Critérios histológicos avaliados na próstata dos roedores *	28
Variável Analisada	28
Tabela 2: Valores do peso corporal (em gramas) dos animais nos diferentes grupos, após exposição a diferentes condições experimentais, ao longo das 1 ^a , 4 ^a , 8 ^a , 12 ^a e 16 ^a semanas...	31
Tabela 3: Taxa de depuração da creatinina (CCr em mL/Kg/min) nos diferentes grupos experimentais após 16 semanas de experimento.	32
Tabela 4: Mediana de valores mínimo e máximo de Testosterona sérica (ng/dL) nos animais, segundo grupo de estudo.	32
Tabela 5: Valores dos eletrólitos séricos (mEq/L), nos diferentes grupos de estudo, ao final do experimento.	33
Tabela 6: Análise do perfil lipídico sérico (mg/dL) nos animais, segundo diferentes grupos de estudo, ao final do experimento.....	34
Tabela 7: Mediana e valores mínimo e máximo das citocinas pró-inflamatórias (pg/mL) dosadas no plasma sanguíneo de ratos, segundo grupo de estudo.	35
Tabela 8: Mediana de valores mínimo e máximo das citocinas anti-inflamatórias dosadas no plasma sanguíneo de ratos, segundo grupo de estudo.	35
Tabela 9: Resultados dos parâmetros histopatológicos da próstata analisados pela microscopia óptica..	36
Tabela 10: Resultados das variáveis prostáticas avaliadas pela histomorfometria, segundo grupo de estudo.....	36

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. HIPÓTESES E OBJETIVOS	19
2.1. Hipóteses	19
2.2. Objetivos.....	19
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	20
3.1. Delineamento do estudo e <i>sequência</i> experimental.....	20
3.2. Animais.....	21
3.3. Grupos Experimentais – Dietas e Suplementação com chá de Hibisco	21
3.4. Preparo da dieta palatável hiperlipídica (DPH ou dieta de cafeteria).....	22
3.5. Validação e preparo do chá de hibisco (<i>Hibiscus sabdariffa</i>).....	22
3.6. Anestesia geral.....	23
3.7. Eutanásia.....	23
3.8. Parâmetros avaliados	23
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	30
5. RESULTADOS	31
5.1. Avaliação do ganho de peso dos animais	31
5.2. Clearance de Creatinina (CCr) e urina de 24 horas	32
5.3. Dosagem da Testosterona sérica.....	32
5.4. Avaliação dos parâmetros séricos bioquímicos e hormonais	33
5.5. Avaliação das citocinas pró e anti-inflamatórias	34
5.6. Análise Histopatológica da Próstata	35
5.7. Análise Histomorfométrica da Próstata	36
6. DISCUSSÃO	39
7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO	46
8. CONCLUSÃO.....	47
9. REFERÊNCIAS	48
10. ANEXO	56
Comitê de <i>Ética</i>	56

1. INTRODUÇÃO

Em linhas gerais, a obesidade se caracteriza pelo excesso de gordura corpórea, que pode ser desencadeada por erros no metabolismo e/ou na utilização dos nutrientes. Da mesma forma, pode ser decorrente ainda de um balanço energético positivo, que ocorre quando o valor calórico ingerido é superior ao gasto, resultando em aumento dos estoques de energia e do peso corporal. O início da manutenção de um balanço calórico positivo relativo pode ser consequência tanto de aumento na ingestão calórica, como da redução do total calórico gasto, ou mesmo dos dois fatores combinados¹.

A Organização Mundial da Saúde (OMS) define sobrepeso e obesidade em adultos, respectivamente, como um índice de massa corporal (IMC) maior ou igual a 25 kg/m² e maior ou igual a 30 kg/m², com base no cálculo de peso corporal dividido pela altura ao quadrado. Segundo estimativas mais recentes, em 2022 cerca de 43% dos adultos em todo o mundo estavam com sobrepeso, dos quais aproximadamente 16% eram classificados como obesos, e a prevalência global de obesidade mais do que dobrou desde 1990. Em termos absolutos, cerca de 2,5 bilhões de adultos tinham excesso de peso em 2022, incluindo mais de 890 milhões vivendo com obesidade, o que reforça a obesidade como um importante desafio de saúde pública mundial². Notoriamente, nas duas últimas décadas a prevalência da obesidade tem aumentado em um ritmo alarmante, tanto nos países de primeiro mundo quanto naqueles em desenvolvimento, sendo considerado um problema epidemiológico global. Como fato ainda mais agravante, esta mesma tendência tem sido observada também entre a população infantil³.

Atualmente, a obesidade é compreendida não como uma desordem singular, mas como uma condição multifatorial resultante da interação entre fatores genéticos, ambientais e comportamentais, que culminam no fenótipo obeso. Nesse contexto, a obesidade central (OC), caracterizada pelo acúmulo predominante de tecido adiposo visceral na região abdominal, é considerada metabolicamente mais nociva do que a obesidade generalizada, uma vez que esse compartimento adiposo apresenta maior atividade endócrina e metabólica. O tecido adiposo visceral atua como um órgão secretor de adipocinas e citocinas pró-inflamatórias, como TNF- α , IL-6 e leptina, promovendo um estado inflamatório crônico de baixo grau, além de contribuir para resistência à insulina, dislipidemia e disfunções no metabolismo da glicose. Ademais, o aumento do fluxo de ácidos graxos livres para a circulação portal favorece alterações hepáticas e intensifica o desequilíbrio metabólico sistêmico. A adoção de hábitos

alimentares inadequados, com elevado consumo de gorduras e dietas hipercalóricas, associada à redução da atividade física, contribui de forma significativa para o balanço energético positivo, favorecendo o acúmulo de gordura visceral e a progressão das alterações metabólicas associadas à obesidade.⁴

Estudos recentes têm demonstrado que a obesidade, frequentemente, está associada a diversas doenças crônicas não transmissíveis como hipertensão arterial, hipercolesterolemia, hiperlipidemia, doenças cardiovasculares⁵, alterações renais¹, hepatopatias⁶, entre outras. Outros distúrbios metabólicos típicos dos indivíduos obesos incluem a obesidade central, baixos níveis de colesterol de alta densidade (*high-density lipoprotein* – HDL), níveis elevados de triglicérides, colesterol total e sua fração de baixo peso molecular (*low-density lipoprotein* – LDL) e hipertensão arterial que, quando presentes em associação, recebem a designação de Síndrome Metabólica⁵.

Paralelamente, a crescente incidência de diabetes, obesidade e síndrome metabólica (SM) tem sido acompanhada de um claro aumento nas complicações urológicas⁷. A obesidade e a SM já foram estabelecidas como fatores de risco comuns para sintomas do trato urinário inferior (*lower urinary tract symptoms* – LUTS), incluindo bexiga hiperativa, incontinência urinária e alterações prostáticas como a hiperplasia prostática benigna e o câncer de próstata, entre outros^{8,9,10,11,12}.

A hiperplasia prostática benigna (HPB) é uma das condições médicas mais comuns entre homens com mais de 50 anos, mas suas relações com estilo de vida e fatores demográficos não foram completamente esclarecidas. Muitas são as hipóteses sugeridas para justificar os efeitos da obesidade em pacientes com HPB, onde a obesidade causaria aumento da pressão intravesical, potencialmente exacerbando ou piorando os sintomas da HBP. Outro mecanismo sugerido é de que o aumento da atividade nervosa simpática observada em pacientes portadores de obesidade do tipo central poderia influenciar no desenvolvimento de HBP e agravar os sintomas obstrutivos urinários neste grupo de pacientes¹³. Outra hipótese proposta é que a OC, através da instalação de um processo inflamatório crônico e da ativação do estresse oxidativo, contribuiria para a isquemia tecidual e consequente instalação de um ambiente intra-prostático favorável ao desenvolvimento da HPB¹³.

Evidências recentes e diretrizes clínicas atuais reconhecem que fatores metabólicos e comportamentais, incluindo a obesidade — especialmente em sua forma central — estão associados ao maior risco e à piora dos sintomas do trato urinário inferior atribuídos à hiperplasia prostática benigna (HPB). Nesse contexto, a obesidade central é considerada um

fator relevante na apresentação clínica da doença, reforçando a importância de estratégias de prevenção e manejo que incluam, além do tratamento urológico, a modificação do estilo de vida.¹⁴

Análises prévias encontraram um aumento significativo do IMC associado a LUTS mais graves, enquanto uma maior relação cintura-quadril foi marginalmente associada a LUTS moderado a grave¹². Da mesma forma, uma maior circunferência da cintura foi significativamente associada ao maior risco de cirurgia prostática¹⁵. Na HPB, os sintomas de LUTS são decorrentes do aumento do volume da próstata, refletindo a intensa proliferação celular e consequente hiperplasia tecidual. Neste sentido, estudos realizados demonstraram que homens obesos têm um tamanho da próstata significativamente maior quando comparado a homens não obesos^{16,17,18}.

Como agravante, além da possível correlação com alterações prostáticas benignas, estudos sugerem ainda que a obesidade pode contribuir com o desenvolvimento de várias neoplasias por meio da ativação da via sistêmica da inflamação¹⁹. A inflamação crônica é a principal etiologia por trás do desenvolvimento de vários tipos de câncer, como o carcinoma hepatocelular, o carcinoma de células escamosas da bexiga, o câncer colorretal, o câncer gástrico, entre outros. De acordo com essa teoria, a infiltração de células inflamatórias no tecido local — fenômeno frequentemente observado em estados de inflamação crônica associados à obesidade — resulta na produção sustentada de espécies reativas de oxigênio (ERO) e de nitrogênio (ERN). Essas moléculas, geradas principalmente por macrófagos ativados, neutrófilos e outras células da imunidade inata, são capazes de induzir danos oxidativos ao DNA e promover mutações em epitélios previamente normais, contribuindo para a carcinogênese²⁰. Corroborando essa hipótese, processos inflamatórios agudos ou crônicos constituem achados histológicos frequentes tanto em tecidos benignos quanto malignos em espécimes de prostatectomias radicais, sugerindo que a persistência da ativação imune e do estresse oxidativo cria um microambiente favorável à progressão tumoral²¹.

A inflamação na próstata pode ser decorrente de diferentes fatores, tais como bactérias que causam prostatite e/ou doenças sexualmente transmissíveis; alterações hormonais, trauma físico, refluxo de urina para a próstata, fatores ambientais e dietéticos, entre outros^{22,23}. Assim sendo, hábitos alimentares incorretos poderiam resultar em inflamação da próstata e, cronicamente, resultar em carcinogênese precoce^{24,25}. No entanto, apesar de tais constatações, a associação de células imunes em microambientes tumorais com câncer de próstata ainda não está clara. A exemplo do que ocorre com a HPB, vários mecanismos também foram propostos

para explicar a associação entre obesidade e câncer de próstata (CaP), tais como alterações do eixo insulina/fator de crescimento semelhante à insulina (IGF) -1, hormônios sexuais alterados (testosterona sérica diminuída e aromatização periférica de andrógenos) e sinalização de adipocinas causadas por inflamação^{26,27,28}. Independentemente do mecanismo envolvido, vários são os estudos sugerindo uma associação da obesidade com o risco de CaP. Um estudo prospectivo com 3.673 homens nos Estados Unidos mostrou que o maior índice de massa corporal foi um preditor independente de câncer de próstata (risco relativo = 1,7 para IMC >27,8 kg/m² em comparação com <23,6 kg/m²). A mudança percentual no IMC desde a linha de base até os 50 anos também foi positivamente associada ao risco de CaP²⁹.

Diante do acima exposto, fica evidente a associação entre obesidade e as doenças crônicas de alta prevalência; particularmente as que acometem a próstata. Tal fato destaca a importância da realização de estudos que abordem tanto os aspectos epidemiológicos, etiológicos e fisiopatogênicos da obesidade, quanto medidas terapêuticas efetivas que possam auxiliar no seu controle. Vale destacar que tanto a terapia para tratamento da obesidade quanto a da hiperplasia prostática com o uso de medicamentos convencionais apresenta alto custo e, com frequência, estão associadas a efeitos colaterais indesejáveis³⁰.

Com intuito de minimizar tais inconvenientes, o uso de produtos naturais para tratamento destas patologias vem sendo investigado, com a perspectiva de constituir uma boa estratégia terapêutica. Com o notório aumento da obesidade e o envelhecimento da população é importante pesquisar metodologias alternativas de tratamento, como os efeitos de plantas medicinais, que podem, eventualmente, beneficiar simultaneamente tanto o tratamento da obesidade quanto da HPB, de forma econômica e segura nesse real cenário de progressão.

A pesquisa dos potenciais efeitos de novas drogas e estratégias terapêuticas sobre as alterações prostáticas, particularmente aquelas induzidas pela obesidade em seres humanos, é muito difícil de ser delineada e colocada em prática. Como alternativa, pesquisas experimentais utilizando modelos animais foram capazes de induzir obesidade a partir de dietas hipercalóricas em roedores demonstrando, inclusive, que ratos obesos desenvolveram resistência à insulina, hiperinsulinemia e redução dos níveis plasmáticos de testosterona³¹. Estudos demonstraram ainda que histologicamente a incidência de neoplasia intraepitelial da próstata (PIN) foi 2,7 vezes maior em ratos obesos e a obesidade resultou ainda na maior proliferação celular tanto do estroma quanto do epitélio prostático³². Tais resultados nos permitem inferir que modelos animais poderiam ser também utilizados, objetivando auxiliar na pesquisa sobre as alterações prostáticas induzidas pela obesidade, bem como avaliar os

efeitos das drogas em potencial ou mesmo terapias a serem empregadas na tentativa de minimizar essas alterações.

Neste cenário, o chá de hibisco surge como uma interessante opção pois, além de conferir diversos benefícios à saúde, contém propriedades antioxidantes, apresenta efeitos protetores contra doenças cardiovasculares, confere nefroproteção e redução de danos hepáticos³³. Conhecido popularmente em muitos países, pode ser utilizado com fins decorativos ou ter suas sementes e cálices utilizados no consumo humano, na maioria das vezes como infusões, consumido na forma de chás. Esta planta contém substâncias como a vitamina C, betacaroteno, licopeno, polifenóis, antocianinas e outros antioxidantes solúveis em água. Diversos estudos revelam que os compostos presentes no hibisco apresentam potente atividade antioxidante e antineoplásica³⁴, razão pela qual seu extrato aquoso tem sido comumente utilizado na medicina popular para tratamento de hipertensão, febre, inflamação, doenças do fígado e obesidade³⁵.

A investigação dos possíveis efeitos anti-inflamatórios do chá de hibisco sobre as alterações prostáticas induzidas pela obesidade em seres humanos é de difícil estruturação e aplicação prática, o que nos leva a considerar que a utilização de modelos animais poderia contribuir nesse contexto. Apesar dos potenciais efeitos sugeridos no combate aos distúrbios causados pela obesidade existem poucos estudos avaliando os eventuais benefícios produzidos pelo hibisco em modelos experimentais de obesidade. Ademais, não foi encontrado na literatura consultada nenhum estudo acerca dos prováveis efeitos desta planta sobre a próstata em condições de obesidade.

Deste modo, o presente estudo tem como objetivo avaliar os possíveis efeitos do chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*) sobre as eventuais alterações estruturais da próstata induzidas pela obesidade, em um modelo experimental em ratos.

2. HIPÓTESES E OBJETIVOS

2.1. Hipóteses

A suplementação alimentar com dieta palatável hiperlipídica (DPH) em ratos seria capaz de induzir obesidade nestes animais, alterando seus parâmetros bioquímicos séricos, hormonais e inflamatórios; caracterizados por alterações do perfil lipídico, da função renal, dos níveis de testosterona e das concentrações de citocinas pró e anti-inflamatórias. Paralelamente, os efeitos da obesidade sob a próstata poderiam se traduzir em alterações na arquitetura prostática destes animais, as quais seriam avaliadas por meio da análise histopatológica.

A segunda hipótese relaciona-se à pesquisa dos efeitos do uso do *Hibiscus sabdariffa* (HS) no combate aos eventuais efeitos adversos induzidos pela obesidade observados nestes animais. Esta proposta está baseada em estudos disponíveis na literatura que atribuem a esta planta diferentes efeitos medicinais, os quais incluiriam propriedades anti-inflamatórias, hipolipemiantes e de combate aos efeitos gerais da obesidade. Até onde sabemos, não estão disponíveis na literatura estudos focados em avaliar os efeitos do HS sob a arquitetura prostática em condições experimentais de obesidade.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo geral

Avaliar os efeitos da obesidade induzida por dieta palatável hiperlipídica e da suplementação com *Hibiscus sabdariffa* sobre parâmetros bioquímicos séricos, hormonais e inflamatórios em ratos, por meio de análises do perfil lipídico, da função renal e das concentrações de citocinas pró e anti-inflamatórias, bem como por meio da análise histopatológica e histomorfométrica da próstata desses animais..

2.2.2. Objetivos específicos

- Investigar as diferentes propriedades medicinais atribuídas ao *Hibiscus sabdariffa*.
- Identificar quais dessas propriedades apresentam potencial para prevenir os efeitos adversos induzidos pela obesidade na estrutura prostática desses animais.
- Determinar as propriedades capazes de atenuar os efeitos deletérios decorrentes da obesidade sobre a estrutura prostática desses animais.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. Delineamento do estudo e sequência experimental

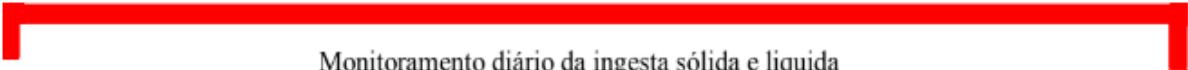
A pesquisa foi realizada utilizando-se material biológico estocado proveniente de estudo previamente realizado no Laboratório de Patologia e no Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ da UNESP, Campus de Botucatu. Tal projeto foi submetido e aprovado junto Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ da UNESP, sob o título: “Influência do chá de *Hibiscos sabidarriffa* na função renal, perfil lipídico e eletrolítico. Modelo experimental de obesidade em ratos” (número de protocolo: 235/2012 – sob responsabilidade da professora Alessandra Melchert).

Trata-se de um projeto conjunto envolvendo a Divisão de Urologia da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP e os Laboratórios de Patologia e Clínica da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – FMVZ da UNESP de Botucatu, com a participação do Departamento de Patologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Botucatu – UNESP e do Laboratório Experimental da Faculdade de Medicina da UNESP – UNIPEX.

O protocolo experimental deste estudo foi conduzido em conformidade com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA). Sendo assim, o mesmo foi também submetido e aprovado junto ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Medicina – UNESP, sob o título: “Efeito do chá de hibisco na próstata de ratos obesos” (Certificado nº 1259/2018 – CEUA).

Os animais foram acondicionados em gaiolas individuais a fim de permitir adequado controle da ingesta de sólidos e líquidos. O período de experimentação foi de 16 semanas onde todos os procedimentos envolvendo coleta de materiais, aferição de dados, bem como a administração das dietas foram realizados pelo mesmo observador. Após o início do fornecimento das dietas e da ingestão líquida (chá de hibisco ou água), o consumo diário foi monitorado e o ganho de peso avaliado semanalmente. Ao final do experimento, após anestesia, os animais foram eutanasiados para coleta de sangue e da próstata para realização das dosagens séricas de interesse e análise histopatológica.

O diagrama a seguir resume a sequência dos principais eventos ao longo do período de estudo.

Momento 0 (M0)**16 semanas****Momento (M1)**


Monitoramento diário da ingesta sólida e líquida
Monitoramento semanal do peso
Clearance creatinina 16 semanas

Início da Intervenção (M0)

- Oferta de dietas normal e DPH
- Oferta de água e chá de HS
- Pesagem dos animais

Final da Intervenção (M1)

- Eutanásia
- Coleta de sangue:
função renal, citocinas
inflamatórias, testosterona,
perfil lipídico, eletrólitos
- Clearance creatinina
- Coleta da próstata

3.2. Animais

Foram utilizados 48 ratos *Wistar*, adultos, machos, com peso corporal entre 200 e 250gr, provenientes do Biotério Central da Unesp – Botucatu. Durante o experimento os animais foram mantidos no Laboratório Clínico da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia de Botucatu, em caixas plásticas, alocados individualmente, com livre acesso à água ou chá de hibisco, ração ou dieta palatável hiperlipídica, com controle de luz (ciclos de 12 h), temperatura de aproximadamente 22-25°C, por 16 semanas, sendo realizada a eutanásia ao final do experimento.

3.3. Grupos Experimentais – Dietas e Suplementação com chá de Hibisco

Os animais foram divididos em 4 grupos com 12 indivíduos cada (n=12):

- Grupo controle (G1): animais alimentados com ração comercial para ratos (Labina[®], Purina) e ingestão de água *ad libitum*.
- Grupo controle + hibisco (G2): animais alimentados com dieta comercial para ratos (Labina[®], Purina) e ingestão de chá de hibisco *ad libitum*.
- Grupo obeso (G3): animais alimentados com dieta palatável hiperlipídica (DPH) e ingestão de água *ad libitum*.
- Grupo obeso + hibisco (G4): animais alimentados com DPH e ingestão de chá de hibisco *ad libitum*.

Os animais receberam as dietas (normal ou DPH) e o chá/água durante 16 semanas, sendo administrados “*ad libitum*” em comedouros e bebedouros próprios para ratos. Durante o período de intervenção, os animais foram pesados semanalmente e os consumos anotados para posterior avaliação.

3.4. Preparo da dieta palatável hiperlipídica (DPH ou dieta de cafeteria)

A DPH ou dieta de cafeteria utilizada foi padronizada por Estadella e colaboradores³⁶, que consiste em uma mistura hipercalórica, normoprotéica e hiperlipídica contendo ração comercial LABINA® (Figura 1-B), amendoim torrado, chocolate ao leite e bolacha de maisena na proporção 3:2:2:1, administrada “*ad libitum*”. Esta dieta apresenta a seguinte composição: 20% de proteínas, 20% de lipídios, 48% de carboidratos e 4% de fibras.

Para preparo da referida dieta foram moídos, separadamente, em liquidificador industrial, os ingredientes secos (ração, bolacha maisena e amendoim). Após a moagem, o chocolate ao leite foi derretido em banho maria, e incorporado aos ingredientes secos, formando uma massa. Esta massa foi moldada em forma de *pellets* de ração e após secagem, armazenada sob refrigeração. A DPH foi preparada semanalmente.



Figura 1: A. *Pellet* moldado da DPH após secagem. B. *Pellets* da ração comercial Labina® (Purina).

3.5. Validação e preparo do chá de hibisco (*Hibiscus sabdariffa*)

Após aquisição do chá comercial de *Hibiscus sabdariffa* foi recolhida uma amostra dos cálices. A partir da amostra hidratada realizou-se uma avaliação histopatológica para comparação com a planta coletada *in loco* e seca, de acordo com as técnicas do Departamento de Botânica da Unesp, Campus de Botucatu. Este procedimento permitiu a identificação e validação do chá comercial, provando que a amostra comercial realmente é originária da planta. Todos os chás adquiridos pertenciam ao mesmo lote comercial.

Após a devida identificação, foi realizado o preparo do chá, diariamente, de acordo com o preconizado por McKAY e colaboradores³⁷. Foram adicionados a 240 mL de água quente (60 °C), 1,25g de chá de hibisco que permaneceu em infusão durante 6 minutos. Após este tempo o chá foi coado e, após resfriamento, oferecido aos animais como única fonte hídrica no bebedouro próprio para ratos, para os grupos G2 e G4. A cada 24 horas foi realizado novo preparo do chá, com respectiva substituição no bebedouro dos ratos, sempre no período da manhã.

3.6. Anestesia geral

Ao final das 16 semanas do estudo, os animais foram anestesiados, com a associação de tiletamina e zolazepam (zoletil®), na dose de 30 mg/Kg, via intramuscular (IM) e tiopental sódico (thiopentax®), na dose de 60 mg/Kg, via intraperitoneal (IP) para coleta de sangue e tecidos³⁸.

3.7. Eutanásia

Após a anestesia geral e coleta de sangue, a eutanásia dos animais foi realizada com doses letais de anestésico, utilizando-se o triplo da dose de tiopental sódico (Thiopentax®), portanto, 120 mg/Kg, via IP³⁸. Uma vez verificada ausência de parâmetros vitais, como movimentos respiratórios e cardíacos compatíveis com a vida, o óbito foi constatado, procedendo-se então à laparotomia para remoção do aparelho geniturinário em bloco (incluindo-se a próstata).

3.8. Parâmetros avaliados

3.8.1. Peso corporal

Durante o experimento os animais foram pesados semanalmente, com o peso avaliado em gramas (g), em balança digital Filizola®, realizando-se, portanto, 18 pesagens em cada animal durante todo o período de observação.

3.8.2. Ingestão alimentar e hídrica

Semanalmente foi realizada a monitorização do consumo das respectivas dietas e da ingestão líquida (chá ou água). Para tal, foi colocado peso/volume preestabelecidos de

ração/água ou chá, respectivamente e, após 24 horas, foi realizada a mensuração das sobras. A ração ou DPH foram pesadas em balança digital (Filizola®), e a água ou chá tiveram o volume mensurado em proveta graduada.

3.8.3. Avaliação da urina

Em um momento específico do estudo, na décima sexta semana, os animais foram alocados em gaiola metabólica para coleta de urina de 24 horas, com livre acesso à água e comida. Foi realizada urinálise e avaliado o débito urinário, em mL (mililitros), nas 24 horas. A depuração da creatinina (*Cleareance* de creatinina – Ccr) foi calculada a partir da fórmula transcrita abaixo³⁹, sendo seu resultado final expresso em mililitros/minuto/quilo de peso (mL/min/Kg). Para este cálculo foram utilizados os valores da creatinina sérica obtidos no momento da eutanásia e da dosagem da creatinina urinária de cada animal em cada uma das amostras; o volume urinário de 24 horas nos diferentes momentos e o peso corporal do animal em cada momento da avaliação.

$$\text{Ccr} = \frac{\text{Cr de urina (mg / dL)} \times \text{volume de urina (mL)}}{(\text{mL/Kg/min}) \text{ Cr sérica (mg/dL)} \times [1000 / \text{peso corporal (g)}] \times 1440 (\text{min})}$$

3.8.4. Avaliações sanguíneas

Após realização da sedação e anestesia dos animais, foi realizada toracotomia e exposição do coração para punção cardíaca com agulha 30 x 0,7 acoplada à seringa de cinco mililitros (ml) para obtenção de sangue e posterior determinação dos parâmetros bioquímicos séricos. Cerca de 5 a 7 ml de sangue de cada animal foram mantidos em tubo de vidro seco, em repouso, por cerca de 15 minutos, após o qual ocorreu a retração do coágulo. Em seguida, o soro foi separado utilizando-se a centrífuga *IEKE®* modelo LC a 2500 rpm por 15 minutos. O soro resultante deste processo foi identificado e congelado, sendo mantido a –180°C em freezer (*Cônsul® Practice 240l*), até o momento das dosagens séricas pelo método automatizado *Cobas Mira Plus*, no Laboratório Clínico Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia (FMVZ), UNESP, Campus de Botucatu.

Tal amostra se destinou à mensuração das citocinas inflamatórias; creatinina para cálculo do *Clearence* de Creatinina; cálcio; sódio; potássio; dosagem de triglicérides,

colesterol total e suas frações de baixo e alto peso molecular (LDL e HDL, respectivamente). A dosagem da creatinina foi realizada utilizando-se o *kit* bioquímico da marca *KATAL*® pelo método do picrato alcalino (Bioclin®, Química básica, Brasil).

As concentrações da leptina, adiponectina e interleucina 8 (IL-8) foram determinadas no soro usando kits de ensaio ELISA (Millipore, St. Charles, MO, EUA). Toda metodologia foi realizada nas dependências dos laboratórios da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP. Os valores foram relatados em nanogramas por decilitro de soro (ng/dL).

As dosagens das interleucinas 4 e 1 alfa foram realizadas pelo método de Cytometric Bead Array® utilizando kits CBA Rat Soluble Protein – Flex Set, de acordo com as instruções do fabricante. Foram utilizados 50 microlitros (µL) de plasma de cada animal para detecção simultânea das proteínas solúveis. Neste imuno ensaio cada uma das *beads* fluorescentes é conjugada a um anticorpo específico e a detecção de ligação entre anticorpo e proteína de interesse é feita por anticorpos monoclonais conjugados com fluorocromos ficoeritina (PE) (fluorescência distinta das *beads*), fornecendo sinal de fluorescência proporcional à quantidade de citocina presente na amostra, avaliados por citometria de fluxo. Foi utilizado equipamento modelo FACSCalibur-4 color® (BD) para as aquisições da citometria de fluxo e foram analisadas no software BD FCAArray® (**Figura 2**). Os resultados foram expressos em picogramas por mililitros (pg/mL).



Figura 2: Becton Dickinson (BD) FACSCalibur Flow Cytometer 4 Color.

3.8.5. Análise histopatológica da próstata

Imediatamente após a constatação do óbito, o aparelho gênito urinário do rato foi removido em bloco (bexiga e próstata), por meio de incisão cirúrgica tipo laparotômica, e armazenado em formaldeído tamponado durante 24hs. O material foi estocado em álcool 70% até o momento da inclusão em parafina para posterior análise histopatológica.

Para tal, foram realizados cortes de 5 μ de espessura e corados pelo método de hematoxilina-eosina (HE) conforme demonstrado na figura 3.

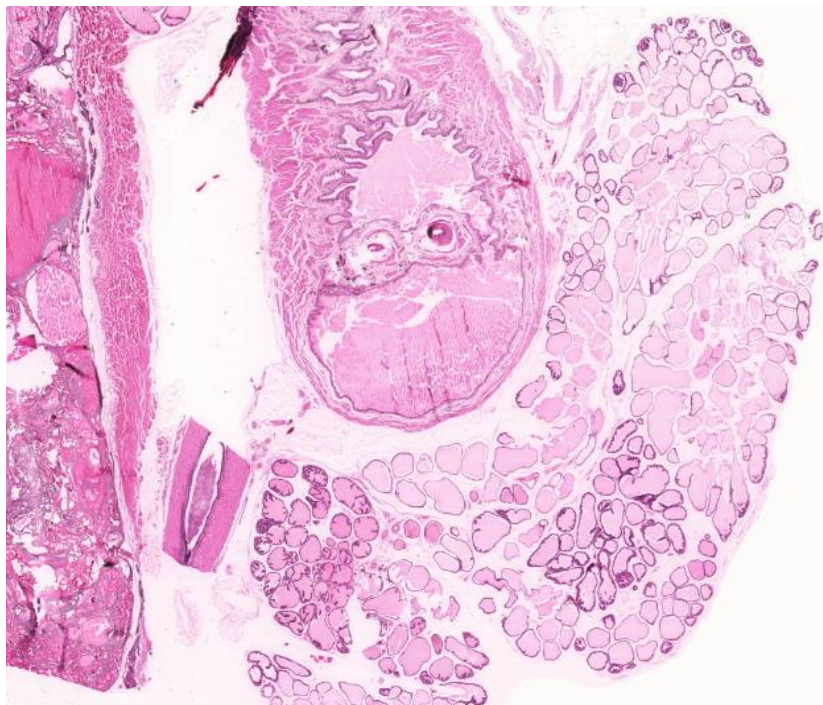


Figura 3. Lobo prostático do rato, aumento de 10 vezes.

Após secção da próstata e fixação da lâmina em HE, as imagens foram escaneadas utilizando-se o *scanner* Aperio, da marca LEICA® (Figura 4) e as imagens avaliadas de maneira cega, utilizando microscopia óptica sob aumento de 40 vezes.



Figura 4: Scanner Aperio, da marca LEICA®

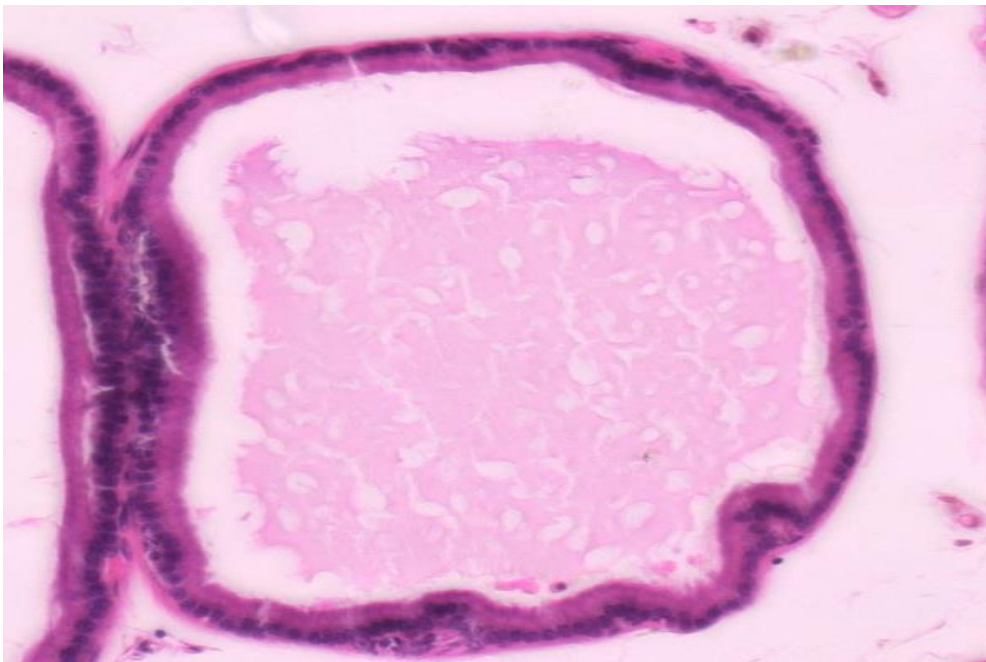


Figura 5. Acino prostático do rato (aumento de 20 vezes)

Esta metodologia permitiu a caracterização da arquitetura prostática de acordo com seus componentes epiteliais, estromais, glandulares e nucleares (Figura 5); tomando-se como base a arquitetura normal da próstata do rato (Tabela 01), conforme proposto por Herrera e colaboradores⁴⁰.

Tabela 1: Critérios histológicos avaliados na próstata dos roedores *

Variável Analisada	Apresentações Possíveis			
Tipo de epitélio	cúbico	colunar	displasia leve	displasia severa
Espessura	normal	atrofiado	hiperplásico	irregular
Papilas	escassas	diminuídas	aumentadas	
Espaço Intersticial	normal	comprimido	aumentado	
Tamanho do núcleo	normal	diminuído	aumentado	anisocariose
Localização	central	polar		
Relação núcleo/citoplasma	1:4	1:2	1:1	outra
Conteúdo lúmen	amorfo	homogêneo	ausente	
Cromatina	dispersa	compactada		
Infiltrado inflamatório	ausente	leve	moderado	intenso
Neoplasia intraepitelial	ausente	presente		

* Modificado de Herrera *et al*, 2015.

As análises histomorfométricas da próstata foram realizadas a partir das lâminas obtidas do tecido prostático dos animais de todos os grupos experimentais. As imagens foram examinadas utilizando o software Panoramic Viewer, por meio do qual foram efetuadas as medições e quantificações morfométricas (Figura 6). De cada lâmina prostática foram selecionados cinco ácinos representativos, nos quais foram realizadas as seguintes mensurações: o diâmetro de dez núcleos celulares do epitélio cúbico e dez núcleos do epitélio colunar; a espessura epitelial em cinco pontos distintos de cada tipo epitelial (cúbico e colunar); e a distância entre dois núcleos adjacentes, em dez locais distintos, para determinação da relação núcleo-citoplasma. Além disso, foram mensuradas as áreas lumbais acinares e prostáticas, em quatro regiões visualizadas a uma distância de 800 micrômetros, sendo os valores expressos em micrômetros quadrados (μm^2).

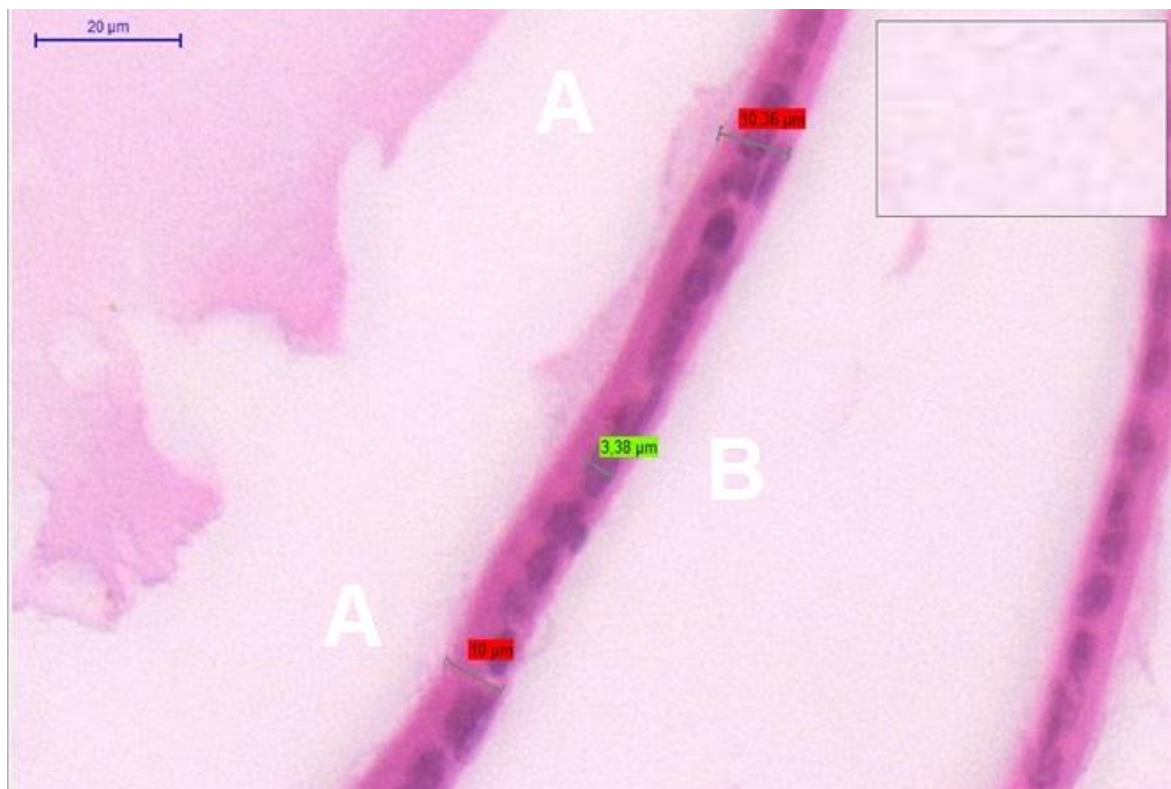


Figura 6. Exemplo de análise histomorfométrica utilizando o programa Panoramic Viewer: Medida da espessura do epitélio (A) e tamanho do núcleo (B).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados obtidos foram expressos como média e desvio padrão. Para o estudo de variáveis quantitativas como peso corporal, uréia, creatinina e perfil lipídico, por exemplo, foi considerado o modelo de medidas repetidas em um esquema de dois fatores (dieta e hibisco), complementado pela comparação múltipla de Bonferroni. A comparação entre as medidas de peso corporal em cada grupo foi realizada utilizando-se medidas repetidas ANOVA, seguidas pelo teste *post hoc* de Tukey. A análise estatística foi realizada utilizando-se o *software* SigmaStat versão 2.0 e os resultados foram considerados significativos com valores de $p < 0,05$.

O estudo estatístico das variáveis envolvendo as dosagens de interleucinas pró e anti-inflamatórias e análises morfológicas da próstata foram realizadas pela técnica da análise de variância não-paramétrica considerando o modelo de dois fatores independentes (oferta ou não do chá de hibisco/suplementação com DPH) complementada com o teste de comparações múltiplas de Dunn. Todas as conclusões serão discutidas no nível de 5% de significância.

Para caracterização dos parâmetros histopatológicos da próstata, os dados foram apresentados em mediana e percentil 25 e 75%. Consideramos as variáveis de resposta como contagem (1-3) e a comparação entre grupos foi realizada pelo teste de Kruskal-Wallis. Para as correlações entre as variáveis numéricas foi utilizado o método de Spearman.

5. RESULTADOS

5.1. Avaliação do ganho de peso dos animais

A medida do peso corporal realizada na primeira semana do experimento não demonstrou diferença significativa do peso corporal entre os grupos, refletindo a homogeneidade e a efetividade do processo de randomização quanto a este parâmetro. De maneira geral, a análise do peso corporal revelou que os animais ganharam peso progressivamente com o passar do tempo, mas que este ganho foi maior entre os animais suplementados com a DPH. Entretanto, a partir da quarta semana este ganho de peso foi significativamente maior nos grupos G3 e G4 quando comparados aos grupos controles.

Nota-se ainda, que a partir da décima segunda semana, somente no grupo G3 exibiu um aumento significativo de ganho de peso em relação a 16ª semana. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os Grupos G3 e G4 nos diferentes momentos. Os dados estão apresentados na tabela 2.

Tabela 2: Valores do peso corporal (em gramas) dos animais nos diferentes grupos, após exposição a diferentes condições experimentais, ao longo das 1ª, 4ª, 8ª, 12ª e 16ª semanas.

Semanas	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
1	200,5±13,4 ^{Aa}	211,5±18,7 ^{Aa}	215,9±22,0 ^{Aa}	212,2±22,0 ^{Aa}
4	359,0±35,0 ^{Ba}	371,2±27,1 ^{Ba}	412,7±61,8 ^{Bb}	420,5±48,7 ^{Bb}
8	422,6±43,3 ^{Ca}	410,6±38,4 ^{Ca}	496,4±83,0 ^{Cb}	494,9±67,5 ^{Cb}
12	464,8±54,1 ^{Da}	441,4±41,2 ^{Da}	562,2±93,5 ^{Db}	538,8±68,7 ^{Db}
16	493,2±52,7 ^{Da}	470,4±42,6 ^{Da}	616,2±98,9 ^{Eb*}	591,8±78,9 ^{Db**}

Letras maiúsculas diferentes nas colunas indicam diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$). Letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$); * $p < 0,01$: G1XG2.

Avaliando-se a monitorização da ingestão de ração realizada diariamente observou-se que os grupos controles G1 e G2 apresentaram, em média, um consumo de ração significativamente maior em relação aos grupos com dieta suplementada, G3 e G4 (27,6 ±1,8g, 25,8±2,1g Vs. 21,4±2,4, 21,3±3,2, $p < 0,05$ respectivamente). Não houve diferença

estatisticamente significativa nem entre os grupos G1 e G2 e, nem entre os grupos com dietas suplementas (G3 e G4).

Com relação à avaliação da ingestão de líquidos, não houve diferença estatística no volume de líquidos ingeridos (chá de hibisco ou água) entre os grupos, nos diferentes momentos.

5.2. Clearance de Creatinina (CCr) e urina de 24 horas

A taxa de depuração da creatinina na urina de 24 horas, avaliada ao final do estudo (16ª semana), mostrou uma diminuição significativa no grupo G3 em relação aos grupos G1 e G2. Entretanto, não houve diferença estatisticamente significativa entre G4 (DPH + Chá de Hibisco) e o grupo G1 e G2 (Tabela 3).

Tabela 3: Taxa de depuração da creatinina (CCr em mL/Kg/min) nos diferentes grupos experimentais após 16 semanas de experimento.

	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
CCr	2,69±1,3	2,66±1,5	1,34±0,83*	1,89±0,89

Valores são expressos em média ± desvio padrão. * p<0,05 = G3X G1, G2

5.3. Dosagem da Testosterona sérica

Apesar dos valores da mediana da testosterona sérica terem sido maiores entre os animais que receberam a suplementação com DPH associada ao chá de hibisco (G4), a análise global não revelou diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos, conforme demonstrado na tabela 4.

Tabela 4: Mediana de valores mínimo e máximo de testosterona sérica (ng/dL) nos animais, segundo grupo de estudo.

	GRUPOS				Valor p
	G1	G2	G3	G4	
Testosterona	1,27 (0,40;4,73)	1,78 (0,71;21,12)	1,62 (0,54;8,36)	2,94 (0,74;5,82)	>0,05

5.4. Avaliação dos parâmetros séricos bioquímicos e hormonais

a. Avaliação dos eletrólitos séricos

Os níveis séricos de sódio foram significativamente maiores no Grupo G4 em relação aos grupos G1 (controle) e G3. Não houve diferença estatisticamente significativa dos demais eletrólitos nos diferentes grupos (Tabela 5).

Tabela 5: Valores dos eletrólitos séricos (mEq/L), nos diferentes grupos de estudo, ao final do experimento.

Parâmetros séricos	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Cálcio	8,35±0,71	8,38±0,73	8,42±0,37	8,32±0,33
Sódio	138,23±2,55 [#]	139,77±3,90	137,92±2,25 ^{##}	142,15±1,91
Potássio	5,22±1,82	4,35±0,63	4,65±0,95	4,45±0,40

[#] p<0,05:G1XG4; ^{##} p<0,05:G3XG4

b. Avaliação do perfil lipídico no momento final

A análise do colesterol total, não demonstrou diferença estatisticamente significante entre os diferentes grupos (Tabela 6). Nota-se uma redução significativa na fração HDL do colesterol no Grupo G3 comparado aos Grupos G1 (controle) e G2, sem diferença entre os demais grupos.

A fração LDL do colesterol foi significativamente menor no grupo G2 em relação ao grupo controle (G1) e G3. Nota-se ainda, uma redução significativa do LDL nos animais obesos que receberam chá de hibisco (G4) em relação aos que não receberam (G3). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos G2 e G4. Os animais de G2, que recebeu chá de hibisco, apresentaram uma redução significativa nos níveis de triglicerídeos em relação aos demais grupos.

Os dados sobre perfil lipídicos estão expostos na tabela 6.

Tabela 6: Análise do perfil lipídico sérico (mg/dL) nos animais, segundo diferentes grupos de estudo, ao final do experimento.

Parâmetros séricos	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Colesterol	52,08±28,89	44,69±7,32	42,00±7,82	44,77±8,44
HDL	45,92±1,44	46,31±1,03	44,54±0,78*	45,46±0,88
LDL	7,54±5,14	5,00±1,23 [#]	7,31±2,29	5,62±1,19 ^{##}
Triglicérides	83,23±34,11	46,31±15,35 ^{&}	86,77±36,55	84,08±32,44

*p<0,05: G3XG1,G2 #p<0,05 G2XG1,G3 ##p<0,05 G4XG3 &p<0,05: G2XG1,G3,G4

5.5. Avaliação das citocinas pró e anti-inflamatórias

a) Citocinas pró-inflamatórias

A dosagem da leptina foi significativamente maior nos grupos G3 e G4 quando comparada aos grupos G1 e G2. Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos G1 e G2 (Tabela 7).

Com relação à análise dos níveis séricos da IL-1 α , este foi significativamente menor no grupo G4 quando comparado aos demais grupos. Observou-se ainda uma diminuição significativa da IL-1 α no G2 comparado ao G1 (controle) e G3 (Tabela 6).

Já as dosagens de IL-8 não demonstraram diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados (Tabela 7).

Tabela 7: Mediana e valores mínimo e máximo das citocinas pró-inflamatórias (pg/mL) dosadas no plasma sanguíneo de ratos, segundo grupo de estudo.

Citocinas	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Leptina	3157,54* (1731,8;8621,4)	2750,79# (704,4;5006,7)	8552,62 (2622,5;33347,1)	7537,30 (3434,2;16091,6)
IL-1 α	17,90 (2,87-23,09)	6,74& (3,61-28,88)	16,98 (9,83-26,33)	0,91¥ (0,00-23,25)
IL-8	30,62 (3,43; 107,07)	17,08 (0,73; 55,92)	25,70 (0,46; 96,25)	20,79 (0,38; 108,58)

*p<0,01:G1XG3,G4 #p<0,01:G2XG3,G4 G1=G2 &p<0,05:G2XG1,G3 G2=G4 ¥p<0,05:G4XG1,G2,G3

b) Citocinas anti-inflamatórias

Considerando-se a análise das dosagens séricas da adiponectina e da interleucina 4 (IL-4), não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos estudados (Tabela 8).

Tabela 8: Mediana de valores mínimo e máximo das citocinas anti-inflamatórias dosadas no plasma sanguíneo de ratos, segundo grupo de estudo.

Citocina	Grupos			
	G1	G2	G3	G4
Adiponectina (ng/mL)	4278,41 (3057,7;7048,7)	3758,30 (2726,2;7158,4)	5198,72 (3666,2;7695,6)	4431,357 (3480,9;6748,4)
IL-4 (pg/mL)	3,10 (0,0;14,4)	4,28 (0,8;11,4)	5,09 (1,4;9,9)	6,20 (0,9;15,0)

p> 0,05

5.6. Análise Histopatológica da Próstata

Considerando-se a metodologia e os critérios propostos por Herrera e colaboradores, a análise histopatológica dos diferentes parâmetros prostáticos não evidenciou diferença estatisticamente significativa entre os grupos, conforme demonstrado na tabela 9.

Tabela 9: Resultados dos parâmetros histopatológicos da próstata analisados pela microscopia óptica.

Característica	G1	G2	G3	G4	p-value
Tipo de epitélio	1.00 (1.00, 2.00)	1.00 (1.00, 2.00)	1.00 (1.00, 1.00)	2.00 (1.00, 2.25)	0.12
Espessura	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	0.3
Papila	1.00 (1.00, 1.25)	2.00 (1.00, 2.00)	2.00 (1.00, 2.00)	2.00 (1.00, 2.00)	0.2
Espaço intersticial	1.00 (1.00, 2.00)	1.00 (1.00, 3.00)	2.00 (1.00, 2.00)	2.00 (1.00, 2.25)	0.3
Tamanho do núcleo	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	0.5
Localização	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	0.6
Lúmen	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	0.3
Cromatina	2.00 (1.75, 2.00)	2.00 (2.00, 2.00)	2.00 (2.00, 2.00)	2.00 (2.00, 2.00)	0.074
Infiltrado inflamatório	2.00 (1.75, 4.00)	2.00 (2.00, 3.00)	2.00 (2.00, 3.00)	2.00 (2.00, 3.25)	>0.9
Neoplasia	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	0.6
Relação Nucleo-Citoplasma	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	1.00 (1.00, 1.00)	0.3

5.7. Análise Histomorfométrica da Próstata

Os principais critérios histomorfométricos da próstata tais como tamanho do núcleo do epitélio colunar e cúbico, espessura do epitélio, relação núcleo citoplasma e relação da área do interstício prostático e lúmen acinar estão apresentados na tabela 10.

Tabela 10: Resultados das variáveis prostáticas avaliadas pela histomorfometria, segundo grupo de estudo.

		GRUPO 1				GRUPO 2				GRUPO 3				GRUPO 4				Vp
Variável		N	MD	MD N	DP	N	MD	MD N	DP	N	MD	MD N	DP	N	MD	MD N	DP	
Tamanho do núcleo																		
Tipo Epitélio	Cúbico RTE	500	4,53	4,54	1,09	650	3,77	3,65	1,18	645	6,4	6,29	1,3	600	6,46	6,4	1,2	<0,0001
		A				b				c				c				
	Colunar RTE	500	5,3	5,26	1,01	650	5,09	5,06	0,87	649	6,17	6,08	1	599	6,2	6,16	0,86	<0,0001
		A				b				c				c				
Espessura do epitélio																		
Tipo Epitélio	Cúbico RTE	250	10,34	9,64	3,33	325	6,68	6,89	1,46	325	6,9	6,91	2,43	300	6,99	6,83	2,11	<0,0001
		A				b				b				b				
	Colunar	250	20,63	19,73	5,87	325	24,68	23,29	6,75	325	16,26	15,58	3,82	299	16,74	15,89	4,87	

	RTE	A				b				c				c				<0,0001
Relação Núcleo/Citoplasma																		
Tipo epitélio	Cúbico RTE	350	1,92	1,52	1,49	325	2,4	1,98	1,852	324	1,97	1,61	1,15	299	2,0	1,56	1,61	<0,0001
		A				b				a				a				
	Colunar RTE	350	1,5	0,99	0,78	325	1,54	1,11	2,56	325	1,22	1,11	0,76	300	1,16	0,8	1,1	<0,0001
		A				b				a				a				
Área interstício																		
	RTE	44	9733	4758	15852	52	4526	4340	1092	52	5418	5156	1602	48	5068	2077	935	<0,0001
		A				b				b				b				
Área lúmen Acinar																		
	RTE	44	9269	6182	10464	52	5604	5777	1027	52	5535	5780	1476	48	5862	5837	919	<0,0001
		A				b				b				b				

* N: número de observações; MD: média; MDN: mediana; DP: desvio padrão; RTE: resultado do teste estatístico; Vp: valor de p;

** Letras minúsculas em uma mesma linha indicam diferença no teste estatístico entre grupos.

a) Análise do tamanho do núcleo

Independentemente do tipo de epitélio avaliado (cúbico ou colunar), pode-se observar que os ratos que receberam dieta normal e chá de hibisco (G2) apresentaram uma redução do tamanho do núcleo em relação ao controle (G1). Essa redução foi mais significativa ainda em relação aos grupos em que foi induzida obesidade ($G2 < G1$).

Por outro lado, os animais que receberam dieta hipercalórica (G3 e G4) apresentaram um aumento significativo do volume do núcleo (tanto no epitélio cúbico como colunar) quando comparados ao controle, sem diferença estatística entre eles ($G3 = G4 > G1$).

b) Análise da espessura do epitélio

Considerando-se a análise estatística da espessura do epitélio, observa-se que todos os grupos (G2, G3 e G4) apresentaram uma redução na espessura do epitélio cúbico, quando comparados ao grupo controle ($G1 > G2 = G3 = G4$). Da mesma forma, com relação ao epitélio colunar, os animais que receberam dieta hipercalórica apresentaram uma redução da espessura do epitélio quando comparados ao controle ($G1 < G3 = G4$), em um comportamento muito parecido ao observado em relação ao epitélio cúbico. Entretanto, os animais que receberam chá de hibisco (G2) e dieta normal exibiram um aumento da espessura do epitélio em relação grupo controle ($G2 > G1$).

c) Análise da relação núcleo/citoplasma

Os resultados referentes à análise da relação entre o núcleo e o citoplasma celular demonstraram que administração de dieta hipercalórica não resultou em alteração desta variável, uma vez que nenhuma alteração foi observada nos animais obesos ($G1=G3=G4$). No entanto, os animais que receberam o chá de hibisco e dieta normal ($G2$) exibiram um aumento significativo na relação núcleo/citoplasma quando comparados ao grupo controle ($G2>G1=G3=G4$).

d) Análise da área do interstício

Análise histomorfométrica dos resultados demonstra que todos os grupos apresentaram uma redução na área do interstício quando comparados ao grupo controle, porém, sem diferença significativa entre eles ($G1>G2=G3=G4$).

e) Análise da área do lúmen acinar

A exemplo do que foi observado em relação ao parâmetro anterior, a análise histomorfométrica dos resultados demonstra que todos os grupos apresentaram uma redução na área do lúmen acinar quando comparados ao grupo controle ($G1>G2=G3=G4$) porém, sem diferença estatística entre os mesmos.

6. DISCUSSÃO

Os estudos experimentais de obesidade em modelos animais são fundamentais para a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos nessa condição, além de permitirem a avaliação controlada e segura dos efeitos de potenciais intervenções terapêuticas. Entre os modelos descritos na literatura, os mais frequentemente utilizados baseiam-se na indução da obesidade por meio da adição de gordura à dieta, considerando que os lipídeos constituem a principal fonte energética quando comparados aos carboidratos e às proteínas (9 kcal/g versus 4 kcal/g, respectivamente) ⁴¹. Neste estudo, foi empregada a dieta palatável hiperlipídica (DPH) padronizada por Estadella e colaboradores, caracterizada como hipercalórica, normoproteica e hiperlipídica, composta por 20% de proteínas, 20% de lipídios, 48% de carboidratos e 4% de fibras³⁶. Embora existam outros modelos de dieta hiperlipídica descritos na literatura, com proporções de lipídios que podem atingir até 60%⁴², tais abordagens não foram consideradas adequadas por extrapolarem a composição da dieta habitualmente consumida pela maioria da população.

A partir do modelo proposto obtivemos um ganho de peso significativo entre os animais suplementados ao longo do período do experimento. É importante ressaltar que, conforme demonstrado em nossos resultados na primeira semana de intervenção, não notamos diferença estatisticamente significativa entre os diferentes grupos, demonstrando a homogeneidade dos mesmos. Avaliando-se a ingestão de ração, observamos que os grupos G3 e G4, que receberam suplementação com dieta hiperlipídica e hipercalórica ($21,4 \pm 2,4$ g e $21,3 \pm 3,2$ g, respectivamente), tiveram um consumo médio diário de ração significativamente menor em relação aos grupos de controle (G1) e G2 ($27,6 \pm 1,8$ g e $25,8 \pm 2,1$ g, respectivamente, com $p < 0,05$). No entanto, a partir da quarta semana o ganho de peso foi significativamente maior nos grupos G3 e G4 quando comparados aos animais que receberam dieta normal. Isso demonstra que, apesar da menor ingestão nos grupos com dieta hiperlipídica, o valor calórico ingerido foi suficiente para induzir um modelo adequado de obesidade nesses animais. O menor consumo de ração suplementada pode ser explicado pela maior sensação de saciedade nestes animais (G3 e G4). Esses achados estão em consonância com estudos prévios^{43,44,45}, que também descrevem maior ganho ponderal associado a menor ingestão alimentar em animais alimentados com dietas ricas em lipídios. Tal efeito pode ser explicado pela ação da leptina, hormônio produzido principalmente pelo tecido adiposo, cuja secreção aumenta proporcionalmente ao acúmulo de gordura corporal e atua no sistema nervoso central

promovendo a inibição do apetite e o aumento da saciedade, contribuindo para a redução da ingestão alimentar observada nesses modelos experimentais.

Embora o ganho ponderal tenha sido progressivo em todos os grupos, e consideravelmente maior nos animais com dieta rica em gordura, após a 12^a semana observamos uma estabilização no peso dos animais. Isso ocorreu, provavelmente, devido a um equilíbrio entre ingesta e gasto de energia, com uma tendência de estabilização da massa corpórea, uma vez que se tratavam de animais adultos e fisiologicamente normais. Entretanto, os animais do G3 mantiveram o ganho de peso até o final do experimento (16 semanas) sugerindo que a dieta hipercalórica pode interferir neste processo de equilíbrio. Neste contexto, vale destacar que os animais suplementados com DPH associado ao chá de hibisco (G4) não exibiram ganho de peso significativo nas últimas quatro semanas do experimento, mesmo tendo consumido a mesma quantidade de ração que o G3 e, portanto, o mesmo aporte calórico. Este fato aponta para uma possível redução no ritmo de ganho ponderal e estabilização do peso nestes animais, apesar da suplementação, reforçando assim o suposto papel auxiliar do HS no controle da obesidade, à semelhança do que foi sugerido por Alarcon-Aguilar e colaboradores³³.

Com relação à ingesta de líquidos, não houve diferença estatística entre a ingesta de chá ou água nos diferentes grupos, demonstrando que o HS teve boa aceitação entre os animais e que seu consumo foi estável ao longo do estudo, respeitando o volume de líquidos habitualmente ingerido por esta espécie animal. Estudos preliminares conseguiram demonstrar uma importante propriedade medicinal atribuível ao HS, que seria a sua capacidade de atenuar a progressão da lesão renal na nefropatia diabética em ratos⁴⁶. Da mesma forma, esse efeito nefroprotetor foi também observado diante da exposição à administração intraperitoneal de gentamicina em coelhos, onde os níveis de ureia e creatinina nos animais tratados se mantiveram próximos aos do grupo controle⁴⁷. Em nosso estudo, observamos um efeito protetor do HS nos animais com obesidade induzida e tratados com o chá, os quais mantiveram suas taxas de depuração da creatinina (Ccr) iguais ao do grupo controle. Embora estatisticamente significativa ($1,34 \pm 0,83$ versus $2,69 \pm 1,3$ ml/Kg/min, $p < 0,05$), a diminuição do Ccr nos animais obesos suplementados não implicou em alteração dos níveis séricos de creatinina final nestes animais. Estes achados sugerem um potencial efeito nefroprotetor do HS, frente à obesidade ou mesmo à síndrome metabólica, as quais podem ter uma ação deletéria na função renal, à semelhança do que foi sugerido em trabalhos anteriores^{47,48,49}, o mecanismo exato de ação do HS sobre a função renal ainda não está

esclarecido. Algumas teorias sugerem que o extrato desta planta poderia diminuir o nível de peroxidação lipídica, o qual se encontra elevado em resposta a algumas situações de agressão crônica, como a obesidade por exemplo. Outras sugerem que ocorra uma interação entre as toxinas circulantes e os fitoquímicos presentes na planta, como os potentes agentes antioxidantes (incluindo vitamina C e tocoferol), além dos flavonóides, conhecidos como antocianinas, eficientes no combate à formação de radicais livres⁵⁰. Outros autores teorizam ainda que o HS seria capaz de atuar sobre a fisiologia renal exercendo um papel modulador na conversão do radical α -tocoferoxi em α -tocoferol ou na redução da permeabilização dependente de cálcio das mitocôndrias do córtex renal⁵¹.

Alguns estudos se propuseram a avaliar o comportamento dos eletrólitos séricos em modelos utilizando cronicamente o consumo de HS. Odigie e colaboradores, estudando um modelo de hipertensão induzido em ratos por clampeamento renal unilateral, observou melhora dos níveis pressóricos dos animais tratados com HS ao longo de 14 semanas. Entretanto, o padrão dos principais eletrólitos séricos permaneceu estável, apesar de uma tendência no aumento do potássio, que não se mostrou estatisticamente significante⁵². Em nosso estudo, a monitorização dos eletrólitos séricos não revelou variações significativas nos diferentes grupos, exceto nas análises do sódio. Os níveis séricos de sódio nos animais que receberam o HS (G2 e G4) apresentaram uma elevação estatisticamente significativa em comparação ao grupo controle ($139,77 \pm 3,90$ e $142,15 \pm 1,91$ versus $138,23 \pm 2,55$ mmol/L, respectivamente; $p < 0,05$). Embora oscilando dentro do intervalo de normalidade para a espécie (132 - 146 mEq/L)⁵³, este efeito não era esperado, uma vez que o HS é conhecido por suas propriedades anti-hipertensivas⁵². A dosagem dos demais eletrólitos séricos nos animais não revelou variações significativas nos diferentes grupos.

Estudos prévios demonstraram que as dietas com alto teor de gordura são capazes de promover alterações no perfil lipídico em modelos animais submetidos à suplementação alimentar. Conforme demonstrado por Estadella e colaboradores, a dieta hiperlipídica é capaz de induzir um pronunciado ganho de peso e adiposidade nos animais a partir de oito semanas de suplementação, sendo estes achados acompanhados pelo aumento de triglicerídeos (TG) sérico³⁶. Embora em nosso estudo os animais suplementados com DPH (G3) tenham apresentado efetivo ganho de peso, os mesmos não apresentaram elevação dos níveis de TG como esperado. Por outro lado, os animais que receberam o chá de hibisco associado à ração normal (G2) apresentaram uma redução significativa do TG, atingindo níveis próximos à metade daqueles encontrados no grupo controle. Esse fato sugere que, embora não tenha

apresentado um efeito claramente protetor contra o aumento do TG em condições de obesidade, o HS pode auxiliar no controle de níveis elevados de TG em indivíduos dislipidêmicos não obesos, situação esta relativamente comum em nosso meio.

Como demonstrado por Pereira e colaboradores⁵⁴, a utilização de dieta hiperlipídica em camundongos pelo período de 12 semanas, foi capaz de provocar uma elevação significativa do colesterol total e diminuição de sua fração HDL em relação ao controle embora, neste caso, a concentração de lipídios empregada na dieta utilizada tenha sido de 60,3%⁵⁴. Via de regra, o aumento da adiposidade visceral está associado à diminuição da fração HDL do colesterol, hipertrigliceridemia e níveis de LDL normais ou marginalmente alterados⁵⁵. Em nosso estudo observamos que os ratos obesos sem intervenção (G3), apresentaram uma redução significativa da fração HDL em comparação aos grupos controles (G1 e G2). Entretanto, não observamos esta mesma redução do HDL quando comparamos os animais suplementados com DPH e tratados com chá de hibisco com o grupo controle. Sendo assim, parece ter havido um efeito benéfico do chá de hibisco nos animais obesos (G4), evitando a diminuição da chamada “fração boa” do colesterol. Outro importante efeito observado entre os animais que fizeram uso do HS (G2 e G4) foi a redução da fração “ruim” do colesterol (LDL) quando comparados ao grupo controle G1 ou mesmo aos animais obesos suplementados (G3). Tais achados foram semelhantes aos observados em outros estudos⁵⁶, reforçando assim o efeito protetor do chá de hibisco no controle da dislipidemia. De maneira semelhante, em humanos, o HS também apresentou ação hipolipemiante em indivíduos com síndrome metabólica, evidenciando redução nos níveis de glicemia, colesterol total, triglicérides e aumento de HDL, pela inibição da lipase pancreática e redução da absorção intestinal de lipídeos⁵⁷.

Na obesidade ocorre hipertrofia dos adipócitos. Esse processo, uma vez instalado e perpetuado cronicamente, resulta no aumento da infiltração de macrófagos e na produção de citocinas pró-inflamatórias.⁵⁸. Simultaneamente, ocorre aumento da liberação de ácidos graxos livres e desregulação na secreção das adipocinas (adiponectina, resistina e leptina), resultando no aumento da ingesta alimentar e redução do gasto energético, o que contribui ainda mais para o ganho de peso⁵⁹. Estas adipocinas são responsáveis por exacerbar o processo inflamatório no organismo e estão envolvidas em uma série de comorbidades, inclusive, no desenvolvimento da resistência à insulina⁶⁰. Em nosso estudo, observamos que os animais suplementados com a DPH (G3 e G4) apresentaram uma importante elevação da leptina quando comparados ao grupo controle, demonstrando que a dieta rica em gordura foi

capaz de interferir na fisiologia do tecido adiposo, alterando a produção de citocinas pró-inflamatórias. Observamos ainda, uma diminuição da leptina, em número absoluto, entre os animais obesos que receberam o chá de hibisco (G4) em relação ao grupo obesidade (G3), embora sem significância estatística. Este mesmo comportamento é observado quando comparamos o G2 em relação ao controle. Embora não tenha sido possível demonstrar uma diferença estatisticamente significativa entre os grupos em ambos os casos, esta clara tendência sugere que se o número de indivíduos fosse maior ou mesmo se o tempo de intervenção fosse ampliado, talvez pudéssemos ratificar esta tendência.

Neste modelo a análise dos resultados apresentados mostra que a administração do chá de hibisco resultou em expressiva redução dos níveis séricos da IL-1 α (G2 e G4), particularmente nos animais suplementados com DPH (G4). Esta interleucina constitui uma importante citocina de atividade pró-inflamatória, estando relacionada à indução de febre, à síntese de proteínas da fase aguda hepática, à liberação de neutrófilos e, além disso, atuando como mediadora na resistência à insulina. Neste sentido, podemos afirmar que nosso modelo de obesidade está associado a um processo inflamatório sistêmico, característico da síndrome metabólica. Da mesma forma, é possível inferir que o HS parece auxiliar no combate aos efeitos da inflamação, reduzindo os níveis circulantes de citocinas inflamatórias, não apenas em pacientes obesos, mas também em pacientes eutróficos portadores de estados inflamatórios crônicos.

Em nosso estudo não encontramos diferença significativa nas dosagens interleucinas anti-inflamatórias (adiponectina e IL-4) entre os diferentes grupos. Este fato nos leva a supor que as alterações sistêmicas aqui relatadas foram decorrentes, principalmente, pelo aumento das adipocinas pró-inflamatórias e não o contrário.

No que concerne ao estudo das alterações estruturais da próstata dos ratos, observamos que a obesidade induzida por dieta hipercalórica promoveu alterações histomorfométricas significativas, incluindo aumento do volume nuclear, redução da espessura epitelial, diminuição das áreas do lúmen acinar e intersticial. Esses achados corroboram com dados que demonstram que a obesidade pode impactar de forma direta a arquitetura prostática, promovendo alterações estruturais que podem comprometer sua função, conforme os estudos que discutiremos.

O aumento no volume nuclear observado nos grupos onde a obesidade foi induzida (G3 e G4), tanto em epitélio cúbico quanto colunar, é compatível com o quadro de proplasia celular induzida pela obesidade, frequentemente descrito como um estágio pré-neoplásico ou

de hiperatividade secretora da glândula prostática. Estudos realizados por Basulto-Natividad e colaboradores demonstraram que a obesidade prolongada pode promover alterações displásicas, anisocitose, anisocariose e relação núcleo-citoplasma alterada, o que está em consonância com nossos achados morfométricos⁶¹. O fato de que, em nosso estudo, o HS não tenha sido capaz de impedir o aumento do volume nuclear nos animais obesos, nos leva a refletir acerca de uma eventual limitação da ação deste produto sobre a proliferação nuclear em ambiente metabólico pró-inflamatório.

Por outro lado, nos animais que consumiram o chá de hibisco com dieta normal (G2), foi observada uma redução significativa do tamanho do núcleo, sugerindo um possível efeito modulador da proliferação celular em contexto não obesogênico. Esse achado pode estar associado à ação dos compostos bioativos do HS, como as antocianinas e flavonóides, os quais possuem propriedades antioxidantes e antiproliferativas, conforme demonstrado por Kartinah e colaboradores ao associarem a ingestão de HS com a regulação de microRNAs inflamatórios, como o miR-34a e melhora da resistência ao fator de crescimento fibroblástico 21 (FGF21), um hormônio produzido pelo fígado que desempenha papel crucial na regulação do metabolismo energético e na homeostase da glicose e dos lipídeos⁶².

A análise histomorfométrica revelou ainda uma redução significativa da espessura do epitélio (tanto cúbico quanto colunar) nos grupos de ratos obesos (G3 e G4). Este achado está de acordo com os estudos de Ribeiro e colaboradores, os quais demonstraram uma atrofia epitelial e acinar na próstata ventral de ratos obesos, provavelmente relacionada à resistência à insulina e à diminuição da testosterona circulante⁶³. Assim, a redução epitelial observada pode indicar perda funcional da glândula, uma vez que a atividade secretora depende diretamente da integridade celular e da ação androgênica.

Vale ressaltar que, no grupo G2 (controle + chá de hibisco), pode-se notar um aumento da espessura do epitélio colunar em relação ao controle (G1), sugerindo um possível efeito trófico ou proliferativo do HS em condições basais. Esse achado ainda é pouco relatado na literatura, mas pode refletir uma resposta adaptativa à ação antioxidante dos compostos fenólicos, conforme descrito por outro estudo, que demonstrou um provável efeito protetor do HS sobre a musculatura da bexiga em ratos obeso⁶⁴.

A alteração da relação núcleo/citoplasma pode representar uma medida indireta da atividade metabólica e do potencial neoplásico tecidual em certas condições. Em nossa análise, este parâmetro permaneceu estável nos grupos onde a obesidade foi induzida com a ração hipercalórica. Curiosamente, este parâmetro demonstrou um aumento significativo nos

animais do G2. Essa elevação pode indicar uma maior atividade celular, sem necessariamente caracterizar um risco oncogênico, podendo ainda estar associada à diminuição do tamanho nuclear descrito anteriormente nestes animais. Estudos prévios também relatam alterações na relação núcleo/citoplasma em modelos de obesidade, embora de forma heterogênea, destacando o papel da apolaridade e do conteúdo granular citoplasmático como indicadores de disfunção epitelial precoce⁶⁵.

A redução da área do interstício e do lúmen acinar observada em todos os grupos experimentais (G2, G3 e G4), quando comparados ao grupo controle, é um achado relevante. No contexto da obesidade, essas alterações podem refletir compressão tecidual associada à hiperplasia epitelial ou reorganização da matriz extracelular, conforme sugerido por Silas e colaboradores, os quais observaram deposição aumentada de matriz e aumento de MMP-9 (uma metaloproteínase que desempenha papel crucial na degradação da matriz extracelular e na remodelação celular) e do VEGF (Fator de Crescimento Endotelial Vascular) em modelos de obesidade prolongada⁶⁶. Já nos animais que receberam o HS sem indução de obesidade, essa redução pode indicar uma reorganização funcional do tecido prostático, cuja relevância fisiológica deve ser investigada em estudos futuros.

Por fim, analisando-se os resultados obtidos no presente estudo, concluímos que, embora o chá de hibisco tenha apresentado efeitos benéficos em alguns parâmetros histológicos avaliados, mesmo em animais em situação de não obesidade, estes não foram suficientes para reverter ou prevenir integralmente as alterações morfológicas e funcionais induzidas pela obesidade nos animais do grupo G4. Esses achados sugerem que, embora o HS possua propriedades anti-inflamatórias e antioxidantes documentadas^{62,64}, sua eficácia pode ser limitada em ambientes metabólicos adversos, reforçando a complexidade da relação entre obesidade, inflamação prostática e remodelação tecidual.

7. LIMITAÇÕES DO ESTUDO

O presente estudo apresenta algumas limitações inerentes ao delineamento experimental e às abordagens metodológicas adotadas. Embora o modelo empregado permita a análise controlada das alterações metabólicas e prostáticas induzidas pela dieta hiperlipídica e pela suplementação com chá de hibisco, a investigação concentrou-se predominantemente em parâmetros histológicos e bioquímicos, o que restringe a compreensão mais aprofundada dos mecanismos celulares e moleculares subjacentes aos achados observados. Nesse sentido, a ausência de avaliações funcionais complementares, como a mensuração direta da atividade hormonal intraprostática ou a análise da expressão gênica de marcadores inflamatórios, oxidativos e proliferativos, limita a interpretação fisiopatológica dos resultados.

Adicionalmente, apesar do rigor no controle das condições ambientais e alimentares, variações individuais no metabolismo basal e no padrão de consumo alimentar dos animais podem ter influenciado alguns desfechos metabólicos, como o ganho ponderal e o perfil bioquímico, representando um fator inerente a modelos experimentais desse tipo. Ainda assim, tais limitações não invalidam os resultados obtidos, os quais fornecem subsídios relevantes para futuras investigações e contribuem para o avanço do entendimento dos efeitos metabólicos e prostáticos associados à dieta palatável hiperlipídica e à suplementação com chá de hibisco em modelos experimentais de obesidade.

8. CONCLUSÃO

Diante dos resultados aqui apresentados se pode concluir que o presente estudo demonstrou que a dieta hiperlipídica foi eficaz na indução da obesidade em ratos, promovendo alterações metabólicas, inflamatórias e histológicas, muitas das quais compatíveis com aqueles presentes na síndrome metabólica em humanos.

A oferta *Hibiscus sabdariffa* na forma de chá mostrou efeitos positivos, como a estabilização do ganho de peso nos animais expostos à DPH, redução de triglicerídeos e LDL, preservação dos níveis de HDL, efeito nefroprotetor e modulação de marcadores inflamatórios como leptina e IL-1 α . Além disso, o HS demonstrou potencial antiproliferativo no tecido prostático saudável, embora não tenha sido capaz de reverter integralmente as alterações morfológicas prostáticas induzidas pela obesidade neste modelo experimental.

Tais achados reforçam o potencial terapêutico do HS como adjuvante no manejo das comorbidades associadas à obesidade, destacando sua ação anti-inflamatória, antioxidante e metabólica, embora sua eficácia possa ser limitada em contextos de disfunção metabólica avançada. Assim sendo, novos estudos são cruciais para fornecer as evidências científicas necessárias para determinar a real eficácia da estratégia terapêutica do *H. sabdariffa*, bem como para determinar se os resultados aqui encontrados seriam transponíveis integralmente à espécie humana.

9. REFERÊNCIAS

1. Pereira LO, Francisci RP, Lancha Jr AH. *Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina*. Arq Bras Endocrinol Metab. 2003;47:111–127.
2. World Health Organization. Obesity and overweight [Internet]. Geneva: World Health Organization; 2025. Available from: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/obesity-and-overweight>.
3. World Health Organization. *Obesity: preventing and managing the global epidemic*. Report of a WHO Consultation. Geneva: WHO; 2000. p. 256.
4. Parikesit D, Mochtar CA, Umbas R, Hamid AR. *The impact of obesity towards prostate diseases*. Prostate Int. 2016;4(1):1–6.
5. Guedes PD, Paula IG, Guedes JERP, Stanganelli LCR. *Prevalência de sobrepeso e obesidade em crianças e adolescentes: estimativas relacionadas ao sexo, à idade e à classe socioeconômica*. Rev Bras Educ Fís Esporte. 2006;20(3):151–63.
6. Birchard SJ, Sherding RG. *Manual Saunders de Clínica de Pequenos Animais*. 3rd ed. São Paulo: Roca; 2008. p. 789.
7. Moul S, McVary KT. *Lower urinary tract symptoms, obesity and the metabolic syndrome*. Curr Opin Urol. 2010;20:7–12.
8. Kirby MG, Wagg A, Cardozo L, Chapple C, Castro-Diaz D, de Ridder D, et al. *Overactive bladder: is there a link to the metabolic syndrome in men?* Neurourol Urodyn. 2010;29:1360–4.
9. Laven BA, Orsini N, Andersson SO, Johansson JE, Gerber GS, et al. *Birth weight, abdominal obesity and the risk of lower urinary tract symptoms in a population based study of Swedish men*. J Urol. 2008;179:1891–1895.
10. Richter HE, Kenton K, Huang L, Nygaard I, Kraus S, et al. *The impact of obesity on urinary incontinence symptoms, severity, urodynamic characteristics and quality of life*. J Urol. 2010;183:622–628.

11. Hsing AW, Sakoda LC, Chua SC Jr. *Obesity, metabolic syndrome, and prostate cancer*. Am J Clin Nutr. 2007;86(3):843S–57S.
12. Kristal AR, Arnold KB, Schenk JM, Neuhouser ML, Weiss N, Goodman P, et al. *Race/ethnicity, obesity, health-related behaviors and the risk of symptomatic benign prostatic hyperplasia: results from the prostate cancer prevention trial*. J Urol. 2007;177(4):1395–400.
13. Wang JY, Fu YY, Kang DY. *The association between metabolic syndrome and characteristics of benign prostatic hyperplasia: a systematic review and meta-analysis*. Medicine (Baltimore). 2016;95(19):e3243.
14. Sandhu JS, Bixler BR, Dahm P, Goueli R, Kirkby E, Stoffel JT, Wilt TJ. Management of Lower Urinary Tract Symptoms Attributed to Benign Prostatic Hyperplasia (BPH): AUA Guideline amendment 2023. J Urol. 2023;211(1):11-19
15. Giovannucci E, Rimm EB, Chute C, Kawachi I, Colditz GA, Stampfer M, et al. *Obesity and benign prostatic hyperplasia*. Am J Epidemiol. 1994;140(11):989–1002.
16. Burke JP, Rhodes T, Jacobson DJ, McGree ME, Roberts RO, Girman CJ, et al. *Association of anthropometric measures with the presence and progression of benign prostatic hyperplasia*. Am J Epidemiol. 2006;164(1):41–6.
17. Parsons JK, Carter HB, Partin AW, Windham BG, Metter EJ, Ferrucci L, et al. *Metabolic factors associated with benign prostatic hyperplasia*. J Clin Endocrinol Metab. 2006;91(7):2562–2568.
18. Fowke J, Munro H, Signorello L, Blot W, Penson D. *Association between socioeconomic status (SES) and lower urinary tract symptom (LUTS) severity among black and white men*. J Gen Intern Med. 2011;26(11):1305–10.
19. Fujita K, Hayashi T, Matsushita M, Uemura M, Nonomura N. *Obesity, inflammation, and prostate cancer*. J Clin Med. 2019;8(2):201.
20. Weitzman SA, Gordon LI. *Inflammation and cancer: role of phagocyte-generated oxidants in carcinogenesis*. Blood. 1990;76:655–663.

21. Cohen RJ, Shannon BA, McNeal JE, Shannon T, Garrett KL. *Propionibacterium acnes associated with inflammation in radical prostatectomy specimens: a possible link to cancer evolution?* J Urol. 2005;173:1969–74.
22. Nakai Y, Nonomura N. *Inflammation and prostate carcinogenesis.* Int J Urol. 2013;20:150–160.
23. De Marzo AM, Platz EA, Sutcliffe S, Xu J, Grönberg H, Drake CG, Nakai Y, Isaacs WB, Nelson WG. *Inflammation in prostate carcinogenesis.* Nat Rev Cancer. 2007;7:256–69.
24. Norrish AE, Ferguson LR, Knize MG, Felton JS, Sharpe SJ, Jackson RT. *Heterocyclic amine content of cooked meat and risk of prostate cancer.* J Natl Cancer Inst. 1999;91:2038–2044.
25. Nakai Y, Nelson WG, De Marzo AM. *The dietary charred meat carcinogen 2-Amino-1-Methyl-6-Phenylimidazo(4,5-b) Pyridine acts as both a tumor initiator and promoter in the rat ventral prostate.* Cancer Res. 2007;67:1378–1384.
26. Allott EH, Masko EM, Freedland SJ. *Obesity and prostate cancer: weighing the evidence.* Eur Urol. 2013;63:800–9.
27. Ferlay J, Soerjomataram I, Dikshit R, Eser S, Mathers C, Rebelo M, et al. *Cancer incidence and mortality worldwide: sources, methods and major patterns in GLOBOCAN 2012.* Int J Cancer. 2015;36:E359–86.
28. De Pergola G, Silvestris F. *Obesity as a major risk factor for cancer.* J Obes. 2013;2013:291546.
29. Cerhan JR, Torner JC, Lynch CF, Rubenstein LM, Lemke JH, Cohen MB, et al. *Association of smoking, body mass, and physical activity with risk of prostate cancer in the Iowa 65+ Rural Health Study (United States).* Cancer Causes Control. 1997;8:229–38.
30. Hasani-Ranjbar S, Nayeibi N, Larijani B, Abdollahi M. *A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity.* World J Gastroenterol. 2009;15(25):3073–85.

31. Donner DG, Elliott GE, Beck BR, Bulmer AC, Du Toit EF. *Impact of diet-induced obesity and testosterone deficiency on the cardiovascular system: a novel rodent model representative of males with testosterone-deficient metabolic syndrome (TDMetS)*. PLoS One. 2015;10(9):e0138019.
32. Ribeiro DL, Pinto ME, Maeda SY, Taboga SR, Góes RM. *High fat-induced obesity associated with insulin-resistance increases FGF-2 content and causes stromal hyperplasia in rat ventral prostate*. Cell Tissue Res. 2012;349:577–88
33. Alarcon Aguilar FJ, Zamilpa A, Perez-Garcia MD, Almanza-Perez JC, Romero-Núñez E, Campos-Sepulveda EA, et al. *Effect of Hibiscus sabdariffa on obesity in MSG mice*. J Ethnopharmacol. 2007;114(1):66–71.
34. Lin TL, Lin HH, Chen CC, Lin MC, Chou MC, Wang CL. *Hibiscus sabdariffa extract reduces serum cholesterol in men and women*. Nutr Res. 2007;27:140–145.
35. Fernandez-Arroyo S, Herranz-López M, Beltran-Débon R, Borrás-Linares I, Barrajón-Catalán E, Joven J, et al. *Bioavailability study of a polyphenol-enriched extract from Hibiscus sabdariffa in rats and associated antioxidant status*. Mol Nutr Food Res. 2012;56(10):1590–5.
36. Estadella D, Oyama LM, Dâmaso AR, Ribeiro EB, Oller do Nascimento CM. *Effect of palatable hyperlipidic diet on lipid metabolism of sedentary and exercised rats*. Nutrition. 2004;20(2):218–24.
37. McKay DL, Chen CY, Saltzman E, Blumberg JB. *Hibiscus sabdariffa L. tea (tisane) lowers blood pressure in prehypertensive and mildly hypertensive adults*. J Nutr. 2010;140(2):298–303.
38. Kanashiro GP, Cassu RN. *Anestesia em animais selvagens e de laboratório*. In: Andrade SF, editor. Manual de Terapêutica Veterinária. São Paulo: Roca; 2008. p. 727–46.
39. Keenan KP, Coleman JB, McCoy CL, Hoe CM, Soper KA, Laroque P. *Chronic nephropathy in ad libitum overfed Sprague–Dawley rats and its early attenuation by*

- increasing degrees of dietary (caloric) restriction to control growth. Toxicol Pathol.* 2000;28:788–98.
40. Herrera-Covarrubias D, Coria-Avila GA, Chavarría-Xicoténcatl P, Fernández-Pomares C, Manzo J, Aranda-Abreu GE, Hernández ME. *Long-term administration of prolactin or testosterone induced similar precancerous prostate lesions in rats. Exp Oncol.* 2015;37(1):13–8.
 41. Buettner R, Schölmerich J, Bollheimer LC. *High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. Obesity.* 2007;15(4):798–808.
 42. Wagner IV, Klöting N, Atanassova N, Savchuk I, Spröte C, Kiess W, et al. *Prepubertal onset of obesity negatively impacts on testicular steroidogenesis in rats. Mol Cell Endocrinol.* 2016;426:154–162.
 43. Jagadeeshwar K, Kumar KP, Kumar KS, Kumar GG, Kumar PS, Kumar SP, et al. *Evaluation of anti-obesity effect of Pithecellobium dulce against high-fat diet-induced obesity in experimental animals. Res J Pharm Technol.* 2021;14(3):1447–52.
 44. Kretschmer BD, Schelling P, Beier N, Liebscher C, Treutel S, Krüger N, et al. *Modulatory role of food, feeding regime and physical exercise on body weight and insulin resistance. Life Sci.* 2005;76(14):1553–73.
 45. Yang R, Chen J, Shen J, Zhu B, Li Q, Chen H, et al. *Effects of feeding hyperlipidemic rats with symbiotic oat-based frozen yogurt on serum triglycerides and cholesterol. Food Sci Nutr.* 2019;7(3):1096–103.
 46. Lee WC, Wang CJ, Chen YH, Hsu JD, Cheng SY, Chen HC, et al. *Polyphenol extracts from Hibiscus sabdariffa Linnaeus attenuate nephropathy in experimental type 1 diabetes. J Agric Food Chem.* 2009;57(6):2206–10.
 47. Ibrahim DA, Albadani RN. *Evaluation of the potential nephroprotective and antimicrobial effect of Camellia sinensis leaves versus Hibiscus sabdariffa (in vivo and in vitro studies). Adv Pharmacol Sci.* 2014;2014:389834.

48. Ajani EO, Bamisaye FA, Amusa TO, Atolani O, Kola-Mustapha AT, Nijinga NS, et al. *Roselle Hibiscus Sabdariffa calyces extracts modulates cardiovascular disease risk and kidney dysfunctions in diabetic rats*. Plant Arch. 2021;21(1):1350–9.
49. Rodríguez-Fierros FL, Guarner-Lans V, Soto ME, Manzano-Pech L, Díaz-Díaz E, Soria-Castro E, Rubio-Ruiz ME, Jiménez-Trejo F, Pérez-Torres I. *Modulation of renal function in a metabolic syndrome rat model by antioxidants in Hibiscus sabdariffa L*. Molecules. 2021;26(7):2074.
50. Sini JM, Umar IA, Inuwa HM. *The beneficial effects of extracts of Hibiscus sabdariffa calyces in alloxan-diabetic rats: reduction of free-radical load and enhancement of antioxidant status*. J Pharmacogn Phytother. 2011;3(10):141–149.
51. Okoko T, Oruambo IF. *The effect of Hibiscus sabdariffa calyx extract on cisplatin-induced tissue damage in rats*. Biokemistri. 2008;20(2):47–52.
52. Odigie IP, Ettarh RR, Adigun SA. *Chronic administration of aqueous extract of Hibiscus sabdariffa attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats*. J Ethnopharmacol. 2003;85:181–188.
53. Melo MGD, Dória GAA, Serafini MR, Araújo AAS. *Valores de referência hematológicos e bioquímicos de ratos (Rattus norvegicus linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe*. Scientia Plena. 2012;8(9):1–6.
54. Pereira JL, Sampaio e Souza PC, Shinzato VI, Sassob S, Spontoni do Espirito Santo BL, Santana LF, et al. *Weight gain and metabolic changes in mice submitted to high fat diet*. Ciência & Saúde. 2018;11(1):51–57.
55. Barroso SG, de Abreu VG, Francischetti EA. *A participação do tecido adiposo visceral na gênese da hipertensão e doença cardiovascular aterogênica*. Arq Bras Cardiol. 2002;78(6):618–30.
56. Chen CC, Hsu JD, Wang SF, Chiang HC, Yang MY, Kao ES, et al. *Hibiscus sabdariffa extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits*. J Agric Food Chem. 2003;51(18):5472–7.

57. Sun NN, Wu TY, Chau CF. *Natural dietary and herbal products in anti-obesity treatment. Molecules.* 2016;21(10):1–19.
58. Scarpellini E, Tack J. *Obesity and metabolic syndrome: an inflammatory condition. Dig Dis.* 2012;30(2):148–153.
59. Galic S, Oakhill JS, Steinberg GR. Adipose tissue as an endocrine organ. *Mol Cell Endocrinol.* 2010 Mar 25;316(2):129–139.
60. Gutierrez DA, Puglisi MJ, Hasty AH. Impact of increased adipose tissue mass on inflammation, insulin resistance, and dyslipidemia. *Curr Diab Rep.* 2009;9(1):26–32.
61. Basulto-Natividad A, Coria-Avila GA, Aranda-Abreu GE, Manzo J, Toledo-Cárdenas R, Hernández ME, et al. The impact of subchronic hypercaloric and restriction diets on sexual behavior, serum testosterone, and prostate histology in rats. *Physiol Behav.* 2023;271:114338.
62. Kartinah NT, Komara N, Novianti ND, Dewi S, Yolanda S, Radhina A, Heriyanto H, Sianipar IR. Potential of Hibiscus sabdariffa Linn. in managing Fgf21 resistance in diet-induced-obesity rats via miR-34a regulation. *Vet Med Sci.* 2022;8:309–17.
63. Ribeiro DL, Pinto ME, Rafacho A, Bosqueiro JR, Maeda SY, Anselmo-Franci JA, Taboga SR, Góes RM. High-fat diet obesity associated with insulin resistance increases cell proliferation, estrogen receptor, and PI3K proteins in rat ventral prostate. *J Androl.* 2012;33(5):854–865.
64. Pajolli P, Kawano PR, Yamamoto H, Guerra R, Moraes B, Reis LO, et al. Effects of Hibiscus sabdariffa supplementation on metabolism and bladder in obese rats. *Acta Cir Bras.* 2024;39:e395024.
65. Herrera-Covarrubias D, Pérez-León CA, Fernández-Pomares C, Coria-Avila GA, Sánchez-Zavaleta V, Aranda-Abreu GE, Suárez-Medellín J, Rojas-Durán F, Hernández ME. Effects of obesity in rats on prostate histology and expression of leptin receptor, prolactin receptor, IL6, and NF-kB. *Exp Oncol.* 2021;43(4):317–21.
66. Silas SA, Gobbo MG, Pinto-Fochi ME, Rafacho A, Taboga SR, Almeida EA, et al. Prostate hyperplasia caused by long-term obesity is characterized by high deposition

of extracellular matrix and increased content of MMP-9 and VEGF. *Int J Exp Path.* 2015;96:21–30.

10. ANEXO

Comitê de Ética

		UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA CAMPUS DE BOTUCATU FACULDADE DE MEDICINA					
				Comissão de Ética no Uso de Animais Criada através da Portaria OFM nº 611 de 13/12/2012			
CERTIFICADO Nº 1259/2018-CEUA							
Certificamos que a proposta intitulada "Efeito do chá de hibisco na próstata de ratos obesos" se utilizará de análise de tecido previamente extraído em projeto já realizado e aprovado sob o parecer nº 235/2012 (Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia) e conduzida pelo Pesquisador: Prof. Dr. Hamito Akihisa Yamamoto, Orientador: Prof. Dr. João Luiz Amaro, com a participação da Colaboradora: Profa. Dra. Alessandra Melchert, registrada com o nº 1259/2018, foi APROVADA pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Medicina de Botucatu, em reunião de 22 de fevereiro de 2018.							
Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica						
Vigência da autorização	31 de dezembro de 2019						
Espécie/Linhagem/Raça	Tecido prostático e bioquímico						
Nº de animais	-						
Idade/Peso	-						
Sexo	-						
Origem	-						
 Graziela Mogueira Bertani Secretária da Comissão de Ética no Uso de Animais Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP				 Prof. Adjunto Guilherme Antônio Moreira de Barros Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais Faculdade de Medicina de Botucatu/UNESP			
Digitalizada com CamScanner							
Distrito Rubião Junior, s/nº - Botucatu - S.P. CEP: 18.618-970 Fones: (14) 3880.1608 e 3880.1609 E-mail Secretaria: ceua@fmb.unesp.br							