



**UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA – UFPB**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE – CCS**  
**DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS**  
**CURSO DE BACHARELADO EM BIOMEDICINA**

**VALÉRIA OLIVEIRA DA SILVA**

**REGENERAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL INDUZIDA POR *Spondias tuberosa***  
**NO ENVELHECIMENTO: ENVOLVIMENTO DE CÉLULAS PROGENITORAS**  
**ENDOTELIAIS**

**JOÃO PESSOA**

**2026**

**VALÉRIA OLIVEIRA DA SILVA**

**REGENERAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL INDUZIDA POR *Spondias tuberosa*  
NO ENVELHECIMENTO: ENVOLVIMENTO DE CÉLULAS PROGENITORAS  
ENDOTELIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Federal da Paraíba, como requisito  
parcial às exigências para obtenção do grau de  
Bacharel em Biomedicina.

Orientador: Prof. Dr. Robson Cavalcante Veras  
Coorientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tays Amanda  
Felisberto Gonçalves

**JOÃO PESSOA**

**2026**

**Catálogo na publicação**  
**Seção de Catalogação e Classificação**

S586r Silva, Valéria Oliveira da.

Regeneração da função endotelial induzida por spondias tuberosa no envelhecimento : envolvimento de células progenitoras endoteliais / Valéria Oliveira da Silva. - João Pessoa, 2026.

49 f. : il.

Orientação : Robson Cavalcante Veras.

Coorientação : Tays Amanda Felisberto Gonçalves.  
TCC (Graduação) - UFPB/CCS.

1. Senescência vascular. 2. Célula progenitora endotelial (EPC). 3. Spondias tuberosa. I. Veras, Robson Cavalcante. II. Gonçalves, Tays Amanda Felisberto. III. Título.

UFPB/CCS

CDU 616.1


**VALÉRIA OLIVEIRA DA SILVA**

**REGENERAÇÃO DA FUNÇÃO ENDOTELIAL INDUZIDA POR *Spondias tuberosa*  
NO ENVELHECIMENTO: ENVOLVIMENTO DE CÉLULAS PROGENITORAS  
ENDOTELIAIS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à  
Universidade Federal da Paraíba, como requisito  
parcial às exigências para obtenção do grau de  
Bacharel em Biomedicina.

**DATA DA APROVAÇÃO: 06/04/2026**


**BANCA EXAMINADORA**

Documento assinado digitalmente  
 **ROBSON CAVALCANTE VERAS**  
Data: 09/04/2026 12:10:02-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof. Dr. Robson Cavalcante Veras - Orientador


Universidade Federal da Paraíba

Documento assinado digitalmente  
 **TAYS AMANDA FELISBERTO GONCALVES**  
Data: 08/04/2026 21:03:04-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Pro<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Tays Amanda Felisberto Gonçalves - Coorientadora


Universidade Federal da Paraíba

Documento assinado digitalmente  
 **ADRIANA MARIA FERNANDES DE OLIVEIRA GOLZIO**  
Data: 08/04/2026 11:05:51-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Adriana Maria Fernandes de Oliveira Golzio - Examinadora

Universidade Federal da Paraíba

Documento assinado digitalmente  
 **FABIOLA FIALHO FURTADO GOUVEA**  
Data: 08/04/2026 12:03:56-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Fabíola Fialho Furtado Gouvêa - Examinadora

Universidade Federal da Paraíba

Aos meus pais e à minha irmã, que são a minha casa e o meu ponto de partida. É por saber que pertenço a vocês que posso sonhar em ir cada vez mais longe.

## AGRADECIMENTOS

Estes agradecimentos não foram escritos de uma única vez, nem de última hora, como costumo fazer com tantas coisas. Eles foram construídos aos poucos, quase no mesmo ritmo em que este trabalho ganhava forma. Sempre que me sentava para escrever ou refletia sobre a graduação e sobre tudo o que vivi nesses anos, muitos rostos me vinham à mente. Por isso, há tanto a agradecer, porque, por mais que o título seja meu e este trabalho carregue a minha autoria, essa conquista não é só minha.

Agradeço, antes de tudo, a Deus, que me sustentou em todos os momentos, especialmente nos dias em que julguei não conseguir continuar. Foi Ele quem me deu força nos momentos de fraqueza, calma diante do medo e coragem para seguir em meio às incertezas. Mesmo longe de casa, do meu conforto e de tudo o que me era conhecido, eu nunca estive sozinha. Quando cheguei a João Pessoa e me vi sem meus pais por perto, quando precisei superar limites que não julgava ser capaz, Ele esteve presente em cada passo e em cada oração ouvida.

Aos meus pais e à minha irmã, as palavras nunca serão suficientes. Obrigada por serem meu alicerce, meu porto seguro e minha força. Obrigada por acreditarem em mim muito mais do que eu mesma acreditei. Por todas as orações, promessas e sacrifícios realizados em silêncio, inclusive aqueles dos quais talvez eu jamais tenha tido conhecimento. Cada conquista minha carrega o amor, a renúncia e a dedicação de vocês.

À Glória, Vitória e Andressa, não poderia ter tido mais sorte ao dividir essa jornada. Muito obrigada por terem sido minha família quando a minha não pôde estar presente; por se preocuparem, torcerem e por tudo o que fizeram por mim nestes anos de graduação.

Aos meus professores, pela inspiração na docência e no profissionalismo, e por tanto contribuírem para a minha formação.

Aos meus orientadores, Professor Robson e Professora Tays. Agradeço, em especial, à Tays, pela oportunidade de conhecer e vivenciar o universo da pesquisa; foi a partir dessa experiência que vivi uma das fases mais marcantes da minha graduação. Agradeço pelos ensinamentos, pelo suporte, pela autonomia e pelo constante incentivo a fazer sempre mais e melhor.

Ao Laboratório de Farmacologia Cardiovascular, a todos os professores, doutorandos, mestrados e alunos de iniciação científica. De maneira especial, à Luana e ao Gabriel,

obrigada pela disponibilidade constante, pela paciência em ensinar e por não medirem esforços para me ajudar sempre que precisei.

À minha dupla na pesquisa, Lara, que se tornou uma grande amiga e foi fundamental durante todo o meu período na iniciação científica. Minha gratidão é imensa pela parceria diária, pelas conversas, pelos momentos de tensão e pelas pequenas vitórias comemoradas juntas. Nem todos têm a sorte de encontrar alguém como você no caminho.

Aos queridos colegas e amados amigos: como vocês são especiais. Talvez não saibam o quanto sou grata por terem cruzado o meu caminho. A vocês, talvez eu não agradeça com a frequência que deveria, mas a Deus este não é o primeiro agradecimento que faço por cada um.

Aos meus preceptores de estágio e aos funcionários dos hospitais por onde passei.

A todos que, de alguma forma, contribuíram e torceram para que este sonho se realizasse.

O meu mais sincero muito obrigada.

Caminhante, não há caminho, o caminho se faz  
ao caminhar.

- *Antonio Machado*

## RESUMO

O envelhecimento populacional aumenta a incidência de doenças cardiovasculares, sendo acompanhado por estresse oxidativo e inflamação, que levam à disfunção endotelial. Nesse contexto, as células progenitoras endoteliais (EPCs), responsáveis pelo reparo vascular, apresentam redução em número e função com o avanço da idade. Diante da necessidade de estratégias que atuem nos mecanismos de reparo vascular, este estudo utilizou um modelo de envelhecimento induzido por D-galactose com o objetivo de avaliar o efeito do liofilizado do extrato hidroalcoólico da casca de *Spondias tuberosa* Arruda (LEHST), considerando suas propriedades antioxidantes e antissenescentes. Foram utilizados ratos Wistar divididos em três grupos: controle jovem (CTL), controle envelhecido (DGAL) e envelhecido tratado com LEHST (100 mg/kg), tratados por oito semanas para avaliar parâmetros fenotípicos, ponderais, de senescência e de função vascular, além da mobilização de EPCs sob o efeito do **LEHST**. O tratamento com LEHST reverteu sinais fenotípicos do envelhecimento, sem alterar o peso dos animais, e apresentou efeito antissenescente significativo, evidenciado pela redução da marcação de SA- $\beta$ -gal na artéria mesentérica. Além disso, preveniu a hiperreatividade contrátil induzida pelo envelhecimento ( $E_{max} = 57,0\%$  no grupo LEHST vs.  $102,08\%$  no grupo D-GAL) e restaurou a função endotelial, com resposta de relaxamento à acetilcolina de  $120,2\%$ , revertendo o comprometimento observado no grupo D-GAL ( $E_{max} = 74,55\%$ ). Esses efeitos estiveram associados ao aumento da mobilização de células progenitoras endoteliais (EPCs) para a circulação periférica. Conclui-se que o LEHST atua de forma multifatorial na atenuação do envelhecimento, reduzindo a senescência vascular, revertendo alterações fenotípicas e restaurando a função vascular. Além disso, promove o reparo endotelial ao favorecer a mobilização de EPCs, destacando *Spondias tuberosa* como uma promissora alternativa terapêutica e reforçando sua relevância científica e socioeconômica para o semiárido brasileiro.

**Palavras-chave:** Senescência vascular; Célula progenitora endotelial (EPC); *Spondias tuberosa*.

## ABSTRACT

Population aging increases the incidence of cardiovascular diseases and is accompanied by oxidative stress and inflammation, which contribute to endothelial dysfunction. In this context, endothelial progenitor cells (EPCs), responsible for vascular repair, exhibit a decline in both number and function with advancing age. Given the need for strategies targeting vascular repair mechanisms, this study used a D-galactose-induced aging model to evaluate the effects of a lyophilized hydroalcoholic extract of *Spondias tuberosa* Arruda bark (LEHST), considering its antioxidant and anti-senescence properties. Wistar rats were divided into three groups: young control (CTL), aged control (DGAL), and aged rats treated with LEHST (100 mg/kg) for eight weeks. Phenotypic characteristics, body weight, cellular senescence, vascular function, and EPC mobilization were evaluated. Treatment with LEHST reversed phenotypic signs of aging without affecting body weight and showed a significant anti-senescence effect, as evidenced by reduced SA- $\beta$ -gal staining in the mesenteric artery. Furthermore, it prevented age-induced contractile hyperresponsiveness ( $E_{max} = 57.0\%$  in the LEHST group vs.  $102.08\%$  in the D-GAL group) and restored endothelial function, with an acetylcholine-induced relaxation response of  $120.2\%$ , reversing the impairment observed in the D-GAL group ( $E_{max} = 74.55\%$ ). These effects were associated with increased mobilization of endothelial progenitor cells (EPCs) into the peripheral circulation. In conclusion, LEHST acts through multiple mechanisms to mitigate aging, reducing vascular senescence, reversing phenotypic alterations, and restoring vascular function. Additionally, it promotes endothelial repair by enhancing EPC mobilization, highlighting *Spondias tuberosa* as a promising therapeutic alternative and reinforcing its scientific and socioeconomic relevance for the Brazilian semi-arid region.

**Keywords:** Vascular senescence; Endothelial progenitor cell (EPC); *Spondias tuberosa*.

## LISTA DE FIGURAS

Figura - 1 Protocolo de obtenção do liofilizado do extrato hidroalcoólico de <i>Spondias tuberosa</i> Arruda.....	24
Figura 2 - Grupos experimentais.....	25
Figura 3 - Protocolo de processamento da artéria mesentérica superior para análise da SA- $\beta$ -galactosidase.....	26
Fonte: Elaboração própria utilizando IA Nano Banana, 2026.....	26
Figura 4 - Protocolo reatividade vascular com artéria mesentérica superior.....	28
Figura 5 - Isolamento de células progenitoras endoteliais (EPCs).....	29
Figura 6 – Avaliação da evolução ponderal nos diferentes grupos experimentais durante o tratamento.....	32
Figura 7 - Registros representativos da avaliação da senescência.....	33
Figura 8 - Curva concentração-resposta para a FEN em artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento.....	34
Figura 9 - Curva concentração-resposta para a ACh em artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento.....	36
Figura 10 - Curva concentração-resposta para a NPS em artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento.....	37
Figura 11 - Quantificação e caracterização de EPCs nos compartimentos periférico e medular..	38
Figura 12 - Efeitos do LEHST no modelo de envelhecimento induzido por D-galactosidase.	40

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>11</b>
<b>2 OBJETIVOS.....</b>	<b>12</b>
2.1 Objetivo geral.....	12
2.2 Objetivos específicos.....	12
<b>3 REFERENCIAL TEÓRICO.....</b>	<b>13</b>
3.1 Estrutura e funções do endotélio vascular.....	13
3.2 Papel do óxido nítrico sobre a vasculatura.....	14
3.3 Disfunção endotelial.....	15
3.4 Células Progenitoras Endoteliais (EPCs) e re-endotelização vascular.....	17
3.5 Células Progenitoras endoteliais e envelhecimento.....	20
3.6 Spondias tuberosa Arruda.....	21
<b>4 METODOLOGIA.....</b>	<b>23</b>
4.1 Animais.....	23
4.2 Obtenção do liofilizado do extrato hidroalcoólico da casca do fruto da Spondias tuberosa Arruda (LEHST).....	23
4.3 Delineamento dos experimentos.....	24
4.4 Avaliação dos efeitos do tratamento com LEHST sobre a função vascular.....	25
4.4.1 Análise de senescência vascular em artéria mesentérica superior.....	25
4.4.2 Ensaios farmacológicos com artéria mesentérica superior.....	26
4.5 Avaliação dos efeitos do tratamento com LEHST sobre a produção e mobilização de EPCs.....	28
4.5.1 Isolamento de EPCs derivadas da medula óssea.....	28
4.5.2 Isolamento de EPCs da circulação periférica.....	29
4.5.3 Quantificação e caracterização de EPC após o tratamento.....	29
4.6 Análise estatística.....	30
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
5.1 Avaliação de aspectos fenotípicos e evolução ponderal nos diferentes grupos.....	31
5.2 Efeitos do tratamento com LEHST sobre a senescência vascular.....	32
5.3 Efeito contrátil de FEN em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento.....	33
5.4 Efeito relaxante de ACh em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento.....	35
5.5 Efeito relaxante de NPS em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento.....	36
5.6 Impacto do envelhecimento induzido por D-galactose e do tratamento com LEHST na disponibilidade e mobilização de EPCs.....	38
<b>6 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>40</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA.....</b>	<b>48</b>

## 1 INTRODUÇÃO

As transformações demográficas observadas nas últimas décadas evidenciam um envelhecimento acelerado da população mundial, caracterizado pelo crescimento contínuo do número de pessoas idosas. No ano de 2025, a população com mais de 60 anos ultrapassava 1,2 bilhão de pessoas, e as projeções indicam que esse número chegará a 2,1 bilhões em 2050 (ONU, 2025). Esse cenário impacta diretamente o perfil de morbimortalidade das nações, favorecendo o aumento da carga global de doenças cardiovasculares, cujo risco se intensifica progressivamente com o avanço da idade (OPAS, 2025).

O envelhecimento promove alterações estruturais e funcionais que precedem o diagnóstico clínico de doenças, mesmo na ausência de fatores de risco convencionais, como tabagismo ou dislipidemia (Donato; Machin; Lesniewski, 2018). Essas mudanças progressivas comprometem a função de diferentes tecidos e sistemas, refletindo um declínio gradual da capacidade de adaptação biológica (Desjardins; Balligand, 2006).

No sistema vascular, tais alterações favorecem o desenvolvimento da disfunção endotelial, considerada um dos principais fenótipos preditores de risco cardiovascular. Essa condição caracteriza-se pela perda da capacidade regulatória do endotélio, comprometendo a homeostase vascular e a adequada resposta vasodilatadora (Donato; Machin; Lesniewski, 2018; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023). Além disso, o envelhecimento associa-se ao aumento do estresse oxidativo e à instalação de um estado inflamatório crônico de baixo grau, fatores que contribuem para o agravamento da disfunção endotelial e para o comprometimento dos mecanismos de reparo vascular (Khavinson *et al.*, 2023).

Esses processos favorecem a redução da biodisponibilidade de óxido nítrico, promovem alterações na reatividade vascular e estimulam a progressão de lesões ateroscleróticas, contribuindo diretamente para o desenvolvimento e agravamento de doenças cardiovasculares, como hipertensão arterial, doença arterial coronariana e acidente vascular cerebral (Alexander *et al.*, 2021; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023).

Como importante fator relacionado à manutenção e preservação da integridade vascular, destacam-se as células progenitoras endoteliais (EPCs), que participam do reparo e da regeneração do endotélio após lesões (Schröder-Heurich *et al.*, 2025). Entretanto, evidências indicam que o envelhecimento compromete quantidade, a mobilização e a

funcionalidade dessas células, reduzindo seu potencial regenerativo e favorecendo a progressão da disfunção endotelial (Akhiyat *et al.*, 2025; Schröder-Heurich *et al.*, 2025).

Diante dessas alterações, modelos experimentais de envelhecimento, como a indução por D-galactose, têm sido amplamente utilizados para reproduzir alterações associadas ao envelhecimento vascular, incluindo aumento do estresse oxidativo, inflamação crônica e comprometimento funcional do endotélio. A administração crônica de D-galactose favorece a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) e o aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), desencadeando mecanismos que mimetizam alterações observadas no envelhecimento humano e permitindo a investigação de potenciais intervenções terapêuticas nesse contexto (Azman; Zacaria, 2019; Saafan *et al.*, 2023).

Apesar dos avanços científicos relacionados ao desenvolvimento de produtos para reduzir os danos associados ao envelhecimento, ainda existem limitações quanto a estratégias capazes de atuar diretamente nos mecanismos celulares da senescência vascular. Nesse cenário, compostos naturais com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias vêm despertando interesse como potenciais agentes moduladores da função vascular (Ross, 2018; Zhou *et al.*, 2021).

Neste contexto, a investigação científica de espécies nativas como *Spondias tuberosa*, popularmente conhecida como umbu, contribui não apenas para o avanço da pesquisa biomédica, mas também para a valorização de recursos regionais e o fortalecimento da cadeia produtiva associada a essa cultura (Uchôa *et al.*, 2015; da Costa Cordeiro *et al.*, 2018). A espécie em questão apresenta potencial antioxidante, com estudos em andamento apontando para um efeito antissenescente sobre células endoteliais. Portanto, devido a essas propriedades, a *Spondias tuberosa* tem sido alvo de crescente interesse em nosso grupo de pesquisa e no cenário acadêmico (da Costa Cordeiro *et al.*, 2018).

Dessa forma, este estudo busca avaliar o efeito do liofilizado do extrato hidroalcoólico da casca de *Spondias tuberosa* Arruda na mobilização de células progenitoras endoteliais e na regeneração da função endotelial em modelo experimental de envelhecimento, contribuindo para a compreensão de estratégias complementares voltadas à modulação dos mecanismos celulares do envelhecimento vascular.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar o efeito do liofilizado do extrato hidroalcoólico de *Spondias tuberosa* Arruda (LEHST) em animais envelhecidos, sobre a mobilização de células progenitoras endoteliais e a regeneração da função endotelial.

### **2.2 Objetivos específicos**

Avaliar o efeito do tratamento com LEHST em animais envelhecidos por D-galactose sobre:

- Características fenotípicas e peso corporal;
- Senescência vascular;
- Função vascular;
- Produção e mobilização de células progenitoras endoteliais (EPCs).

### 3 REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1 Estrutura e funções do endotélio vascular

O endotélio vascular é a camada que reveste internamente os vasos sanguíneos (Evans *et al.*, 2021). Formado por células endoteliais, normalmente achatadas, mas que podem variar quanto à aparência dependendo da sua localização (Pluta *et al.*, 2025). Essas células apresentam características fundamentais para o adequado funcionamento do organismo, incluindo, entre outras, a manutenção da vasculatura por meio de processos como vasculogênese e angiogênese (Augustin; Koh, 2024).

O endotélio atua como uma barreira seletiva, regulando o tráfego celular, a perfusão tecidual, a permeabilidade vascular, os processos de coagulação e a pressão arterial, bem como exercendo importante atividade metabólica e de sinalização celular (Augustin; Koh, 2024). Nesse contexto, o endotélio não deve ser compreendido apenas como uma barreira física entre o sangue e as demais camadas do tecido vascular, mas como um componente dinâmico e funcionalmente ativo (Evans *et al.*, 2021).

Nesse sentido, a função endotelial adequada promove a homeostase vascular por meio do equilíbrio entre a liberação de mediadores vasodilatadores e vasoconstritores (Krüger-Genge *et al.*, 2019). As células endoteliais sintetizam e liberam diversos fatores capazes de modular o tônus do músculo liso vascular, ajustando o fluxo sanguíneo de acordo com as demandas metabólicas dos tecidos (Pluta *et al.*, 2025).

Entre os principais mediadores vasodilatadores produzidos pelo endotélio destacam-se o óxido nítrico (NO), a prostaciclina (PGI<sub>2</sub>) e o fator hiperpolarizante derivado do endotélio (EDHF). A liberação dessas substâncias pode ser estimulada por diferentes agentes, como acetilcolina, bradicinina, difosfato de adenosina (ADP), citocinas inflamatórias e alguns hormônios (Pluta *et al.*, 2025). Em contrapartida, entre os principais mediadores vasoconstritores associados ao endotélio encontram-se a endotelina-1 (ET-1), a angiotensina II (Ang II) e produtos derivados da ciclooxigenase (COX), como prostaglandinas vasoconstritoras e o tromboxano A<sub>2</sub> (TXA<sub>2</sub>) (Balcilar, 2017; Krüger-Genge, 2019).

Além das funções clássicas atribuídas ao endotélio vascular, as células endoteliais apresentam significativa heterogeneidade fenotípica e funcional, a qual varia conforme o leito vascular, o órgão e o microambiente local (Aird, 2007). Essas diferenças refletem adaptações às demandas hemodinâmicas e metabólicas específicas de cada tecido, influenciando

propriedades como permeabilidade, resposta inflamatória e capacidade angiogênica (Augustin; Koh, 2017).

### 3.2 Papel do óxido nítrico sobre a vasculatura

O tônus vascular refere-se ao grau basal de contração da musculatura lisa presente na parede dos vasos sanguíneos, que determina o diâmetro da vasculatura e influencia a resistência vascular periférica e o fluxo sanguíneo (Bauer; Sotníková, 2010; Desjardins; Balligand, 2006). Esse tônus é continuamente ajustado por diferentes mecanismos regulatórios, entre os quais se destaca a ação do endotélio vascular (Laurindo *et al.*, 2018; Nappi *et al.*, 2022; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023). Inicialmente descrito como um mediador distinto, o EDRF foi posteriormente identificado como NO, a partir de evidências experimentais que demonstraram identidade funcional e bioquímica entre ambos (Furchgott; Zawadzki, 1980; Palmer *et al.*, 1987). O NO é um gás lipossolúvel produzido pela enzima óxido nítrico sintase (NOS), a partir de diferentes isoformas, sendo a forma endotelial (eNOS ou NOS3) a principal responsável pela sua síntese no sistema vascular (Cyr *et al.*, 2020).

A produção de NO pelas células endoteliais é regulada por diferentes estímulos mecânicos e químicos. Entre eles, destacam-se o estresse de cisalhamento gerado pelo fluxo sanguíneo e a ativação de receptores endoteliais por diversas substâncias biologicamente ativas, como a acetilcolina e a bradicinina. Esses estímulos promovem aumento da concentração de cálcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) no citoplasma das células endoteliais, favorecendo a ligação do  $\text{Ca}^{2+}$  à calmodulina e levando à ativação da eNOS. Uma vez ativada, a eNOS catalisa a conversão do aminoácido L-arginina em NO e L-citrulina na presença de oxigênio molecular e de cofatores específicos, como tetrahydrobiopterina ( $\text{BH}_4$ ), flavina adenina dinucleotídeo (FAD), flavina mononucleotídeo (FMN) e nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) (Cyr *et al.*, 2020; Bauer; Sotníková, 2010; Desjardins; Balligand, 2006).

O NO produzido é uma molécula reativa e altamente difusível (Cyr *et al.*, 2020). Após sua síntese nas células endoteliais, atravessa rapidamente a membrana plasmática e difunde-se para as células musculares lisas vasculares (VSMCs). Nessas células, o NO liga-se ao ferro ( $\text{Fe}^{2+}$ ) do grupo heme da enzima ciclase de guanilil solúvel (sGC), promovendo sua ativação e aumentando a produção de guanosina monofosfato cíclico 3',5' (cGMP), que atua como segundo mensageiro para ativar a proteína cinase G (PKG), resultando na redução dos níveis

de  $\text{Ca}^{2+}$  citoplasmático e no conseqüente relaxamento muscular e vasodilatação (Bauer; Sotníková, 2010; Desjardins; Balligand, 2006).

Além da vasodilatação, o NO protege o sistema cardiovascular ao inibir a adesão e agregação plaquetária e impedir a proliferação e migração de células musculares lisas, evitando o remodelamento vascular patológico (Desjardins; Balligand, 2006). Nesse sentido, o NO também atua como um modulador que impede o recrutamento e a adesão de leucócitos ao endotélio, exercendo um papel anti-inflamatório fundamental ao reduzir a expressão de moléculas de adesão, como molécula de adesão celular vascular-1 (VCAM-1) e molécula de adesão intracelular-1 (ICAM-1), e de fatores quimiotáticos, como a proteína quimiotática de monócitos-1 (MCP-1) (Bauer; Sotníková, 2010; Cyr *et al.*, 2020; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023).

Além de suas funções protetoras, o NO desempenha um papel essencial na regeneração vascular e na angiogênese. Ele atua como um sinalizador crítico para o desenvolvimento de circulação colateral e neovascularização após episódios isquêmicos. Esse processo de reparo envolve a capacidade do NO de promover a mobilização de células progenitoras endoteliais da medula óssea para os locais de lesão. Adicionalmente, a síntese de NO mediada por fatores de crescimento, como o VEGF (fator de crescimento endotelial vascular), estimula a migração e a sobrevivência das células endoteliais, garantindo a restauração da integridade e da funcionalidade do endotélio após danos vasculares (Laurindo *et al.*, 2018; Cyr *et al.*, 2020; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023).

Nesse contexto, a integridade da via do NO é fundamental para a manutenção da homeostase vascular, sendo sua desregulação associada ao desenvolvimento de diversas condições patológicas caracterizadas por disfunção endotelial. Exemplos proeminentes dessas condições incluem doenças cardiovasculares, como a hipertensão arterial, a aterosclerose e a insuficiência cardíaca, além de distúrbios metabólicos, como o diabetes mellitus, a obesidade e a síndrome metabólica (Desjardins; Balligand, 2006; Nappi *et al.*, 2022).

### **3.3 Disfunção endotelial**

A disfunção endotelial caracteriza-se pelo comprometimento progressivo da capacidade funcional do endotélio vascular em manter a homeostase vascular (Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023). O estado homeostático de equilíbrio entre vasoconstritores e

vasodilatadores observado em condições fisiológicas é comprometido nesse contexto (Krüger-Genge *et al.*, 2019).

Estímulos químicos, como a hiperglicemia, os produtos de glicação avançada (AGEs) e as citocinas pró-inflamatórias, bem como estímulos físicos, a exemplo do fluxo sanguíneo perturbado (oscilatório) e da pressão intravascular elevada são capazes de romper o equilíbrio homeostático do endotélio. Esses fatores atuam de forma sinérgica para interromper o estado quiescente das células endoteliais, resultando na perda de seu fenótipo protetor e na promoção de um ambiente vascular marcadamente pró-inflamatório, pró-trombótico e vasoconstritor (Konukoglu; Uzun, 2016; Krüger-Genge *et al.*, 2019; Alexander *et al.*, 2021).

Fatores de risco cardiovasculares, como hipertensão arterial, diabetes mellitus, dislipidemia, tabagismo e o envelhecimento, contribuem para a ruptura desse estado quiescente e para a ativação de fontes enzimáticas e não enzimáticas envolvidas na formação de EROs (Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023). Entre as principais fontes vasculares de EROs destacam-se a xantina oxidase, a cadeia transportadora de elétrons mitocondrial e a NADPH oxidase (NOX), responsável pela produção do ânion superóxido ( $O_2^-$ ), o qual pode ativar outras fontes de EROs e promover o estresse oxidativo (Konukoglu; Uzun, 2016; Alexander *et al.*, 2021).

Do ponto de vista funcional, um dos principais mecanismos associados à disfunção endotelial é a redução da biodisponibilidade do NO (Konukoglu; Uzun, 2016). Esse processo ocorre, principalmente, por duas vias: a diminuição da sua síntese, decorrente da menor expressão e atividade da eNOS, além da escassez de cofatores e do substrato L-arginina; e sua inativação oxidativa. Nesta última, o NO reage rapidamente com o ânion superóxido, formando peroxinitrito ( $ONOO^-$ ), um potente oxidante capaz de degradar o cofator tetrahydrobiopterina ( $BH_4$ ) em dihydrobiopterina ( $BH_2$ ) agravando o estresse oxidativo (Alexander *et al.*, 2021; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023; Konukoglu; Uzun, 2016).

A consequente falta de  $BH_4$ , altera a dinâmica da enzima, favorecendo o desacoplamento da eNOS. Nesse estado, a transferência de elétrons persiste, mas a síntese de NO é interrompida, e em seu lugar é produzido superóxido, tornando-se, ela própria, uma fonte adicional de radicais livres. Esse fenômeno estabelece um ciclo vicioso de retroalimentação que impulsiona a progressão da lesão vascular de forma persistente (Konukoglu; Uzun, 2016; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023).

À medida que a disfunção avança, o endotélio passa por mudanças estruturais e funcionais acentuadas, deixando de ser um estado patológico único para representar um espectro de fenótipos alterados. Esse processo inclui o aumento da permeabilidade vascular e o rompimento da barreira física, o que facilita a infiltração de lipídios e células inflamatórias no espaço subendotelial. Simultaneamente, ocorre a expressão e ativação de moléculas de adesão que promovem o recrutamento e ancoragem de leucócitos à parede do vaso (Bauer; Sotníková, 2010; Alexander *et al.*, 2021; Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023).

A disfunção também compromete a homeostase, levando o endotélio a expressar um fenótipo pró-coagulante e pró-trombótico. Nesse estado, as células endoteliais aumentam a produção do fator de von Willebrand (vWF) e do fator tecidual (TF), além de elevarem os níveis do inibidor do ativador de plasminogênio-1 (PAI-1). Tais mudanças favorecem a formação de trombos e prejudicam a fibrinólise, contribuindo para a progressão da degeneração vascular e de processos como a aterosclerose (Bauer; Sotníková, 2010; Konukoglu; Uzun, 2016; Alexander *et al.*, 2021).

Nesse sentido, apesar da heterogeneidade morfológica e funcional exibida pelas células endoteliais em diferentes órgãos, a disfunção endotelial é reconhecida como um processo sistêmico. A função endotelial verificada em territórios periféricos apresenta uma clara correlação clínica com a integridade de outros leitos vasculares, como as artérias coronárias, permitindo que alterações localizadas funcionem como um marcador que reflete a saúde vascular global (Desjardins; Balligand, 2006; Alexander *et al.*, 2021).

Desse modo, a recuperação da integridade do endotélio é fundamental para a manutenção da homeostase vascular (Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023). Visto que a disfunção endotelial é reconhecida como um evento precoce e um fator de risco independente na patogênese de doenças cardiovasculares, a restauração do tecido lesado é vital para interromper a evolução de processos como a hipertensão essencial e a aterosclerose (Berezin, 2018; Li *et al.*, 2021). Portanto, promover o reparo endotelial eficiente configura-se como uma estratégia central para prevenir a progressão rumo a condições clínicas graves e, muitas vezes, irreversíveis, a exemplo da insuficiência cardíaca e do infarto do miocárdio (Berezin, 2018; Canjuga *et al.*, 2022).

### **3.4 Células Progenitoras Endoteliais (EPCs) e re-endotelização vascular**

As células progenitoras endoteliais (EPCs) são uma população heterogênea de células capazes de se diferenciar em células endoteliais maduras, participar da formação de novos vasos e contribuir para o reparo do endotélio danificado (Asahara *et al.*, 1997. Li *et al.*, 2021). Essenciais para a manutenção da homeostase vascular, as EPCs atuam tanto em condições patológicas quanto fisiológicas, desempenhando um papel crucial na vasculogênese pós-natal, cicatrização de feridas, recuperação de infarto do miocárdio e tratamento agudo de isquemia de membros (Schröder-Heurich *et al.*, 2025).

As EPCs podem ser classificadas em dois grupos principais com linhagens distintas: iniciais e tardias. As EPCs de crescimento inicial, ou células angiogênicas circulantes (CACs), surgem entre 4 e 7 dias e possuem origem hematopoiética (mielóide) (Schröder-Heurich *et al.*, 2025). Elas apresentam baixa capacidade proliferativa, expressam marcadores como CD34, CD133, CD31 e fator de von Willebrand (FvW). Sua função predominante é a secreção de fatores parácrinos, como o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), o fator de crescimento dos hepatócitos (HGF) e o fator estimulador de colônias granulocíticas (G-CSF) (Yang *et al.*, 2018; Schröder-Heurich *et al.*, 2025). Esses fatores estimulam a sobrevivência e a proliferação das células endoteliais residentes, coordenando o processo de cicatrização e reduzindo o ambiente inflamatório no local da lesão (Berezin, 2018; Li *et al.*, 2021)

Já as EPCs tardias, também chamadas de células formadoras de colônias endoteliais (ECFCs), surgem após 2 a 3 semanas e possuem linhagem endotelial (não hematopoiética). Elas expressam marcadores como receptor 2 do fator de crescimento endotelial vascular (VEGFR-2), VE-caderina e CD34, mas perdem os marcadores CD133 e CD45 ao adquirir o fenótipo de células endoteliais maduras (Schröder-Heurich *et al.*, 2025). Ao contrário das iniciais, as ECFCs possuem alta capacidade de autorrenovação e proliferação, sendo capazes de formar fisicamente novas redes vasculares e se integrar à parede do vaso, formando novas redes capilares funcionais e estáveis, o que é fundamental para a restauração da integridade da barreira endotelial e para a neovascularização pós-natal em tecidos isquêmicos (Li *et al.*, 2021; Canjuga *et al.*, 2022). Apesar dessa classificação, ainda há divergências na literatura quanto à definição exata das EPCs e aos marcadores específicos que as caracterizam, especialmente no que se refere à distinção entre CACs e ECFCs (Yang *et al.*, 2018; Ramirez-Velandia *et al.*, 2024).

As EPCs permanecem na medula óssea em condições basais, aderidas às células estromais via integritinas nas EPCs e VCAM-1 nas células do estroma (Sun *et al.*, 2019). Sua

mobilização ocorre quando essa interação com o estroma medular é enfraquecida, o que pode acontecer em resposta à hipóxia, inflamação, lesão endotelial, aumento da demanda regenerativa e à ação de determinados fármacos (Sun *et al.*, 2019). Esses estímulos, que acontecem nas áreas de injúria vascular, elevam a expressão de citocinas mobilizadoras, como fator de crescimento do endotélio vascular (VEGF), fator 1 derivado de células estromais (SDF-1), proteína quimioatraente de monócitos 1 (MCP-1) e eritropoetina (EPO), que ativam a via PI3K/Akt, promovendo a ativação da eNOS e o aumento da produção de NO, o qual contribui para o remodelamento do nicho medular ao ativar a metaloproteinase de matriz-9 (MMP-9), liberando as EPCs para a circulação (Sun *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2021; Xia *et al.*, 2021).

Uma vez na corrente sanguínea, as EPCs são direcionadas aos locais de lesão através do eixo SDF-1 $\alpha$ /CXCR4, onde o gradiente de quimiocinas atrai as células que expressam o receptor CXCR4. A fixação ao local da injúria ocorre em diferentes etapas: primeiro, a interação entre o ligante PSGL-1 nas EPCs e as selectinas (P e E) no endotélio ativado promove o rolamento e a adesão inicial (Rethineswaran *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021; Canjuga *et al.*, 2022). Depois, as EPCs secretam metaloproteinases (MMPs) e outros fatores parácrinos que auxiliam no recrutamento adicional e na incorporação celular definitiva para o reparo tecidual (Tkacz *et al.*, 2024; Ramirez-Velandia *et al.*, 2024).

O gradiente de SDF-1 liberado pelo tecido injuriado se liga ao seu receptor CXCR4, expresso na superfície das EPCs, e media o direcionamento e recrutamento dessas células ao local de lesão (Canjuga *et al.*, 2022). No endotélio ativado, o ligante de glicoproteína P-selectina 1 (PSGL-1), presente nas EPCs, interage com moléculas de adesão como P-selectina e E-selectina, promovendo a fixação inicial e o rolamento celular (Li *et al.*, 2021; Canjuga *et al.*, 2022). Após esse rolamento, as células aderem-se firmemente para não serem levadas pelo fluxo sanguíneo, o que ocorre por meio da interação entre as integrinas  $\beta$ 2 das EPCs e a ICAM-1 (Canjuga *et al.*, 2022).

Após a adesão firme, as EPCs atravessam o endotélio por meio de um processo de transmigração associado à reorganização do citoesqueleto e à degradação da matriz extracelular por MMPs, estabelecendo-se no tecido lesionado, onde passam a contribuir para o reparo vascular (Tkacz *et al.*, 2024; Canjuga *et al.*, 2022).

No entanto, essas células não permanecem inalteradas ao longo da vida. Diversos fatores podem comprometer negativamente a capacidade das EPCs de reparar danos

endoteliais, incluindo diabetes *mellitus*, obesidade, dislipidemia, aterosclerose e o próprio envelhecimento (Berezin, 2018; Peyter *et al.*, 2021).

### 3.5 Células Progenitoras endoteliais e envelhecimento

No contexto do envelhecimento biológico, observa-se redução quantitativa e funcional das EPCs circulantes (Akhiyat *et al.*, 2025). A exposição a agentes estressores como níveis elevados de glicose e EROs ativa a resposta ao dano ao DNA e leva à redução de proteínas protetoras como a SIRT1, resultando em uma interrupção irreversível do ciclo celular denominada senescência (Peyter *et al.*, 2021; Schröder-Heurich; Beckmann; Versen-Höynck, 2025; Wu *et al.*, 2026).

As células senescentes param de se dividir para evitar a propagação dos danos, mas permanecem metabolicamente ativas e apresentam o fenótipo secretor associado à senescência (SASP), caracterizado pela liberação de citocinas inflamatórias (Peyter *et al.*, 2021; Wu *et al.*, 2026). Os fatores secretados como parte do SASP exercem efeitos parácrinos, induzindo células adjacentes à senescência e promovendo um ambiente inflamatório (Wu *et al.*, 2026). Essa inflamação crônica de baixo grau, também chamada de “*inflammaging*”, está associada à perda da capacidade das EPCs de migrar e proliferar, fenômeno agravado pelo desacoplamento da eNOS, que exacerba a produção de superóxido (Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023; Khavinson *et al.*, 2023).

Além da redução de proteínas protetoras, a senescência das EPCs é marcada pelo aumento da expressão de proteínas inibidoras do ciclo celular, como p16, p21 e p27 (Rethineswaran *et al.*, 2021). O processo de envelhecimento afeta, ainda, a funcionalidade dessas células, de modo que, mesmo presentes em quantidades adequadas, elas tornam-se menos responsivas aos estímulos quimiotáticos. Ocorre uma diminuição da sensibilidade das EPCs ao VEGF, comprometendo a sua mobilização da medula óssea e integração às áreas de lesão (Schröder-Heurich; Beckmann; Versen-Höynck, 2025).

A nível intracelular, observa-se um declínio do processo autofágico associado aos lisossomos, culminando no acúmulo de proteínas oxidadas e organelas disfuncionais, como a lipofuscina, sendo esse um gatilho para a senescência replicativa das EPCs (Peyter *et al.*, 2021; Rethineswaran *et al.*, 2021). Simultaneamente, organismos envelhecidos apresentam aumento da atividade da enzima arginase, que compete com a eNOS pelo substrato

L-arginina, hidrolisando-o em ornitina e ureia. Nesse contexto de privação de substratos, a eNOS sofre desacoplamento, passando a produzir superóxido em vez de NO, o que alimenta o ciclo de estresse oxidativo e inflamação crônica (Janaszak-Jasiecka *et al.*, 2023).

Essa enzima hidrolase, de origem lisossomal, funciona como um biomarcador do envelhecimento celular, pois sua atividade aumenta significativamente em resposta ao acúmulo e à acidificação dos lisossomos. Esse fenômeno ocorre de forma característica quando as células interrompem permanentemente o ciclo de divisão e passam a estocar proteínas oxidadas e organelas danificadas, que não puderam ser processadas pela via autofágica agora declinante. Assim, a presença da SA- $\beta$ -gal não é apenas um sinal isolado, mas a manifestação bioquímica final da degradação funcional e do estresse oxidativo que comprometem o potencial regenerativo das células progenitoras (Rethineswaran *et al.*, 2021; Xia *et al.*, 2021).

Diante disso, a preservação da funcionalidade das EPCs torna-se central para atenuar a disfunção endotelial e preservar a integridade vascular. Estratégias capazes de modular o estresse oxidativo e o estado inflamatório, como o uso de compostos bioativos com propriedades antioxidantes, como abordagens promissoras para restaurar a função dessas células e atenuar os efeitos do envelhecimento vascular (Peyter *et al.*, 2021).

### **3.6 *Spondias tuberosa* Arruda**

Considerando que o estresse oxidativo e o estado inflamatório crônico desempenham papel central na senescência das células progenitoras endoteliais e na progressão da disfunção endotelial, a busca por estratégias terapêuticas capazes de modular esses processos tem ganhado destaque (Wu *et al.*, 2026). Nesse contexto, compostos naturais com propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, como frutas, vegetais, vinho tinto e nozes, vêm despertando crescente interesse científico, devido à sua possível atuação na prevenção e no controle de doenças cardiovasculares (Zhou *et al.*, 2021; Barbosa; Fernandes, 2014).

O Brasil, detentor de uma das maiores biodiversidades vegetais do mundo, configura-se como um ambiente altamente promissor para a investigação de espécies nativas com potencial farmacológico, químico e econômico, embora o número de aplicações terapêuticas efetivamente desenvolvidas e que chegam aos mercados a partir desses recursos ainda seja limitado (Conrado *et al.*, 2024).

Entre as espécies do Nordeste brasileiro, destaca-se a *Spondias tuberosa* Arruda, popularmente conhecida como umbuzeiro. Pertencente à família Anacardiaceae, trata-se de uma espécie arbórea endêmica do bioma Caatinga, altamente adaptada a condições de estresse hídrico e salino, desempenhando um importante valor ecológico e econômico para a região. É amplamente utilizada na medicina popular para tratar distúrbios digestivos, infecções, dores menstruais e processos inflamatórios renais e odontológicos (Siqueira *et al.*, 2016; da Costa Cordeiro *et al.*, 2018).

Estudos demonstram que extratos das folhas e da casca do umbuzeiro apresentam atividade antioxidante, além de propriedades anti-inflamatórias, antimicrobianas e antidiabéticas. No entanto, o perfil farmacológico da *Spondias tuberosa* Arruda pode variar de acordo com a parte da planta que está sendo analisada. As folhas e a casca são ricas em taninos e flavonóides, enquanto os frutos contêm antocianinas, ácido ascórbico, minerais, carotenóides e flavonóides (Uchôa *et al.*, 2015; da Costa Cordeiro *et al.*, 2018).

Investigações anteriores realizadas pelo nosso grupo de pesquisa indicam que extratos obtidos da casca do umbu apresentam relevante atividade antioxidante em modelos *in vitro*, além de efeitos associados à redução de marcadores de senescência em células endoteliais e à indução de resposta vasorrelaxante em artéria mesentérica e tecido cavernoso (dados não publicados). Apesar desses achados promissores, os mecanismos moleculares envolvidos, particularmente no que diz respeito à senescência vascular e à participação das EPCs no processo de reparo, ainda não estão completamente elucidados.

Assim, a investigação sistemática dos efeitos farmacológicos de *Spondias tuberosa* torna-se relevante não apenas sob a perspectiva biomédica, mas também no âmbito da valorização de espécies nativas com potencial terapêutico. Adicionalmente, a parceria estabelecida entre nosso grupo de pesquisa e a Cooperativa Agropecuária Regional de Palmeira dos Índios LTDA (CARPIL) reforça o interesse em ampliar o conhecimento científico acerca do umbu como insumo estratégico, contribuindo para o fortalecimento da cadeia produtiva regional.

Diante disso, torna-se pertinente investigar o potencial de *Spondias tuberosa* Arruda na proteção vascular, com foco em seus possíveis efeitos sobre a senescência vascular, a funcionalidade das EPCs e a regeneração endotelial no contexto do envelhecimento.

## 4 METODOLOGIA

### 4.1 Animais

Os protocolos foram desenvolvidos utilizando ratos Wistar (*Rattus norvegicus*) com 8 semanas de idade. Todos os animais foram obtidos do Centro de Bioterismo da Universidade Estadual da Paraíba e mantidos no Biotério do Laboratório Pré-clínico de Envelhecimento da mesma, sob uma condição controlada de temperatura ( $21 \pm 1$  °C), em um ciclo claro-escuro de 12 horas e com livre acesso à alimentação e água. Os animais foram acomodados em gaiolas plásticas microisoladas de dimensão 49x34x16 (CxLxA em cm), cada uma com, no máximo, 4 ratos. Todos os protocolos experimentais foram aprovados pela CEUA/UFPB sob o número de protocolo 2834150324.

### 4.2 Obtenção do liofilizado do extrato hidroalcoólico da casca do fruto da *Spondias tuberosa* Arruda (LEHST)

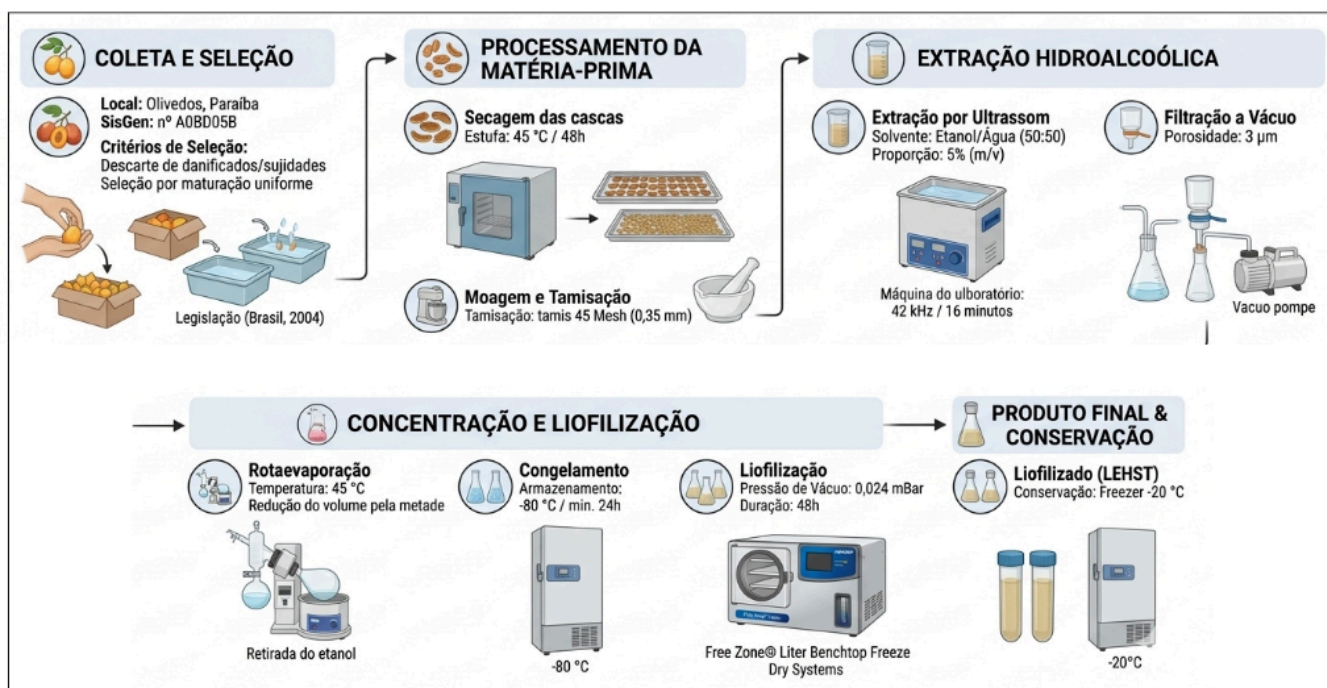
Os frutos foram coletados em um sítio do município de Olivedos-Paraíba, Brasil (6° 56' 081" S 36° 16' 50.6" O). Foi concedido o atestado de regularidade de acesso para *S. tuberosa* Arruda (n° A0BD05B) pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen). Os frutos passaram por um processo de seleção em que foram descartados os que apresentaram danos físicos, presença visível de sujidades e doenças, e foram selecionados os que apresentaram o mesmo grau de maturação. Após esta seleção, foi realizado o processo de lavagem e sanitização, de acordo com a legislação (Brasil, 2004). Em seguida, as cascas obtidas foram submetidas ao processo de secagem por desidratação em estufa a uma temperatura de 45 °C por 48 horas (Feitosa *et al.*, 2019; Araújo *et al.*, 2021).

As cascas secas, obtidas após a desidratação, foram trituradas utilizando um triturador comercial, seguido de trituração em gral de porcelana com posterior homogeneização das partículas através da tamisação com tamis 45 Mesh (equivalente a 0,35 mm de tamanho da malha). Os pós homogeneizados foram levados à extração, usando como solvente uma mistura de etanol (P.A.) e água (50:50); a proporção dos pós secos em relação ao volume de solvente foi de 5% (m/v); em seguida, as amostras foram levadas a um ultrassom com

frequência de 42 kHz por 16 minutos. Após o período de extração, as *amostras* foram filtradas a vácuo (porosidade 3 µm) para retirada do material particulado, restando os extratos solubilizados (de forma individual) no solvente extrator.

Para obtenção dos extratos secos, as soluções extrativas foram levadas ao rotaevaporador para a retirada do etanol a 45 °C até que o volume fosse reduzido à metade do volume inicial da mistura de extração. Os extratos livres de etanol foram congelados numa temperatura de -80 °C por, no mínimo, 24 horas. Em seguida, foram submetidos ao processo de liofilização sob pressão de vácuo de 0,024 mBar (liofilizador Free Zone® Liter Benchtop Freeze Dry Systems, LABCONCO®) por 48 horas obtendo-se o liofilizado do extrato hidroalcoólico da casca do fruto da *Spondias tuberosa* Arruda (LEHST), os quais foram conservados em freezer -20°C até a utilização no dia dos experimentos, sendo solubilizados e diluídos apenas momentos antes dos ensaios (solubilização em água filtrada).

**Figura - 1** Protocolo de obtenção do liofilizado do extrato hidroalcoólico de *Spondias tuberosa* Arruda



Fonte: Elaboração própria utilizando IA Nano Banana, 2026.










### 4.3 Delineamento dos experimentos

Para verificar os efeitos do LEHST sobre a modulação da regeneração vascular no envelhecimento, foi utilizado como modelo a D-galactose, um modelo de envelhecimento

acelerado. Para o desenvolvimento deste estudo, os animais foram divididos aleatoriamente em três grupos experimentais: controle jovem (CTL), controle envelhecido (D-GAL), envelhecido tratado com LEHST na dose de 100 mg/kg (LEHST-100) (Figura 2). A escolha da dose de 100 mg/kg foi baseada em investigações anteriores realizadas pelo nosso grupo de pesquisa, que demonstraram eficácia biológica e segurança farmacológica nesta concentração.

Todos os tratamentos foram administrados diariamente por via intragástrica (i.g.) em volume padronizado de 5 mL/kg (Machholz *et al.*, 2012), por um período de oito semanas. Os grupos controle receberam veículo (água filtrada), na mesma proporção utilizada para diluir o LEHST. A D-galactose foi administrada na dose de 150 mg/kg diariamente por via intraperitoneal. Durante o tratamento, os animais tiveram o peso monitorado semanalmente. Ao final do tratamento, os animais foram anestesiados com xilazina e cetamina (10 e 75 mg/kg, respectivamente, i.p.) para a obtenção de sangue periférico. Em seguida, ainda sob efeito de anestesia, os animais foram eutanasiados para a realização da extração dos ossos longos e isolamento de vasos para as análises subsequentes.

**Figura 2 - Grupos experimentais**

		
<b>Controle jovem (CTL)</b>	<b>Controle envelhecido (DGAL)</b>	<b>Envelhecido + LEHST100 (LEHST)</b>
 Salina	 D-galactose	 D-galactose
 Água filtrada	 Água filtrada	 LEHST-100mg/kg

Fonte: Elaboração própria utilizando IA Nano Banana, 2026.

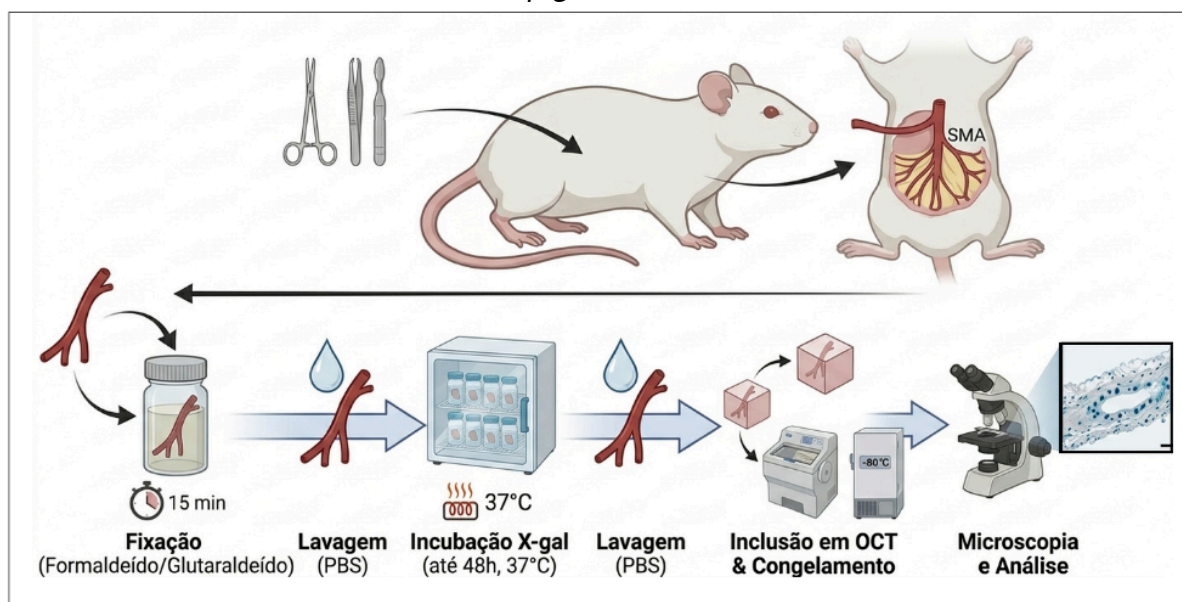
#### 4.4 Avaliação dos efeitos do tratamento com LEHST sobre a função vascular

##### 4.4.1 Análise de senescência vascular em artéria mesentérica superior

A coloração X-gal permite visualizar a expressão da SA- $\beta$ -galactosidase através da hidrólise do substrato (5-bromo-4-cloro-3-indol-beta-D-Galactopiranosídeo), sendo um

marcador frequentemente utilizado para esta finalidade. Para a análise histoquímica da senescência associada à SA- $\beta$ -galactosidase, a artéria mesentérica superior dos animais tratados foi removida e dissecada. Em seguida, o tecido foi fixado com solução de formaldeído (2%) e glutaraldeído (0,2%) por um período de 15 minutos. Em seguida, os segmentos de artérias foram lavados com PBS (NaCl 161,0 mM; NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>O 1,8 mM; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 15,8 mM) e incubados com a solução de coloração de x-gal (NaCl 150 mM; MgCl<sub>2</sub> 2 mM; C<sub>6</sub>N<sub>6</sub>FeK<sub>4</sub> 5 mM; C<sub>6</sub>N<sub>6</sub>FeK<sub>3</sub> 5 mM; X-gal 1 mg/mL, tampão de citrato-fosfato (pH 6,0) 40 mM) por um período máximo de 48 h, a 37 °C ao abrigo da luz. Posteriormente, os tecidos foram lavados com solução de PBS para remoção do excesso de solução de coloração de x-gal. Os segmentos foram incluídos em meio *Optimal Cutting Temperature* (OCT) e imediatamente levados a um ultrafreezer a -80 °C e posteriormente cortados (5  $\mu$ m de espessura) em criostato a -20 °C e incorporados em lâminas para microscopia e levados imediatamente para análise no microscópio de luz (NIKON Eclipse Ti-E, NIKON, Japão) para a observação da coloração histoquímica.

**Figura 3** - Protocolo de processamento da artéria mesentérica superior para análise da SA- $\beta$ -galactosidase



Fonte: Elaboração própria utilizando IA Nano Banana, 2026.

#### 4.4.2 Ensaios farmacológicos com artéria mesentérica superior

Os animais foram anestesiados e, por meio de uma incisão na região do abdômen do animal, a artéria mesentérica superior foi identificada, removida e imediatamente posta em

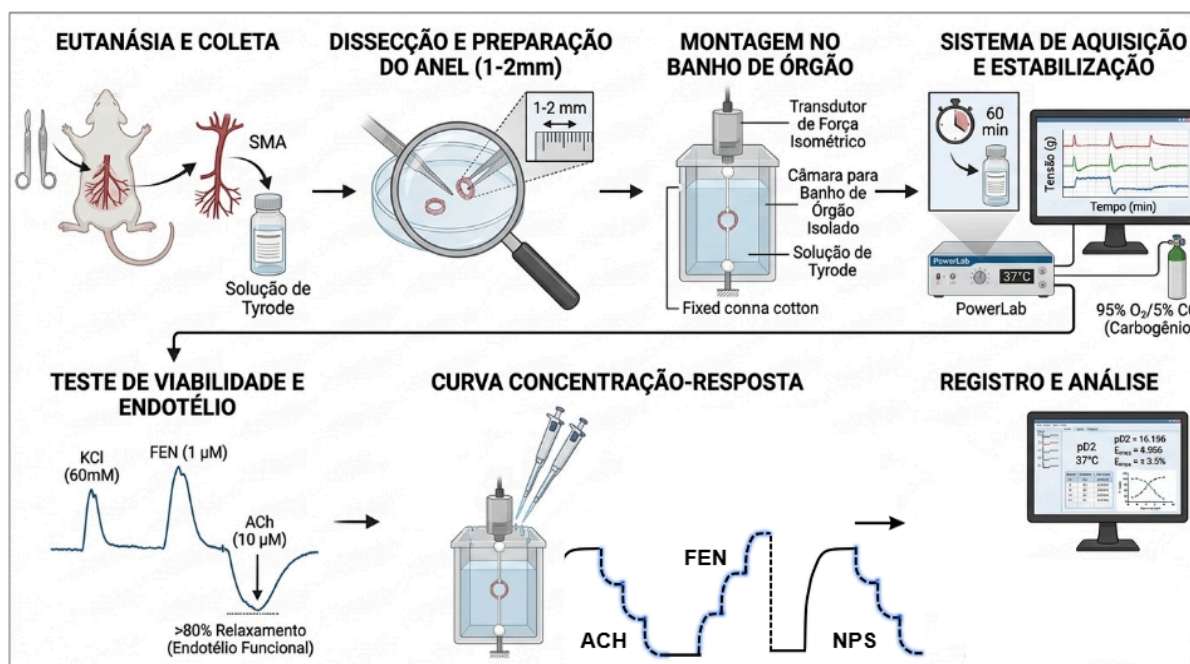
solução de Tyrode (NaCl 158,3 mM; KCl 4,0 mM; MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1,05 mM; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0,42 mM; NaHCO<sub>3</sub> 10,0 mM; C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> 5,6 mM; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 2,0 mM), para dissecação dos vasos em anéis (1-2 mm de comprimento) (Figura 4). Cada anel foi imerso em cubas para banho de órgão isolado (*Panlab Multi Chamber Organ Baths*, ADInstruments) e suspenso verticalmente por uma linha de algodão, fixada a um transdutor isométrico de força (MLT020, ADInstruments, Austrália) e registrado em sistema *PowerLab*® de aquisição de dados (ML870/P, LabChart versão 7.0, ADInstruments, Austrália).

Os tecidos foram mantidos em solução de Tyrode, a 37 °C, aerados com uma mistura de 95% de O<sub>2</sub> e 5% de CO<sub>2</sub> (carbogênio), para promover um pH relativamente constante de 7,2 - 7,4. Todos os anéis foram submetidos a uma tensão basal de aproximadamente 0,75 g, por um período de estabilização de 60 minutos, trocando a solução do banho a cada 15 minutos e ajustando a linha de base quando necessário (Altura; Altura, 1970).

Em todos os protocolos experimentais, após o período de estabilização, foi obtida uma contração com uma solução despolarizante de KCl (NaCl 102,03 mM; KCl 60,0 mM; MgCl<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O 1,05 mM; Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O 0,42 mM; NaHCO<sub>3</sub> 10,0 mM; Glicose 5,6 mM; CaCl<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O 2,0 mM). Após a estabilização inicial, os vasos foram submetidos a uma contração com fenilefrina (FEN) (1 µM), um agonista dos receptores α<sub>1</sub>-adrenérgicos, presente no músculo liso vascular, com a finalidade de verificar a viabilidade do tecido. Em seguida, a acetilcolina (ACh) (10 µM), um agonista dos receptores muscarínicos, expresso no endotélio vascular, foi adicionada à cuba com o intuito de avaliar a integridade deste (Furchgott; Zawadzki, 1980). Os anéis com relaxamento superior a 80% foram considerados com endotélio funcional e os com relaxamento inferior a 20% foram considerados sem endotélio disfuncional.

Após o procedimento de estabilização, foi avaliada a resposta contrátil, para isso os segmentos de artéria mesentérica superior dos animais foram contraídos com concentrações crescentes e cumulativas de FEN (10<sup>-9</sup> – 10<sup>-4</sup> M), e as respostas obtidas após a adição do agonista foram utilizadas para obtenção de uma curva concentração-resposta. Já a função da via do óxido nítrico foi avaliada pela adição de concentrações crescentes e cumulativas de ACh (10<sup>-10</sup>–10<sup>-5</sup> M) ou nitroprussiato de sódio (NPS) (10<sup>-12</sup>–10<sup>-4</sup> M) no banho. As respostas obtidas foram utilizadas para a obtenção de uma curva concentração-resposta.

**Figura 4** - Protocolo reatividade vascular com artéria mesentérica superior



Fonte: Elaboração própria utilizando IA Nano Banana, 2026.

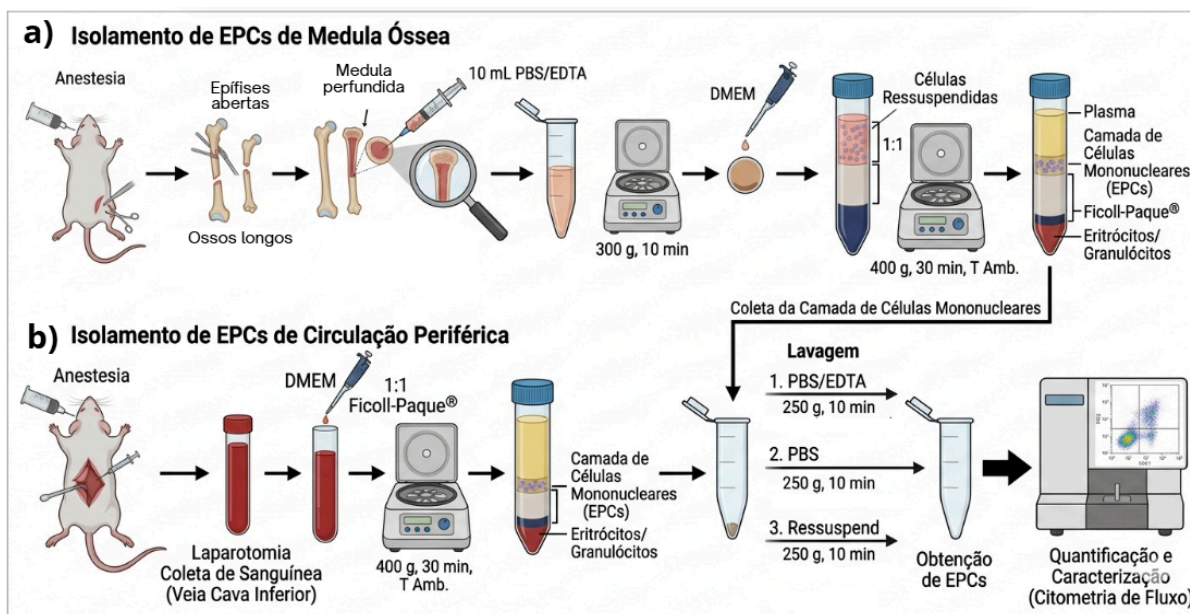
## 4.5 Avaliação dos efeitos do tratamento com LEHST sobre a produção e mobilização de EPCs

### 4.5.1 Isolamento de EPCs derivadas da medula óssea

Após anestesiados os animais, foi realizada a laparotomia para a punção da veia cava inferior, com o objetivo de realizar a coleta sanguínea (Figura 5b), e foi realizada uma incisão para a remoção do fêmur e da tíbia dos animais. Os ossos longos foram isolados e as epífises abertas, permitindo, assim, que a medula fosse perfundida com 10 mL de PBS/EDTA. Após a coleta, o aspirado de medula óssea foi coletado em um tubo cônico, centrifugado a 300 g por 10 minutos. O pellet de células obtido após a centrifugação foi ressuspensão em *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) e adicionado na proporção 1:1 em Ficoll-Paque® e levado para centrifugação a 400 g por 30 min à temperatura ambiente (Kundu *et al.*, 2017). Após a centrifugação, a camada de células mononucleares foi coletada e adicionada em PBS/EDTA, sendo submetida a uma nova centrifugação de 250 g por 10 minutos. Após a centrifugação, as células foram ressuspensas em PBS e centrifugadas a 250 g por 10 minutos novamente, repetindo esse processo mais uma vez. Foi descartado o sobrenadante, obtendo-se, por fim, as

EPCs. As células obtidas foram destinadas à quantificação e caracterização através de citometria de fluxo.

**Figura 5 - Isolamento de células progenitoras endoteliais (EPCs)**



Fonte: Elaboração própria utilizando IA Nano Banana, 2026.

#### 4.5.2 Isolamento de EPCs da circulação periférica

Após anestesiados os animais, foi realizada a laparotomia para a punção da veia cava inferior, com o objetivo de realizar a coleta sanguínea (Figura 5a). Após a coleta, o sangue foi adicionado na proporção 1:1 em Ficoll-Paque® e levado para centrifugação a 400 g por 30 min à temperatura ambiente (Kundu *et al.*, 2017). Após a centrifugação, a camada de células mononucleares foi coletada e adicionada em PBS/EDTA, sendo submetida a uma nova centrifugação de 250g por 10 minutos. Após a centrifugação, as células foram ressuspendidas em PBS e centrifugadas a 250 g por 10 minutos novamente, repetindo esse processo mais uma vez. Foi descartado o sobrenadante, obtendo-se, por fim, as EPCs. As células obtidas foram destinadas à quantificação e caracterização através de citometria de fluxo.

#### 4.5.3 Quantificação e caracterização de EPC após o tratamento.

A quantificação e caracterização de células progenitoras endoteliais foram realizadas por citometria de fluxo FACSCANTO (Becton Dickinson, San José, CA, EUA) para a

expressão de antígenos CD34, CD133, VEGFR2. Estes são os marcadores de superfície específicos mais consensuais atualmente utilizados para caracterizar EPCs. Após o isolamento das células do sangue periférico e da medula óssea, e confirmada a viabilidade celular, as amostras foram incubadas com PE-anti-CD34 (1:50), Cy5. 5-anti-CD133 (1:10), Alexa Fluor 488-anti-VEGFR2 (1:10) (Castela *et al.*, 2017). Cada análise foi realizada com a população em 100.000 eventos.

#### **4.6 Análise estatística**

Todos os dados foram expressos como média  $\pm$  erro padrão da média (e.p.m). Foram realizados os testes “t” de *Student* (não pareado) para a comparação entre duas variáveis e análise de variância (ANOVA) “*two-way*” com os pós-testes de Dunnett e Tukey, conforme a natureza da comparação. Os dados foram considerados quando  $p < 0,05$ . Todas as análises realizadas foram calculadas pelo programa estatístico GraphPad Prism versão 10.0®.

## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

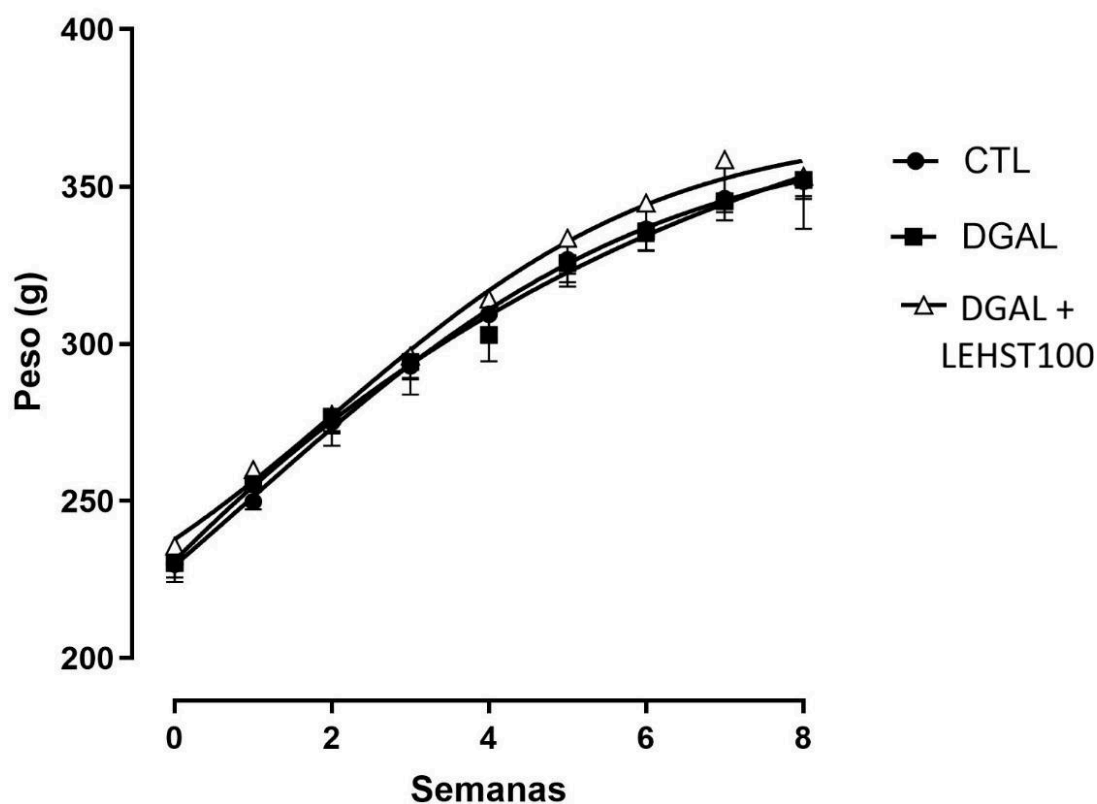
### 5.1 Avaliação de aspectos fenotípicos e evolução ponderal nos diferentes grupos

Os animais apresentaram distinções fenotípicas marcantes ao final do protocolo experimental. Enquanto o grupo CTL manteve uma aparência saudável, com pelagem lisa e brilhante, o grupo DGAL exibiu sinais claros de envelhecimento acelerado, como pelos ásperos, opacos e áreas de alopecia. Notavelmente, o tratamento com extrato para o grupo DGAL + LEHST100 preservou a integridade da pelagem, assemelhando-se ao padrão observado no grupo controle.

Essa recuperação visual é um indicativo precoce do efeito protetor sistêmico do extrato contra os danos deletérios da D-galactose. Este achado corrobora a hipótese de que o LEHST possui compostos bioativos capazes de atenuar o estresse oxidativo e a inflamação sistêmica, processos que se manifestam externamente na qualidade dos anexos cutâneos (De Almeida *et al.*, 2020; Raj *et al.*, 2021).

Paralelamente, a ausência de diferenças significativas no ganho de peso corporal entre os grupos (Figura 6) é um dado clínico de extrema relevância ( $p > 0,05$ ). Esse perfil ponderal uniforme indica que tanto a indução do envelhecimento quanto a administração crônica do extrato foram bem toleradas, sem sinais de toxicidade sistêmica severa. Tal estabilidade permite inferir que as alterações funcionais observadas posteriormente na reatividade vascular decorrem de mecanismos farmacológicos específicos e não de um estado de debilidade metabólica dos animais.

**Figura 6** – Avaliação da evolução ponderal nos diferentes grupos experimentais durante o tratamento



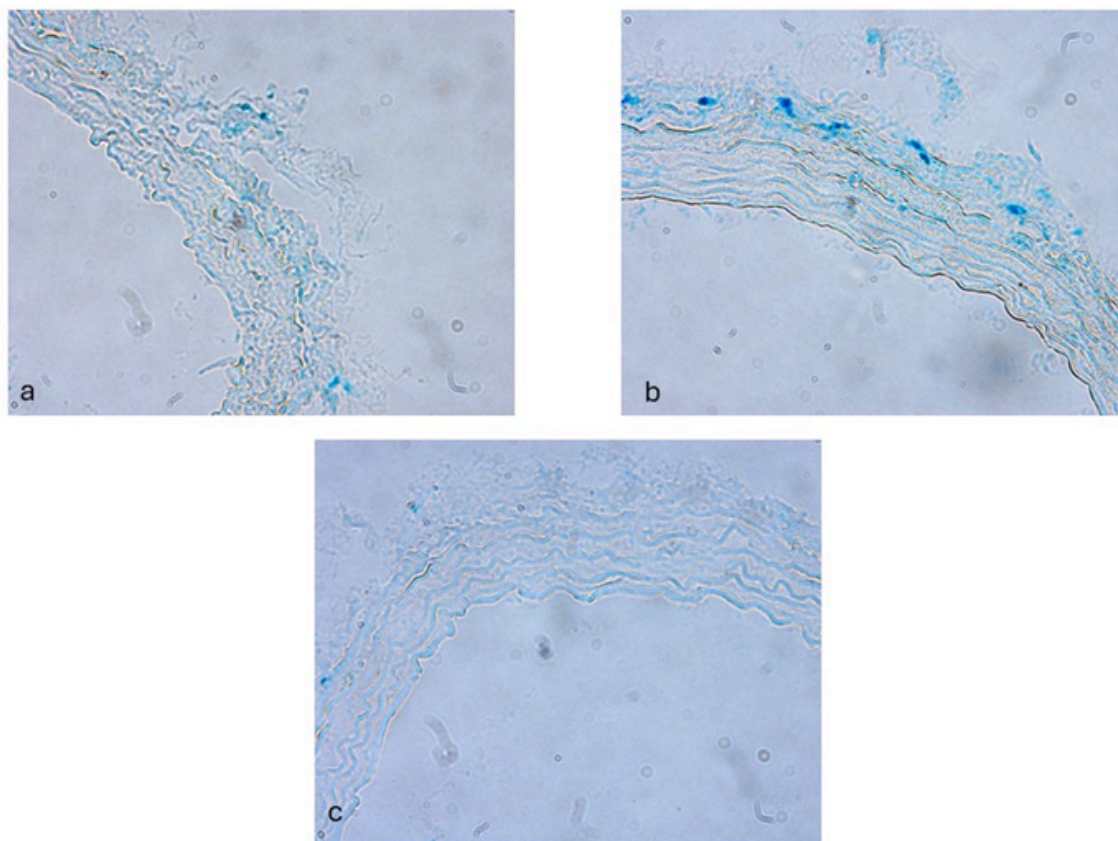
Medida do peso corporal em relação ao tempo (semanas) dos diferentes grupos experimentais, durante o tratamento por oito semanas. Grupos: CTL (n = 6; ●); DGAL (n = 6; ■); DGAL + LEHST-100 (n = 5; Δ). Os resultados estão expressos como média ± e.p.m.

Fonte: Elaboração Própria, 2025.

## 5.2 Efeitos do tratamento com LEHST sobre a senescência vascular

A análise da atividade da enzima SA- $\beta$ -galactosidase em cortes de artéria mesentérica confirmou a eficácia do modelo e do tratamento em nível celular (Figura 7). O aumento significativo da marcação positiva no grupo DGAL, em comparação ao CTL, evidencia o acúmulo de células senescentes na parede vascular. O tratamento com LEHST100, por sua vez, promoveu uma redução nessa coloração, indicando uma mitigação do processo de senescência.

**Figura 7** - Registros representativos da avaliação da senescência



Imagens representativas da atividade de SA- $\beta$ -galactosidase em artéria mesentérica superior de animais tratados. Grupos: CTL (a); DGAL (b); DGAL + LEHST100 (c).  
Fonte: Elaboração Própria, 2025.

Este resultado é um pilar central para a compreensão dos dados de reatividade vascular que serão discutidos adiante. A senescência vascular não é apenas um marcador de idade, mas um estado funcional que promove um fenótipo secretor pró-inflamatório e pró-oxidante, comprometendo diretamente a homeostase endotelial (Jia *et al.*, 2019; Oliveira *et al.*, 2022). Ao reduzir a carga de células senescentes, o LEHST provavelmente preserva a sinalização molecular necessária para o relaxamento vascular, mostrando a sua eficiência na manutenção da integridade vascular.

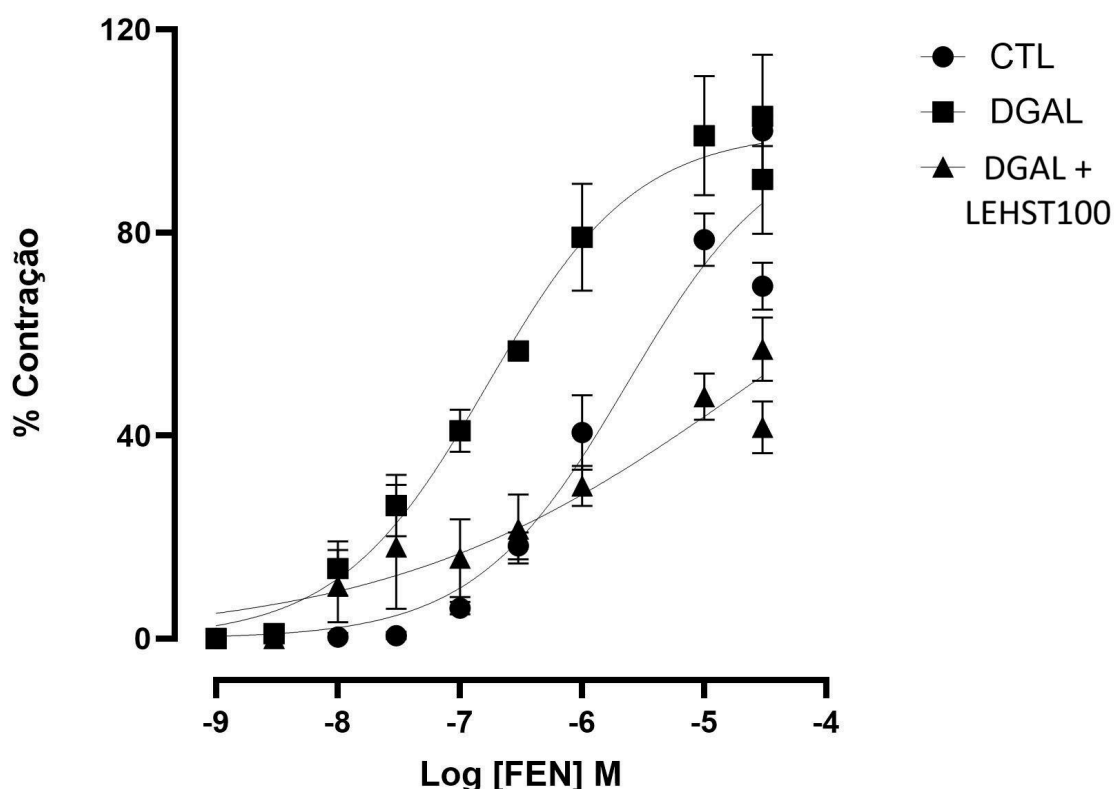
### **5.3 Efeito contrátil de FEN em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento**

Os ensaios farmacológicos em artéria mesentérica isolada forneceram evidências sobre a melhora funcional promovida pelo LEHST. A adição de FEN ( $10^{-9}$  –  $3 \times 10^{-4}$  M) revelou que o grupo DGAL ( $E_{\text{máx}} = 102,8 \pm 12,1\%$ ,  $pD_2 = 6,97 \pm 0,5$ ;  $n = 4$ ) apresentou um perfil de

hiper-reatividade contrátil, com a curva deslocada à esquerda em relação ao grupo CTL (Em<sub>áx</sub> = 100,00 ± 2,9%; pD<sub>2</sub> = 5,79 ± 0,5; n = 5) apresentando uma maior potência no efeito contrátil (Figura 8). Esse comportamento é característico do envelhecimento vascular, possivelmente associado ao aumento de espécies reativas de oxigênio (EROs) e a consequente redução da biodisponibilidade do NO, alterações que comprometem a homeostase do tônus do músculo liso vascular (De Almeida *et al.*, 2020).

Contudo, o achado mais significativo foi a resposta do grupo DGAL + LEHST100 (Em<sub>áx</sub> = 57,0 ± 6,2%, n = 4), que exibiu uma redução acentuada da eficácia contrátil induzida por FEN em comparação ao grupo DGAL. Esse efeito sugere que o extrato modula negativamente a reatividade vascular adrenérgica, possivelmente ao interferir nas vias de acoplamento excitação-contração, agindo como um agente protetor contra o aumento do tônus vascular observado no envelhecimento.

**Figura 8** - Curva concentração-resposta para a FEN em artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento



Curvas de concentração-resposta para FEN ( $10^{-8}$  –  $3 \times 10^{-4}$ M), em artéria mesentérica superior, dos diferentes grupos experimentais, após tratamento. Grupos: CTL (n = 5; ●); DGAL (n = 4; ■); DGAL + LEHST100 (n = 4; ▲). Os resultados estão expressos como média ± e.p.m. Os dados foram analisados utilizando o teste estatístico ANOVA *two-way*, seguido do pós-teste de Dunnett.

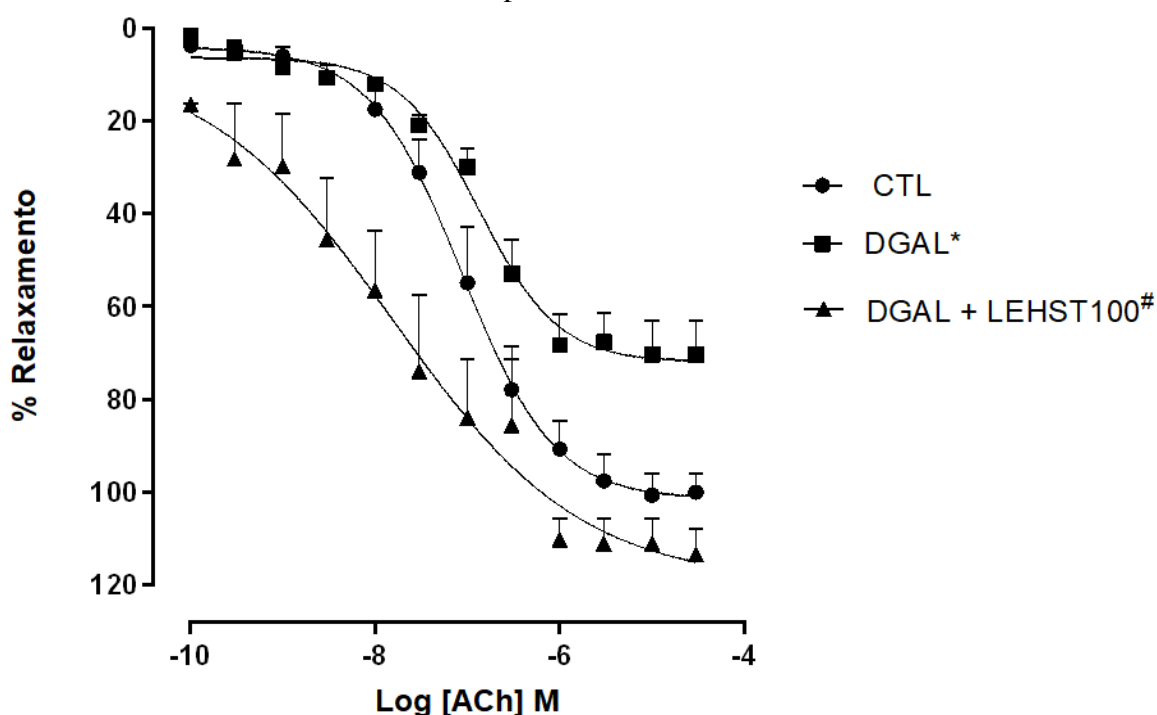
Fonte: Elaboração Própria, 2025.

#### 5.4 Efeito relaxante de ACh em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento

A avaliação da função endotelial por meio das curvas de ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-4}$ M) revelou um prejuízo significativo no grupo DGAL ( $Emáx = 74,55 \pm 7,6\%$ ;  $n = 4$ ) quando comparado ao grupo CTL ( $Emáx = 106,0 \pm 4,2\%$ ;  $n = 5$ ) (Figura 9). Este resultado constitui um marcador clássico de disfunção endotelial, onde o envelhecimento experimental compromete a capacidade de relaxamento mediada pela liberação de fatores relaxantes derivados do endotélio.

Por outro lado, o tratamento com o extrato foi capaz de reverter completamente esse dano funcional. O grupo DGAL + LEHST100 ( $Emáx = 120,2 \pm 5,6\%$ ;  $n = 4$ ) apresentou um relaxamento máximo de valor significativamente superior ao grupo DGAL e estatisticamente semelhante ao grupo CTL ( $p > 0,05$ ). Esse achado sugere que o LEHST exerce um efeito vasoprotetor, possivelmente preservando a integridade do endotélio ou estimulando a via do NO, o que restaura a capacidade de relaxamento da artéria mesentérica.

**Figura 9** - Curva concentração-resposta para a ACh em artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento



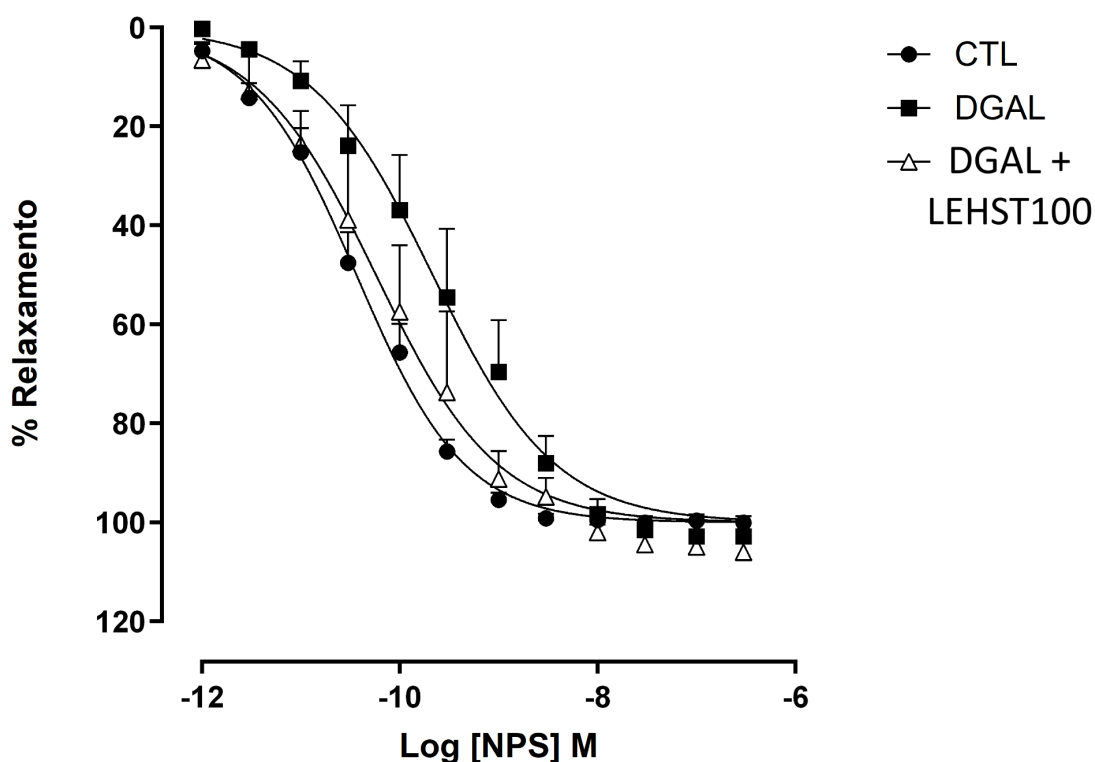
Curvas de concentração-resposta para ACh ( $10^{-10}$  –  $10^{-4}$ M), em anéis de artéria mesentérica superior, dos diferentes grupos experimentais, após tratamento. Grupos: CTL ( $n = 5$ ; ●); DGAL ( $n = 4$ ; ■); DGAL +

LEHST100 (n= 4;  $\Delta$ ). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. Os dados foram analisados utilizando o teste estatístico ANOVA *two way*, seguido do pós-teste de Dunnett. \*p < 0,05 vs CTL; #p < 0,05 vs DGAL.  
Fonte: Elaboração Própria, 2025.

### 5.5 Efeito relaxante de NPS em anéis de artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento

Para elucidar se esse benefício era específico da camada endotelial, utilizou-se o NPS, um doador direto de NO que induz o relaxamento do músculo liso independente do endotélio. A resposta ao NPS não resultou em diferença significativa no efeito máximo entre os grupos (p > 0,05) (Figura 10).

**Figura 10** - Curva concentração-resposta para a NPS em artéria mesentérica superior isolada de ratos após tratamento



Curvas de concentração-resposta para NPS ( $10^{-13}$  –  $3 \times 10^{-5}$  M), em anéis de artéria mesentérica superior, dos diferentes grupos experimentais, após tratamento. Grupos: CTL (n = 5;  $\bullet$ ); DGAL (n = 4;  $\blacksquare$ ); DGAL + LEHST100 (n = 5;  $\Delta$ ). Os resultados estão expressos como média  $\pm$  e.p.m. Os dados foram analisados utilizando o teste estatístico ANOVA *two way*, seguido do pós-teste de Dunnett. \*p < 0,05 vs CTL; #p < 0,05 vs DGAL.  
Fonte: Elaboração Própria, 2025.

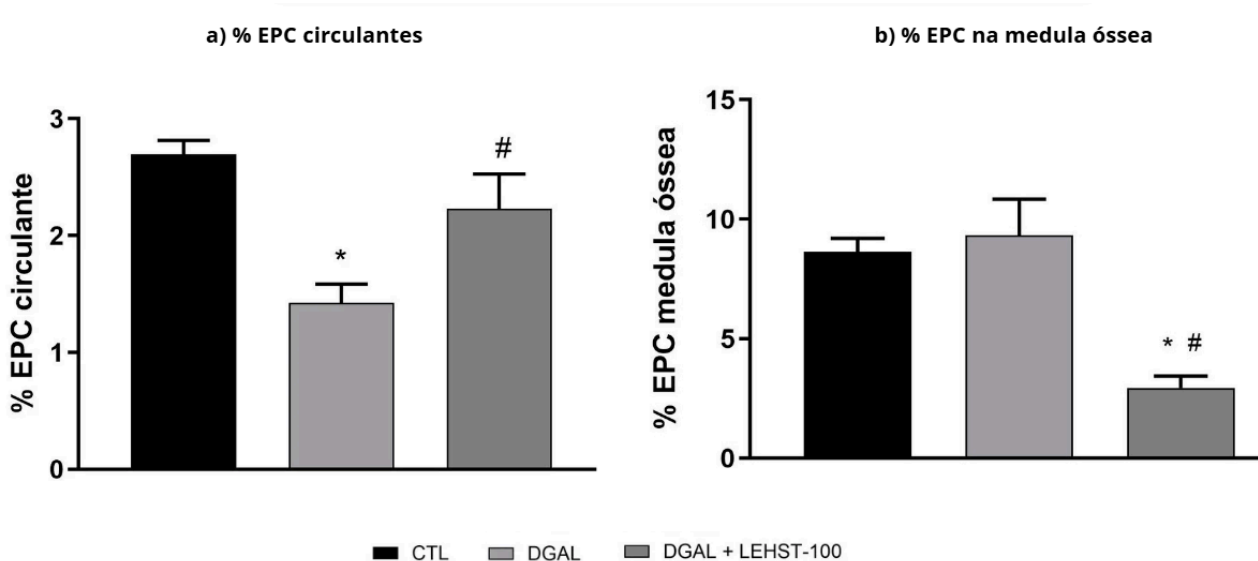
A preservação da eficácia relaxante máxima em todos os grupos indica que a maquinaria bioquímica da musculatura lisa vascular permanece funcional. Dessa forma, a capacidade do LEHST100 em normalizar e potencializar a resposta à Ach confirma que seu

efeito benéfico é predominantemente endotélio-dependente. O extrato atua na preservação da saúde das células endoteliais e na otimização da biodisponibilidade de NO, combatendo a disfunção vascular de forma localizada e eficaz, sem alterar a capacidade relaxante do músculo liso subjacente.

### 5.6 Impacto do envelhecimento induzido por D-galactose e do tratamento com LEHST na disponibilidade e mobilização de EPCs

A análise da disponibilidade de células progenitoras endoteliais (EPCs) revelou que o envelhecimento e o tratamento com o extrato de *Spondias tuberosa* Arruda exercem efeitos opostos e compartimentados entre a circulação e o nicho de origem celular (Figura 11).

**Figura 11** - Quantificação e caracterização de EPCs nos compartimentos periférico e medular



Quantificação e caracterização de células progenitoras endoteliais (EPCs) nos compartimentos periférico e medular. Os níveis de EPCs foram determinados por citometria de fluxo e expressos pela porcentagem de células  $CD34^+/CD133^+/VEGFR2^+/\$$  em relação ao total de células mononucleares no (A) sangue periférico e na (B) medula óssea. Os dados estão apresentados são expressos como média  $\pm$  e.p.m. O teste ANOVA foi utilizado para a análise estatística, seguido do pós-teste de Tukey. \*p < 0,05 vs CTL; #p < 0,05 vs DGAL.

Fonte: Elaboração Própria, 2025.

Diferente do observado na medula, a quantificação de EPCs no sangue periférico revelou o impacto funcional direto do envelhecimento e a eficácia do extrato. O grupo DGAL exibiu uma redução acentuada nos níveis de EPCs circulantes ( $1,4 \pm 0,1$ , n = 4) em relação ao CTL ( $2,7 \pm 0,1$ , n = 3), evidenciando que a senescência induzida compromete a disponibilidade dessas células no sistema circulatório (Figura 11A).

Em contrapartida, o tratamento com LEHST100 foi capaz de reverter esse quadro, elevando os níveis de EPCs periféricas para  $2,2 \pm 0,2$ , ( $n = 3$ ), valor significativamente superior ao grupo DGAL ( $p < 0,05$ ) e semelhante ao grupo controle. Este aumento da oferta de progenitores na circulação é um passo fundamental para a reparação vascular, uma vez que estas células são recrutadas para sítios de disfunção endotelial para promover a re-endotelização (Rurali *et al.*, 2016).

Para investigar a origem deste aumento na circulação, analisou-se o compartimento medular. Os resultados demonstraram que o envelhecimento isolado não extingue o estoque de progenitores, uma vez que o DGAL manteve níveis de EPCs na medula ( $9,35 \pm 1,4$ ,  $n = 4$ ) semelhantes ao CTL ( $8,26 \pm 0,05$ ,  $n = 4$ ). Isso sugere que a redução periférica observada na D-galactose decorre de uma falha na mobilização e não na produção dessas células (Figura 11B).

Notavelmente, o grupo tratado com com LEHST100 promoveu uma redução significativa nesses níveis ( $2,9 \pm 0,4$ ,  $n = 3$ ) em comparação aos grupos CTL e DGAL ( $p < 0,05$ ).com LEHST100 promoveu uma redução significativa nesses níveis ( $2,9 \pm 0,4$ ,  $n = 3$ ) em comparação aos grupos CTL e DGAL ( $p < 0,05$ ). A análise da medula óssea permitiu investigar o impacto do envelhecimento e do tratamento sobre o nicho de origem das EPCs, identificadas pela expressão dos marcadores CD34+/CD133+/VEGFR-2+. Os resultados demonstraram que os níveis de EPCs na medula apresentaram-se semelhantes entre o grupo CTL ( $8,26 \pm 0,05$ ,  $n = 4$ ) e o grupo envelhecido DGAL ( $9,35 \pm 1,4$ ,  $n = 4$ ) (Figura 11B).

Este fenômeno de retenção celular no nicho medular é frequentemente associado a alterações no microambiente estromal induzidas pelo estresse oxidativo (Canjuga *et al.*, 2022). No envelhecimento, o desequilíbrio do eixo quimiotático SDF-1/CXCR4 pode atuar promovendo o retenção celular no nicho medular, impedindo que as EPCs detectem os sinais de recrutamento periférico. (Schröder-Heurich; Beckmann; Versen-Höyneck, 2025). A manutenção do estoque medular no grupo DGAL, concomitante à escassez circulatória, reforça a hipótese de que a senescência acelerada compromete o gatilho de liberação celular, e não a mielopoese em si.

Essa inversão de perfil, menor densidade na medula e maior no sangue consolida o LEHST como um agente mobilizador de EPCs. Enquanto o envelhecimento parece "aprisionar" as células na medula, o tratamento estimula sua liberação para o sistema circulatório. Este mecanismo é crucial, pois a restauração da população de EPCs circulantes

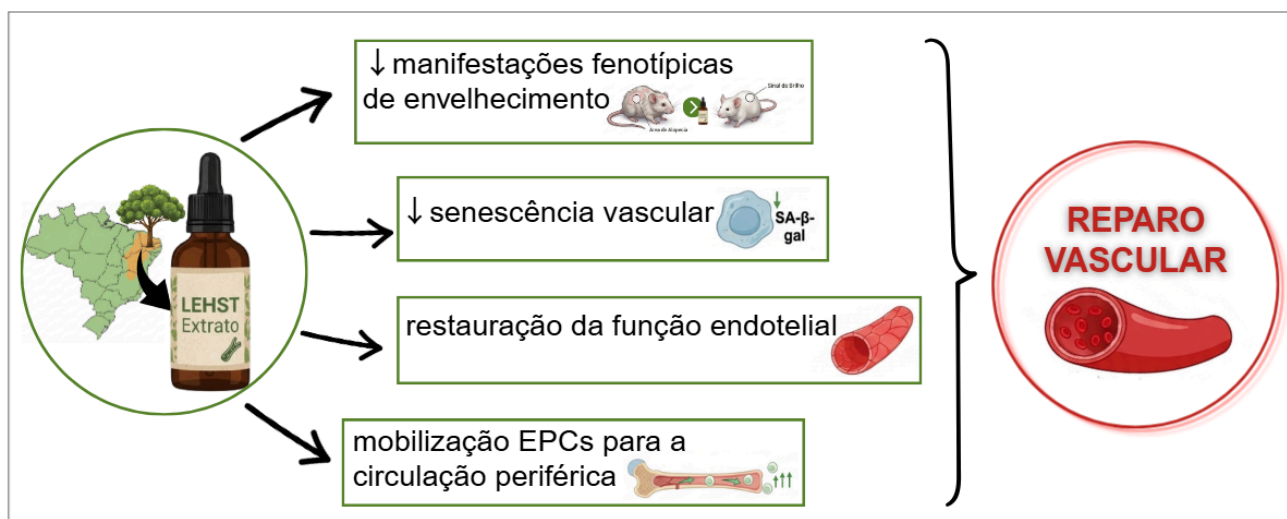
disponibiliza os elementos necessários para mitigar a senescência e a disfunção endotelial, justificando a recuperação funcional observada nos ensaios de reatividade vascular.

## 6 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os resultados do presente estudo demonstram de forma consistente que o liofilizado do extrato hidroalcoólico da casca de *Spondias tuberosa* Arruda (LEHST) exerce efeitos benéficos significativos na função vascular e na mobilização de células progenitoras endoteliais (EPCs) em um modelo de envelhecimento acelerado por D-galactose (Figura 12). Evidenciou-se que o tratamento com o extrato foi capaz de reverter os sinais fenotípicos de senescência, como as alterações na qualidade da pelagem, sem promover modificações no ganho de peso corporal, o que sugere uma boa tolerabilidade sistêmica à dose administrada.

Além disso, o LEHST demonstrou potencial regenerativo ao favorecer a mobilização de EPCs para a circulação periférica, contribuindo para o reparo vascular. Em conjunto, os achados indicam que o extrato atua de forma multifatorial, reduzindo a senescência, melhorando a homeostase vascular e estimulando mecanismos de regeneração endotelial, configurando-se como um promissor candidato para continuidade de estudos pré-clínicos voltados ao envelhecimento vascular. Adicionalmente, destaca-se a importância de *Spondias tuberosa* para o semiárido brasileiro, cujo potencial científico pode impulsionar tanto a descoberta de novos compostos bioativos quanto o desenvolvimento socioeconômico regional.

**Figura 12** - Efeitos do LEHST no modelo de envelhecimento induzido por D-galactosidase



Fonte: Elaboração própria utilizando IA Nano Banana, 2026.

## REFERÊNCIAS

AIRD, W. C. Phenotypic heterogeneity of the endothelium: I. Structure, function, and mechanisms. **Circulation Research**, [s. l.], v. 100, n. 2, p. 158-173, 2007. DOI: 10.1161/01.RES.0000255691.76142.4a. Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/01.res.0000255691.76142.4a>. Acesso em: 03 jan. 2026.

AICHER, A.; ZEIHNER, A. M.; DIMMELER, S. Mobilizing Endothelial Progenitor Cells. **Hypertension**, [S. l.], v. 45, n. 3, p. 321-325, 200534. DOI: <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000154789.28695.ea>. Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/epub/10.1161/01.HYP.0000154789.28695.ea>. Acesso em: 1 mar. 2026.

AKHIYAT, N. *et al.* Endothelial dysfunction as a feature of vascular aging. **European Journal of Preventive Cardiology**, Oxford, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1093/eurjpc/zwaf544>. Disponível em: <https://academic.oup.com/eurjpc/advance-article/doi/10.1093/eurjpc/zwaf544/8280198>. Acesso em: 22 fev. 2026.

ALEXANDER, Y. *et al.* Endothelial function in cardiovascular medicine: a consensus paper of the European Society of Cardiology Working Groups on Atherosclerosis and Vascular Biology, Aorta and Peripheral Vascular Diseases, Coronary Pathophysiology and Microcirculation, and Thrombosis. **Cardiovascular Research**, [s. l.], v. 117, n. 1, p. 29-42, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1093/cvr/cvaa085>. Disponível em: <https://academic.oup.com/cardiovascres/article/117/1/29/5819549>. Acesso em: 7 fev. 2026.

ALTURA, B. M.; ALTURA, B. T. Differential effects of substrate depletion on drug-induced contractions of rabbit aorta. **Am J Physiol**, [s. l.], v. 219, n. 6, p. 1698-705, dez. 1970. DOI: 10.1152/ajplegacy.1970.219.6.1698. Disponível em: <https://journals.physiology.org/doi/abs/10.1152/ajplegacy.1970.219.6.1698>. Acesso em: 15 fev. 2026.

ARAÚJO, K. T. A. *et al.* Cinética de secagem e determinação do coeficiente de difusão efetivo das polpas de noni e umbu. **Research, Society and Development**, [s. l.], v. 10, n. 4, e46710413985, 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13985>. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i4.13985>. Acesso em: 26 mar. 2026.

ASAHARA, T. *et al.* Isolation of putative progenitor endothelial cells for angiogenesis. **Science**, [s. l.], v. 275, n. 5302, p. 964-967, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.275.5302.964>. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.275.5302.964>. Acesso em: 01 fev. 2026.

AUGUSTIN, H. G.; KOH, G. Y. Organotypic vasculature: from descriptive heterogeneity to functional pathophysiology. **Science**, [s. l.], v. 357, n. 6353, p. eaa 12379, 2017. DOI: 10.1126/science.aal2379. Disponível em: <https://www.science.org/doi/10.1126/science.aal2379>. Acesso em: 29 jan. 2026.

AUGUSTIN, H. G.; KOH, G. Y. A systems view of the vascular endothelium in health and disease. **Cell**, [s. l.], v. 187, n. 18, p. 4833-4858, 5 set. 2024. DOI: 10.1016/j.cell.2024.07.012. Disponível em:

[https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674\(24\)00772-4?\\_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867424007724%3Fshowall%3Dtrue#fig1](https://www.cell.com/cell/fulltext/S0092-8674(24)00772-4?_returnURL=https%3A%2F%2Flinkinghub.elsevier.com%2Fretrieve%2Fpii%2FS0092867424007724%3Fshowall%3Dtrue#fig1). Acesso em: 03 jan. 2026.

AZMAN, K. F.; ZAKARIA, R. D-Galactose-induced accelerated aging model: an overview. **Biogerontology**, [s. l.], v. 20, n. 6, p. 763-782, 2019. DOI: 10.1007/s10522-019-09837-y.

Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10522-019-09837-y>. Acesso em: 01 mar. 2026.

BALCILAR, C.; ÖZAKCA, I.; ALTAN, V. M. Contribution of Rho-kinase and adenosine monophosphate-activated protein kinase signaling pathways to endothelium-derived contracting factors responses. **Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences**, [s. l.], v. 18, n. 4, p. 612-621, 2017. DOI: 10.4274/tjps.26349. Disponível em:

<https://turkjps.org/articles/doi/tjps.26349>. Acesso em: 31 jan. 2026.

BAUER, V.; SOTNÍKOVÁ, R. Nitric oxide – the endothelium-derived relaxing factor and its role in endothelial functions. **General Physiology and Biophysics**, [s. l.], v. 29, n. 4, p. 319-340, 2010. DOI: 10.4149/gpb\_2010\_04\_319. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/49682372\\_Nitric\\_oxide\\_-\\_The\\_endothelium-derived\\_relaxing\\_factor\\_and\\_its\\_role\\_in\\_endothelial\\_functions](https://www.researchgate.net/publication/49682372_Nitric_oxide_-_The_endothelium-derived_relaxing_factor_and_its_role_in_endothelial_functions). Acesso em: 29 jan. 2026.

BARBOSA, T. N. R. M.; FERNANDES, D. C. Compostos bioativos e doenças cardiovasculares: revisando as evidências científicas. *estudos*, Goiânia, v. 41, n. 2, p. 181-192, abr./jun. 2014. Disponível

em: <https://seer.pucgoias.edu.br/index.php/estudos/article/view/3376>. Acesso em: 18 fev. 2026.

BEREZIN, A. E. The endothelial progenitor cell dysfunction in hypertension: the diagnostic and predictive values. **Vessel Plus**, [S.l.], v. 2, n. 22, set. 201834. DOI:

10.20517/2574-1209.2018.23. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/327633062\\_The\\_endothelial\\_progenitor\\_cell\\_dysfunction\\_in\\_hypertension\\_the\\_diagnostic\\_and\\_predictive\\_values](https://www.researchgate.net/publication/327633062_The_endothelial_progenitor_cell_dysfunction_in_hypertension_the_diagnostic_and_predictive_values). Acesso em: 1 mar. 2026.

BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Resolução RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004**. Dispõe sobre Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação. Brasília, DF: Ministério da Saúde, 2004. Disponível em:

[https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216\\_15\\_09\\_2004.html](https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2004/res0216_15_09_2004.html). Acesso em: 27 fev. 2026.

CANJUGA, D. *et al.* Homing of mRNA-modified endothelial progenitor cells to inflamed endothelium. **Pharmaceutics**, [s. l.], v. 14, n. 6, p. 1194, 2022. DOI:

<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14061194>. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/1999-4923/14/6/1194>. Acesso em: 27 fev. 2026.

CASTELA, A. *et al.* Vasculogenesis and Diabetic Erectile Dysfunction: How Relevant Is Glycemic Control? **Journal of Cellular Biochemistry**, [s. l.], v. 118, n. 1, p. 82-91, jan.

2017. DOI: DOI: 10.1002/jcb.25613. Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jcb.25613>. Acesso em: 03 mar. 2026.

CONRADO, G. G. *et al.* Building Natural Product–Based Libraries for Drug Discovery: Challenges and Opportunities from a Brazilian Pharmaceutical Industry Perspective. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, [s. l.], v. 34, p. 706-721, 2024. DOI:  
<https://doi.org/10.1007/s43450-024-00540-9>. Disponível em:  
<https://link.springer.com/article/10.1007/s43450-024-00540-9>. Acesso em: 17 fev. 2026.

CYR, A. R. *et al.* Nitric oxide and endothelial dysfunction. **Critical Care Clinics**, [s. l.], v. 36, n. 2, p. 307–321, abr. 2020. DOI: 10.1016/j.ccc.2019.12.009. Disponível em:  
[https://www.criticalcare.theclinics.com/article/S0749-0704\(19\)30104-6/abstract](https://www.criticalcare.theclinics.com/article/S0749-0704(19)30104-6/abstract). Acesso em: 28 jan. 2026.

DA COSTA CORDEIRO, B. M. P. *et al.* Hexane extract from *Spondias tuberosa* (Anacardiaceae) leaves has antioxidant activity and is an anti-*Candida* agent by causing mitochondrial and lysosomal damages. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [s. l.], v. 18, p. 284, 2018. DOI: 10.1186/s12906-018-2350-2. Disponível em:  
<https://link.springer.com/article/10.1186/s12906-018-2350-2>. Acesso em: 12 fev. 2026.

DANTAS, S. H. *et al.* Evaluation of Cardiovascular Effects of Carvacrol in a D-(+)-Galactose-Induced aging Model. **Journal of Applied Life Sciences International**, [s. l.], v. 25, n. 6, p. 18-27, 2022. DOI: 10.9734/jalsi/2022/v25i6581. Disponível em:  
<https://journaljalsi.com/index.php/JALSI/article/view/581>. Acesso em: 5 jan. 2026.

DE ALMEIDA, A. J. P. O. *et al.* Unveiling the Role of Inflammation and Oxidative Stress on Age-Related Cardiovascular Diseases. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2020, p. 1954398, 9 maio 2020. DOI:10.1155/2020/1954398 . Disponível em:  
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2020/1954398>. Acesso em: 01 out. 2025.

DESJARDINS, F.; BALLIGAND, J. L. Nitric oxide-dependent endothelial function and cardiovascular disease. **Acta Clinica Belgica**, [s. l.], v. 61, n. 6, p. 326–334, 2006. DOI: 10.1179/acb.2006.052. Disponível em:  
<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1179/acb.2006.052>. Acesso em: 26 jan. 2026.

DONATO, A. J.; MACHIN, D. R.; LESNIEWSKI, L. A. Mechanisms of dysfunction in the aging vasculature and role in age-related disease. **Circulation Research**, Dallas, v. 123, n. 7, p. 825–848, 2018. DOI: 10.1161/CIRCRESAHA.118.312563. Disponível em:  
<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.118.312563>. Acesso em: 20 fev. 2026.

EVANS, C. E.; IRUELA-ARISPE, M. L.; ZHAO, Y. Y. Mechanisms of Endothelial Regeneration and Vascular Repair and Their Application to Regenerative Medicine. **American Journal of Pathology**, [s. l.], v. 191, n. 1, p. 52–65, 2021. DOI: 10.1016/j.ajpath.2020.10.001. Disponível em:  
[https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440\(20\)30455-7/fulltext](https://ajp.amjpathol.org/article/S0002-9440(20)30455-7/fulltext). Acesso em: 26 jan. 2026.

FRANÇA, C. N. *et al.* Micropartículas e células progenitoras: novos marcadores da disfunção endotelial. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**, [s. l.], v. 23, n. 4, p. 33-39, 2013. Disponível em:

[https://www.researchgate.net/publication/260990927\\_Microparticulas\\_e\\_celulas\\_progenitoras\\_novos\\_marcadores\\_da\\_disfuncao\\_endotelial](https://www.researchgate.net/publication/260990927_Microparticulas_e_celulas_progenitoras_novos_marcadores_da_disfuncao_endotelial). Acesso em: 14 ago. 2025.

FEITOSA, B. F. *et al.* Cinética de secagem dos resíduos da agroindústria processadora de polpa de frutas. **Energia na Agricultura**, Botucatu, v. 34, n. 1, p. 134-141, jan./mar. 2019.

DOI: <http://dx.doi.org/10.17224/EnergAgric.2019v34n1p134-141>. Disponível em:

<http://dx.doi.org/10.17224/EnergAgric.2019v34n1p134-141>. Acesso em: 10 mar. 2026.

FURCHGOTT, R. F.; ZAWADZKI, J. V. The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine. **Nature**, London, v. 288, n. 5789, p. 373-376, 1980. DOI: 10.1038/288373a0. Disponível em:

<https://www.nature.com/articles/288373a0>. Acesso em: 22 fev. 2026.

GIMBRONE JR., M. A.; GARCÍA-CARDEÑA, G. Endothelial cell dysfunction and the pathobiology of atherosclerosis. **Circulation Research**, [s. l.], v. 118, n. 4, p. 620-636, 2016.

DOI: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306301>. Disponível em:

<https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/CIRCRESAHA.115.306301>. Acesso em: 29 jan. 2026.

JANASZAK-JASIECKA, A.; PŁOSKA, A.; KALINOWSKI, L. Disfunção endotelial devido ao desacoplamento da eNOS: mecanismos moleculares como potenciais alvos terapêuticos.

**Cell Communication and Signaling**, [s. l.], v. 21, n. 1, art. 114, 2023. DOI:

<https://doi.org/10.1186/s11658-023-00423-2>. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1186/s11658-023-00423-2>. Acesso em: 7 fev. 2026.

JIA, G. *et al.* Endothelial cell senescence in aging-related vascular dysfunction. **Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis**, [s. l.], v. 1865, n. 7, p. 1802-1809, jul. 2019. DOI:

10.1016/j.bbadis.2018.08.008. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S092544391830293X?via%3Dihub>. Acesso em: 25 out. 2026.

KHAVINSON, V. *et al.* Senescence-associated secretory phenotype of cardiovascular system cells and inflammaging: perspectives of peptide regulation. **Cells**, Basel, v. 12, n. 1, p. 106,

2023. DOI: 10.3390/cells12010106. Disponível em:

<https://www.mdpi.com/2073-4409/12/1/106>. Acesso em: 29 fev. 2026.

KONUKOGLU, D.; UZUN, H. Endothelial dysfunction and hypertension. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, Cham, v. 956, p. 511-540, 2017. DOI:

10.1007/5584\_2016\_90. Disponível em:

[https://link.springer.com/chapter/10.1007/5584\\_2016\\_90](https://link.springer.com/chapter/10.1007/5584_2016_90). Acesso em: 1 fev. 2026.

KRÜGER-GENGE, A. *et al.* Vascular endothelial cell biology: an update. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 20, n. 18, p. 4411, 7 set. 2019. DOI:

10.3390/ijms20184411. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/20/18/4411>.

Acesso em: 31 jan. 2026.

KUNDU, N. *et al.* Use of p53-Silenced Endothelial Progenitor Cells to Treat Ischemia in Diabetic Peripheral Vascular Disease. **J Am Heart Assoc**, [s. l.], v. 6, n. 4, p. e005146, abr. 2017. DOI: 10.1161/JAHA.116.005146. Disponível em: <https://www.ahajournals.org/doi/10.1161/JAHA.116.005146> Acesso em: 2 jan. 2026.

LAURINDO, F. R. M. *et al.* Endothelium-Dependent Vasodilation: Nitric Oxide and Other Mediators. In: **Endothelium and Cardiovascular Diseases: Vascular Biology and Clinical Syndromes**. [s. l.]: Academic Press, 2018. p. 97-113. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812348-5.00008-8>. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/chapter/edited-volume/abs/pii/B9780128123485000088>. Acesso em: 29 jan. 2026.

LI, J. H. *et al.* Role of stromal cell-derived factor-1 in endothelial progenitor cell-mediated vascular repair and regeneration. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, [s. l.], v. 18, n. 5, p. 747–758, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13770-021-00366-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13770-021-00366-9>. Acesso em: 1 fev. 2026.

MACHHOLZ, E. *et al.* Manual Restraint and Common Compound Administration Routes in Mice and Rats. **JoVE Journal**, [s. l.], 26 set. 2012. DOI: 10.3791/2771. Disponível em: <https://doi.org/10.3791/2771>. Acesso em: 20 fev. 2026.

MORRONE, D. *et al.* Endothelial Progenitor Cells: An Appraisal of Relevant Data from Bench to Bedside. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 23, p. 12874, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms222312874>. Disponível em: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC8657735/>. Acesso em: 1 mar. 2026.

NAPPI, F. *et al.* Endothelium-Derived Relaxing Factors and Endothelial Function: a systematic review. **Biomedicines**, Basileia, v. 10, n. 11, p. 2884, 10 nov. 2022. DOI: 10.3390/biomedicines10112884. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/biomedicines10112884>. Acesso em: 5 mar. 2026.

OLIVEIRA, A. C. *et al.* Envelhecimento Vascular e Rigidez Arterial. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 119, p. 604-615, 2022. DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20210708>. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/abc/a/rHfw5Mt6ZmjGdWQdST86WQx/?lang=pt>. Acesso em: 2 fev. 2026.

ONU NEWS. Expectativa de vida global sobe e o mundo terá mais idosos que crianças em 2080. **ONU News**, Nova York, 18 out. 2025. Disponível em: <https://news.un.org>. Acesso em: 5 mar. 2026.

ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE. **Doenças cardiovasculares**. [s. l.], [s. d.]. Disponível em: <https://www.paho.org/pt/topicos/doencas-cardiovasculares>. Acesso em: 5 mar. 2026.

PALMER, R. M. J.; FERRIGE, A. G.; MONCADA, S. Nitric oxide release accounts for the biological activity of endothelium-derived relaxing factor. **Nature**, London, v. 327, n. 6122, p. 524–526, 1987. DOI: 10.1038/327524a0. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/327524a0>. Acesso em: 25 fev. 2026.

PEYTER, A. C. *et al.* Endothelial progenitor cells dysfunctions and cardiometabolic disorders: from mechanisms to therapeutic approaches. **International Journal of Molecular Sciences**, Basileia, v. 22, n. 13, p. 6667, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22136667>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/13/6667>. Acesso em: 16 fev. 2026.

PLUTA, W.; LUBKOWSKA, A.; DUDZIŃSKA, W. Vascular endothelium in health and disease: structure, function, assessment and role in metabolic disorders. **Vascular Health and Risk Management**, [s. l.], v. 21, p. 729-747, 2025. DOI: 10.2147/VHRM.S519426.

Disponível em:

<https://www.dovepress.com/vascular-endothelium-in-health-and-disease-structure-function-assessment-peer-reviewed-fulltext-article-VHRM>. Acesso em: 29 jan. 2026.

RAJ, V. *et al.* Avaliação da Senescência de Células Sanguíneas Mononucleares Periféricas e na Disfunção Endotelial entre Adultos com Alto Risco Cardiovascular. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, [s. l.], v. 116, p. 37-47, 2021. DOI: 10.36660/abc.20190409. Disponível em: <http://abccardiol.org/article/avaliacao-da-senescencia-de-celulas-sanguineas-mononuclear-es-perifericas-e-na-disfuncao-endotelial-entre-adultos-com-alto-risco-cardiovascular/>. Acesso em: 20 jan. 2026.

RAMIREZ-VELANDIA, F. *et al.* Endothelial progenitor cells: a review of molecular mechanisms in the pathogenesis and endovascular treatment of intracranial aneurysms. **Neuromolecular Medicine**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 25, 2024. DOI:

<https://doi.org/10.1007/s12017-024-08791-4>. Disponível em:

<https://link.springer.com/article/10.1007/s12017-024-08791-4>. Acesso em: 12 fev. 2026.

RETHINESWARAN, V. K. *et al.* CHIR99021 Augmented the Function of Late Endothelial Progenitor Cells by Preventing Replicative Senescence. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 9, p. 4796, abr. 2021. DOI: 10.3390/ijms22094796. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/22/9/4796>. Acesso em: 1 mar. 2026.

ROSS, M. D. Endothelial regenerative capacity and aging: influence of diet, exercise and obesity. **Current Cardiology Reviews**, [s. l.], v. 14, n. 4, p. 233–244, 2018. DOI:

10.2174/1573403X14666180726112303. Disponível em:

<https://www.eurekaselect.com/article/91945>. Acesso em: 9 fev. 2026.

RURALI, E. *et al.* BM ageing: Implication for cell therapy with EPCs. **Mech Ageing Dev**, [s. l.], v. 159, p. 4–13, out. 2016. DOI: 10.1016/j.mad.2016.04.002. Disponível em:

<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0047637416300446?via%3Dihub>.

Acesso em: 4 jan. 2026.

SAAFAN, S. M. *et al.* Rutin attenuates D-galactose-induced oxidative stress in rats' brain and liver: molecular docking and experimental approaches. **Food & Function**, [s. l.], v. 14, p. 5728–5751, 2023. DOI: 10.1039/D2FO03301A. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2023/fo/d2fo03301a>. Acesso em: 3 mar. 2026.

SCHRÖDER-HEURICH, B.; BECKMANN, J.; VON VERSEN-HÖYNCK, F. Endothelial progenitor cells in life, pregnancy and disease. **Expert Reviews in Molecular Medicine**, [s.

l.], v. 27, e4, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1017/erm.2025.10015>. Disponível em: <https://www.cambridge.org/core/journals/expert-reviews-in-molecular-medicine/article/endothelial-progenitor-cells-in-life-pregnancy-and-disease/AE02CF7CF5F656F6DAC5597702E3ED0D>. Acesso em: 9 fev. 2026.

SIQUEIRA, E. M. S. *et al.* Spondias tuberosa (Anacardiaceae) leaves: profiling phenolic compounds by HPLC-DAD and LC-MS/MS and in vivo anti-inflammatory activity. **Biomedical Chromatography**, [s. l.], v. 30, n. 10, p. 1655-1671, 2016. DOI: 10.1002/bmc.3738. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/bmc.3738>. Acesso em: 17 fev. 2026.

SUN, R.; HUANG, J.; SUN, B. Mobilization of endothelial progenitor cells in sepsis. **Inflammation Research**, [s. l.], v. 69, n. 1, p. 1–9, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00011-019-01299-9>. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00011-019-01299-9>. Acesso em: 5 mar. 2026.

TKACZ, M. *et al.* Responses of Endothelial Progenitor Cells to Chronic and Acute Physical Activity in Healthy Individuals. **International Journal of Molecular Sciences**, Basileia, v. 25, n. 11, 6085, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms25116085>. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/25/11/6085>. Acesso em: 3 mar. 2026.1

UCHÔA, A. D. A. *et al.* Antioxidant activity and phytochemical profile of Spondias tuberosa Arruda leaves extracts. **American Journal of Plant Sciences**, [s. l.], v. 6, n. 19, p. 3038–3044, 2015. DOI: 10.4236/ajps.2015.619298. Disponível em: <https://www.scirp.org/journal/paperinformation?paperid=61748>. Acesso em: 18 fev. 2026.

WU, J. *et al.* Role of endothelial progenitor cells in vascular aging and age-related cardiovascular diseases. **Frontiers in Aging**, [s. l.], v. 6, 1721744, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3389/fragi.2025.1721744>. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/journals/aging/articles/10.3389/fragi.2025.1721744/full>. Acesso em: 3 fev. 2026.

XIA, L. Z. *et al.* Factors affecting the re-endothelialization of endothelial progenitor cell. **DNA and Cell Biology**, [s. l.], 2021. DOI: <https://doi.org/10.1089/dna.2021.0082>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1089/dna.2021.0082>. Acesso em: 9 fev. 2026.

YANG, J. X. *et al.* Endothelial progenitor cells in age-related vascular remodeling. **Experimental Biology and Medicine**, [s. l.], v. 243, n. 12, p. 986-997, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1177/0963689718779345>. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/0963689718779345>. Acesso em: 9 fev. 2026.

ZHOU, D. D. *et al.* Antioxidant food components for the prevention and treatment of cardiovascular diseases: effects, mechanisms, and clinical studies. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, [s. l.], v. 2021, art. 6627355, 17 p., 2021. DOI: 10.1155/2021/6627355. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1155/2021/6627355>. Acesso em: 26 fev. 2026

## ANEXO A - CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DA CEUA



Universidade  
Federal da  
Paraíba



Universidade Federal da Paraíba

Comissão de Ética no  
Uso de Animais

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "AVALIAÇÃO DO EFEITO DE Spondias tuberosa Arruda NA REGENERAÇÃO VASCULAR INDUZIDA POR CÉLULAS PROGENITORAS ENDOTELIAIS DE NO MODELO DE ENVELHECIMENTO INDUZIDO POR D-GALACTOSE ", protocolada sob o CEUA nº 2834150324 (ID 002159), sob a responsabilidade de **Isac Almeida de Medeiros e equipe; Tays Amanda Felisberto Gonçalves** - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica ou ensino - está de acordo com os preceitos da Lei 11.794 de 8 de outubro de 2008, com o Decreto 6.899 de 15 de julho de 2009, bem como com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi **APROVADA** pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal da Paraíba (CEUA/UFPB) na reunião de 10/05/2024.

We certify that the proposal "EVALUATION OF THE EFFECT OF Spondias tuberosa Arruda ON VASCULAR REGENERATION INDUCED BY ENDOTHELIAL PROGENITOR CELLS IN THE D-GALACTOSE INDUCED AGING MODEL", utilizing 132 Heterogenics rats (132 males), protocol number CEUA 2834150324 (ID 002159), under the responsibility of **Isac Almeida de Medeiros and team; Tays Amanda Felisberto Gonçalves** - which involves the production, maintenance and/or use of animals belonging to the phylum Chordata, subphylum Vertebrata (except human beings), for scientific research purposes or teaching - is in accordance with Law 11.794 of October 8, 2008, Decree 6899 of July 15, 2009, as well as with the rules issued by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA), and was **APPROVED** by the Ethic Committee on Animal Use of the Federal University of Paraíba (CEUA/UFPB) in the meeting of 05/10/2024.

Finalidade da Proposta: Pesquisa (Acadêmica)

Vigência da Proposta: de 05/2024 a 10/2025 Área: Ciências Farmacêuticas

Origem: Centro de Bioterismo da Universidade Estadual da Paraíba

Espécie: Ratos heterogênicos

sexo: Machos

idade: 6 a 10 semanas

Quantidade: 132

Linhagem: Rattus Norvegicus - Wistar

Peso: 200 a 350 g

João Pessoa, 16 de maio de 2024

Prof. Dr. Luiz Henrique César Vasconcelos  
Coordenador da Comissão de Ética no Uso de Animais  
Universidade Federal da Paraíba

Profa. Dra. Gláucia Veríssimo Faheina Martins  
Vice-Coordenadora da Comissão de Ética no Uso de  
Animais  
Universidade Federal da Paraíba

