



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDIABÉTICO DE *Parkinsonia aculeata* L.
(Caesalpiniaceae) EM RATOS *WISTAR* COM SÍNDROME METABÓLICA:
REPERCUSSÕES BIOQUÍMICAS E MOLECULARES**

Eryvelton de Souza Franco

RECIFE
2016

Eryvelton de Souza Franco

**AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDIABÉTICO DE *Parkinsonia aculeata* L.
(Caesalpinaceae) EM RATOS *WISTAR* COM SÍNDROME METABÓLICA:
REPERCUSSÕES BIOQUÍMICAS E MOLECULARES**

Tese de Doutorado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas do Centro de Ciências da Saúde da Universidade Federal de Pernambuco, para obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas.

Orientadora: Prof^a. Dr^a Maria Bernadete de Sousa Maia

Coorientadora: Prof^a Dr^a Márcia da Silva Nascimento

Coorientadora: Prof^a Dr^a Elizabeth Nascimento

**RECIFE
2016**

ERYVELTON DE SOUZA FRANCO

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIDIABÉTICO DE *Parkinsonia aculeata* L.
(Caesalpiniaceae) EM RATOS *WISTAR* COM SÍNDROME METABÓLICA:
REPERCUSSÕES BIOQUÍMICAS E MOLECULARES

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação
em Ciências Farmacêuticas da Universidade Federal
de Pernambuco, como requisito parcial para a
obtenção do título de Doutor em Ciências
Farmacêuticas.

Aprovado em: 11/03/2016

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª. Dr^ª. Maria Bernadete de Sousa Maia (Presidente e Orientadora)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª. Dr^ª. Glória Isolina Boente Pinto Duarte (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª. Dr^ª. Elizabeth Nascimento (Examinadora Externa)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª. Dr^ª. Maria Nelly Caetano Pisciotano (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

Prof^ª. Dr^ª. Teresinha Gonçalves da Silva (Examinadora Interna)
Universidade Federal de Pernambuco

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO

REITOR

Prof. Anísio Brasileiro de Freitas Dourado

VICE- REITORA

Prof^a. Florisbela de Arruda Camara e Siqueira Campos

PRÓ-REITOR PARA ASSUNTOS DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

Prof. Ernani Rodrigues de Carvalho Neto

DIRETOR DO CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE

Prof. Nicodemos Teles de Pontes Filho

**COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Almir Gonçalves Wanderley

**VICE-COORDENADOR DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM
CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

Prof. Rafael Matos Ximenes

R E C I F E

2016

*A sabedoria dos homens é proporcional não à sua
experiência, mas à sua capacidade de adquirir
experiência.*

George Bernard Shaw

A Deus, por ter permitido chegar ao fim de mais uma etapa acadêmica na minha vida; à minha mãe Zélia Dias, à minha irmã Eneida Franco e à minha tia Quina Dias.

AGRADECIMENTOS

- ✚ A Deus, que por sua presença, luz e força sempre me abençoa e capacita para tudo aquilo que Ele me destina.
- ✚ À Prof^a. Dr^a. Maria Bernadete de Sousa Maia, orientadora e amiga pela confiança depositada desde o início, carinho, paciência e orientação ao longo de todos esses anos (as palavras são limitadas para poder expressar minha eterna gratidão);
- ✚ À Prof^a. Dr^a. Elizabeth Nascimento, pela orientação, dedicação, envolvimento e competência que serviram de estímulo para o meu envolvimento junto à nutrição experimental;
- ✚ À Prof^a. Dr^a. Márcia da Silva Nascimento, pela orientação na parte da química de produtos naturais, que me fez despertar para esse mundo maravilhoso dos extratos, partições e purificações;
- ✚ À Dr^a. Maria Eliane Bezerra de Mélo, pela parceria, carinho, apoio, amizade e pelo sorriso (gargalhada) que emana energia da melhor qualidade;
- ✚ À Prof^a. Dr^a. Glória Duarte, incentivo, força e exemplo de profissional/professora (competente e comprometida);
- ✚ À banca examinadora por disponibilizarem tempo e conhecimento na melhoria desse trabalho. Obrigado pelas contribuições.
- ✚ À dupla dinâmica Taciana Novaes e Tamires Cunha, que foram de extrema importância para a concretização desse trabalho. Na época, alunas do Curso de Nutrição e de Iniciação Científica (I.C.), hoje competentes nutricionistas.
- ✚ Aos amigos do Laboratório de Farmacologia de Produtos Bioativos da UFPE: Tiago Araújo, Raphael Dultra, Tamires Meira, Bernardo Jatobá, Daniele Pires, Rebeca Melo;
- ✚ Ao amigo Rubens Rocha do CPqAM/FIOCRUZ pela amizade, paciência e ajuda de sempre;
- ✚ Ao grande amigo João Feitosa pelo apoio, incentivo e paciência com as correções gramaticais e traduções;
- ✚ Às amigas do Laboratório de Bioensaios para Pesquisa de Fármacos da UFPE: Fernanda Mota, Sandra da Silva, Aline Carrazzoni, Larissa de Araújo;
- ✚ À Nerilin Trajano (Secretária do PPGCF/UFPE) e Júlia Hellen (Estagiária da secretaria do PPGCF/UFPE);
- ✚ À CAPES pela bolsa concedida que viabilizou para o desenvolvimento desse trabalho;
- ✚ Aos amigos (Diretores/Coordenadores) da IBGM/IBS: Laércio Guerra, Renata Maia, Iasmine Alves, Roberta Queiroz, Bruno Araújo, Edilene Gasparini, Gercineide Lemos, Carolina Vasconcelos, Carlos Henrique, Lucas Itamar, Uheiny Torres, Ana Paula Noriko, Rodrigo César Alves, Camila Rodrigues.
- ✚ À toda minha família, em especial à minha Mãe (Zélia Dias, sinônimo de fortaleza), à minha irmã (Eneida Franco, sinônimo de superação), à minha tia Quina (Joaquina Dias, sinônimo de fé em Deus e Nossa Senhora) pela força, incentivo e confiança.

A TODOS, MEU MUITO OBRIGADO!

*...O conhecimento traz orgulho, mas o amor
edifica.*

*Quem pensa conhecer alguma coisa, ainda não
conhece como deveria...*

1 Coríntios 8 1:2

RESUMO

A crescente substituição dos alimentos *in natura* por produtos industrializados (ricos em carboidratos simples, lipídios, elevado teor em sódio e baixo teor em fibras), associados a um estilo de vida sedentário, vem contribuindo para o aumento da prevalência de pessoas obesas e consequentemente pré-dispostas ao desenvolvimento da Síndrome Metabólica (SM), condição clínica que compreende alterações específicas, incluindo obesidade abdominal, resistência à insulina, dislipidemia e hipertensão. Várias opções terapêuticas convencionais, bem como espécies vegetais com propriedades medicinais, têm sido utilizadas no tratamento dos distúrbios verificados na SM. Nesse contexto, a *Parkinsonia aculeata* L., indicada popularmente para o controle do diabetes, vem sendo estudada quanto ao seu perfil fitoquímico e farmacológico, revelando resultados promissores em modelos animais de diabetes e de dislipidemias. Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos bioquímicos e moleculares do extrato hidroalcoólico (HA) e partição (HAP - HA/acetato de etila) de *P. aculeata* sobre o perfil glicêmico de ratos *Wistar* com SM induzida por Dieta Ocidentalizada (DO). Foram acompanhados 42 ratos *Wistar* machos pós-desmame (21 dias), divididos inicialmente em dois grupos, que receberam dieta padrão para roedores (Presence[®]- DP) ou DO durante 150 dias. Em seguida, esses animais foram divididos em seis subgrupos, os quais foram tratados por gavagem durante 30 dias consecutivos, com HA ou HAP (130 ou 65 mg/kg/dia), Metformina (500 mg/kg/dia) ou água destilada (10 ml/kg/dia). A evolução ponderal de todos os animais foi avaliada semanalmente até os 150 dias de consumo das dietas. Aos 90, 120 e 150 dias foram registradas as dimensões corporais e teste de tolerância oral à glicose (TTOG) e aos 150 dias, o teste de resistência à insulina (TRI), perfil lipídico, hematológico e de proteínas séricas. A evolução ponderal continuou sendo avaliada uma vez por semana durante os 30 dias de tratamento e ao final todas as variáveis supracitadas foram novamente avaliadas. Posteriormente, os animais foram anestesiados e eutanasiados por decapitação. Em seguida, foram determinados o peso dos órgãos (coração e fígado), dos tecidos (adiposo, abdominal e epididimal), os níveis séricos de corticosterona, IL-6, IL-8, TNF- α , insulina e a concentração do glicogênio hepático e muscular. Nossos resultados mostraram que os animais submetidos à DO apresentaram sinais de SM (aumento da circunferência abdominal, dislipidemia, hiperglicemia), com diferença ($p < 0,05$) média de $23,01\% \pm 0,78\%$ no peso a partir da 10^a semana, chegando a $23,85\% \pm$

0,96% na 22ª semana. Aos 150 dias, todos os subgrupos DO apresentaram nítida tolerância à glicose nos tempos de 60, 90 e 120 minutos, e o TRI através do K_{itt} revelou um aumento médio ($p<0,05$) no tempo de meia vida da glicose de 75,63%, comparados ao grupo DP. Os subgrupos DO apresentaram aumento médio ($p<0,05$) de colesterol e triglicerídeos de 23,59% e 38,75%, respectivamente, comparados aos do grupo DP. O tratamento com a partição HAP (130 mg/kg), mesmo com a continuidade do consumo da DO pelos animais (do 150º ao 180º dia), trouxe os níveis de colesterol, de triglicerídeos, da glicemia de jejum, das concentrações séricas de insulina, de IL-6 e de TNF- α , bem como das concentrações de glicogênio muscular e hepático, a valores comparáveis aos do grupo DP. Adicionalmente o tratamento com HAP (130 mg/kg) promoveu o aumento ($p<0,05$) nos níveis de HDL-c. Contudo, o tratamento com HA (130 ou 65 mg/kg) ou HAP (130 ou 65 mg/kg) não modificou o peso do tecido hepático, adiposo abdominal ou epididimal. Finalmente, concluímos que a DO induz um quadro característico de SM (obesidade central, dislipidemia, hiperglicemia de jejum, elevados níveis de IL-6 e de TNF- α) em ratos *Wistar* e que o tratamento com o HAP (130 mg/kg) foi capaz de restabelecer a homeostase glicêmica e lipídica, além de reduzir a liberação de citocinas pró-inflamatórias, que contribuem para o estado de inflamação crônica de baixo grau existente em indivíduos obesos.

Palavras-chave: Resistência insulínica. Diabetes tipo II. Obesidade. Dieta ocidentalizada. *Parkinsonia aculeata*.

ABSTRACT

The increasing substitution of fresh food for processed products (with high levels in simple carbohydrates, lipids, sodium and low levels in fiber), associated with a sedentary lifestyle, has contributed to the increasing prevalence of overweight people and consequently predisposed to the development of the Metabolic Syndrome (MS), which is a clinical condition with several specific changes, including abdominal obesity, insulin resistance, dyslipidemia and hypertension. Many conventional treatment options, like plant species with medicinal properties, have been used in the treatment of disorders observed in MS. In this context, *Parkinsonia aculeata* L., popularly indicated for diabetes control, has been studied both in phytochemical and pharmacological profiles, showing promising results in animal models of diabetes and dyslipidemia. Therefore, the aim of this study was to evaluate the biochemical and molecular effects of hydroalcoholic extract (HA) and partition (HAP - HA/ethyl acetate) of *P. aculeata* on the glycemic profile of Wistar rats with MS, induced by Westernized Diet (WD). Forty-two Wistar male rats were observed after ablactating (21 days), initially divided into two groups, which received standard rodent feed (Presence[®] - SD), or WD by 150 days. Then these animals were divided into six subgroups, which were treated by gavage for 30 consecutive days with HA or HAP (130 or 65 mg/kg/day), Metformin (500 mg/kg/day) or distilled water (10 ml/kg/day). Once a week, until 150 days of diet consumption, the weight gain of those animals was evaluated weekly until the end of 150 days consuming these diets. At 90, 120 and 150 days body dimensions and oral glucose tolerance test (OGTT) were registered and at 150 days, Insulin resistance test (IRT), lipid and hematology profile and serum proteins. The weight gain was remained evaluating once a week for the 30 days of treatment and in the end of it, all parameters mentioned above were evaluated again. Later, the animals were anesthetized and euthanized by decapitation. Then the weight of the organs (heart and liver), tissues (fat, abdominal and epididymal) and serum levels of corticosterone, IL-6, IL-8, TNF- α , insulin and hepatic and muscle glycogen concentration were measured. Our results showed that animals submitted to westernized diet showed signs of metabolic syndrome (abdominal obesity increase, dyslipidemia, hyperglycemia), with difference ($p < 0.05$) average of $23.01\% \pm 0.78\%$ in weight from the 10th week, reaching $23.85\% \pm 0.96\%$ at 22 weeks. After 150 days, all the WD subgroups revealed visible glucose tolerance at 60, 90 and 120 minutes, and IRT through K_{itt} showed an average increase

($p < 0.05$) in the half-life of 75.63% glucose, compared to the SD group. The WD subgroups demonstrated an average increase ($p < 0.05$) of cholesterol (23.59%) and triglyceride (38.75%), compared to the SD group. The treatment with the HAP130 partition, even with the continuity of WD consumption by the animals (from 150 to 180 days), brought the levels of cholesterol, triglycerides, fasting blood glucose, concentration of serum insulin, IL-6, TNF- α , muscle and liver glycogen to comparable values of the SD group. Additionally, the treatment with HAP (130 mg/kg) caused an increase ($p < 0.05$) in HDL-c levels. However, the treatment with HA (130 or 65 mg/kg) or HAP (130 or 65 mg/kg) hasn't changed the weight of epididymal, liver and abdominal fat tissues. Finally, we conclude that the WD induces a characteristic chart of MS (central obesity, dyslipidemia, fasting hyperglycemia, high levels of IL-6 and TNF- α) in rats Wistar and the treatment with HAP (130 mg/kg) was able to restore glycemic and lipid homeostasis and to reduce the release of pro-inflammatory cytokines, which contribute to a low level chronic inflammation state in obese individuals.

Keywords: Insulin resistance. Diabetes type II. Obesity. Westernized diet. *Parkinsonia aculeata*.

LISTA DE QUADROS

		Páginas
QUADRO 1	Componentes da Síndrome Metabólica segundo o NCEP-ATP III	28
QUADRO 2	Composição de macronutrientes segundo o Valor Energético Total (VET) da dieta normocalórica para roedores (Presence®) e da Dieta Ocidentalizada elevada em lipídeos, açúcar simples e sódio.	45

LISTA DE TABELAS

	Páginas
TABELA 1	Índice de Massa Corporal (IMC), Índice de Lee (ILee), Medida da circunferência torácica (MCT) e Medida da circunferência abdominal (MCA) de ratos <i>Wistar</i> machos alimentados, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence [®]), determinados aos 90, 120 e 150 dias.
	53
TABELA 2	Perfil hematológico dos ratos <i>Wistar</i> machos (n=6) alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (controle Presence [®]).
	54
TABELA 3	Perfil das proteínas séricas de ratos <i>Wistar</i> machos (n=6), alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório.
	55
TABELA 4	Perfil lipídico (mg/dL) de ratos <i>Wistar</i> machos (n=6), alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence [®]).
	56
TABELA 5	Índice de Massa Corporal (IMC), Índice de Lee (ILee), Medida da circunferência torácica (MCT) e Medida da circunferência abdominal (MCA) de ratos <i>Wistar</i> machos, após tratamento oral com extrato de hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (controle Presence [®] e Dieta Ocidentalizada – 10 mL/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas).
	61
TABELA 6	Perfil hematológico de ratos <i>Wistar</i> , após o tratamento oral com extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence [®] e Dieta Ocidentalizada – 1 mL/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo de dietas).
	63
TABELA 7	Perfil das proteínas séricas de ratos <i>Wistar</i> , após o tratamento oral
	63

com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence[®] e Dieta Ocidentalizada – 1 ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo de dietas).

TABELA 8	Peso relativo (g/100 g de peso corporal) do tecido adiposo abdominal (TAA), tecido adiposo epididimal (TAE), coração e fígado de ratos Wistar machos, após o tratamento oral com extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> (HÁ) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HÁ 65) ou extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence [®] e Dieta Ocidentalizada – 10 ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo de dietas).	71
-----------------	--	-----------

LISTA DE FIGURAS

		Páginas
FIGURA 1	Possíveis mecanismos de resistência à insulina, ativados na obesidade ou na ingestão excessiva de gorduras.	30
FIGURA 2	<i>Parkinsonia aculeata</i> : detalhe do caule (A), dos espinhos (B), das folhas (C) e das flores (D).	37
FIGURA 3	Fluxograma para obtenção do extrato hidroalcoólico de <i>Parkinsonia aculeata</i> (HA) e sua fração polar através de partição com acetato de etila (HAP).	42
FIGURA 4	Formação dos grupos experimentais (n=42)	44
FIGURA 5	Delineamento experimental dos grupos a serem tratados, durante 30 dias por via oral, com extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> (HA) 130 ou 65 mg/kg; extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> particionado com acetato de etila (HAP) 130 ou 65 mg/kg, Metformina (500 mg/kg) ou veículo (10 ml/kg).	46
FIGURA 6	Evolução ponderal (gramas) semanal de ratos <i>Wistar</i> machos, alimentados com Dieta Ocidentalizada ou ração padrão de laboratório (controle Presence [®]), do pós-desmame até a 22 ^a semana (150 dias). Os dados estão representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de <i>Bonferroni</i> *(p < 0,05). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence [®]	51
FIGURA 7	Perfil glicêmico de ratos <i>Wistar</i> machos, alimentados durante 90 dias (A), 120 dias (B) e 150 dias (C) a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence [®]) e submetidos ao teste de tolerância oral a glicose (TTOG). Os dados estão representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de <i>Bonferroni</i> *(p < 0,05). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence [®]	57
FIGURA 8	Perfil glicêmico de ratos <i>Wistar</i> machos durante o Teste de Resistência à Insulina (TRI) (A); glicemia com seis horas de jejum	58

antes do TRI (B); Taxa de Decaimento da Glicose (K_{ITT}) (C). Os animais foram alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence®). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média (n = 6 indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* $^{(*)}$ ($p < 0,05$). Legenda: $^{(*)}$ quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

- FIGURA 9** Efeito do tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA - 130 ou 65 mg/kg), extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP - 130 ou 65 mg/kg), metformina (500 mg/kg) ou veículo (1ml/kg) - durante 30 dias consecutivos (do 150 aos 180 dias) sobre a evolução ponderal. Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média (n = 6 indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: $^{(*)}$ em relação ao grupo controle dieta Presence®, $^{(\#)}$ em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada. **60**
- FIGURA 10** Perfil lipídico (mg/dL) de ratos *Wistar* após o tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA - 130 ou 65 mg/kg), extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP - 130 ou 65 mg/kg), metformina (500 mg/kg) ou veículo (1ml/kg) - durante 30 dias consecutivos (do 150 aos 180 dias). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média (n = 6 indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: $^{(*)}$ em relação ao grupo controle dieta Presence®, $^{(\#)}$ em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada. **62**
- FIGURA 11** Níveis séricos de corticosterona de ratos *Wistar* machos, após tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média (n = 6 indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de **64**

Bonferroni ($p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence®; (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

- FIGURA 12** Níveis séricos (pg/mL) de IL-8 (A), IL-6 (B) e TNF- α (C) de ratos *Wistar* machos após tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150° - 180° dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence®; (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada. **66**
- FIGURA 13** Glicemia de jejum de ratos *Wistar* machos ao final do tratamento (A); concentração de insulina sérica (B) e índice de HOMA (C), após tratamento durante 30 dias por via oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150° - 180° dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). **68**
- FIGURA 14** Perfil glicêmico de ratos *Wistar* machos submetidos ao Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTOG) ao final do tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150° - 180° dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* (* $p < 0,05$). Legenda: (A) - **69**

quando comparado o grupo dieta ocidentalizada; (B) - quando comparado o Controle Presence[®]; (C) - quando comparado o grupo Metformina.

FIGURA 15 Concentração de glicogênio no tecido hepático (A) e concentração de glicogênio no músculo tibial (B) de ratos *Wistar* machos ao final do tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence[®] e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* (p < 0,05). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence[®]; (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

70

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ADA – *American Diabetes Association*

AGL – Ácidos Graxos Livres

ANOVA – Análise de Variância

ATP – Adenosina Trifosfato

CEUA – Comissão de Ética no Uso de Animais

CTO – Colesterol Total

DM2 – Diabetes Melitus Tipo 2

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

DO – Dieta Ocidentalizada

DP – Dieta Presence[®]

GHS – *Globally Harmonised System*

GLUT4 – Transportador de Glicose 4

HA – Extrato Hidroalcoólico

HAP – Partição de Extrato Hidroalcoólico por Acetato de Etila

HDL – *High Density Lipoproteins*

HOMA – Modelo de Avaliação da Homeostase

IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística

IDF - *International Diabetes Federation*

IL-1 – Interleucina 1

IL-6 – Interleucina 6

ILee – Índice de Lee

IkK – Ikappa Kinase

IkKB - fator de transcrição NF-kB

IMC – Índice de Massa Corporal

INCRA-BA – Instituto Nacional de Colonização e Reforma Agrária da Bahia

INOS - *Inducible nitric oxide synthase*

IV – Infravermelho

JNK – *C-Jun N-Terminal Kinase*

Kitt – Índice de Decaimento da Glicose

LDL – *Low Density Lipoproteins*

LIKA – Laboratório de Imunopatologia Keizo Asami

LPS - Lipopolissacarídeos bacterianos

MCA – Medida da Circunferência Abdominal

MCT – Medida da Circunferência Torácica

mTOR – *Mammalian Target of Rapamycin*

NCEP ATPIII – National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III

NF-K β - *factor nuclear kappa B*

PAI-1 – Plasminogênio

PCR – Proteína C Reativa

PGE2 – Prostaglandina E2

POF – Pesquisa de Orçamento Familiar

PPAR- γ – Peroxisome Proliferator Activated Receptor

S6K1 - p70 ribosomal protein S6 kinase 1

SBC – Sociedade Brasileira de Cardologia

SBCAL – Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório

SM – Síndrome Metabólica

SU – Sulfonilureias

TACO – Tabela Brasileira de Composição de Alimentos

TG – Triglicerídeos

TLR4 – *Toll Like Receptors 4*

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral –alfa

TNFR1 - *Tumor necrosis factor receptor 1*

TNFR2 - *Tumor necrosis factor receptor 2*

TOTG – Teste Oral de Tolerância à Glicose

TRI – Teste de Resistência à Insulina

TTI – Teste de Tolerância à Insulina

UV – Ultravioleta

VET – Valor Energético Total

VLDL – *Very Low Density Lipoproteins*

WSF - Water Soluble Fraction

SUMÁRIO

	Páginas
1 INTRODUÇÃO	23
2 EMBASAMENTO TEÓRICO	25
- <i>Influência da Transição Nutricional</i>	25
- <i>Síndrome Metabólica (SM)</i>	25
- <i>Aspectos Epidemiológicos da SM</i>	26
- <i>Síndrome Metabólica e os Fatores Associados à Obesidade</i>	27
- <i>Síndrome Metabólica e Resistência à Insulina/Diabetes Tipo II</i>	28
- <i>Obesidade e Processo de Inflamação Subclínica x Resistência à Insulina</i>	29
- <i>Modelos Experimentais de Indução de Resistência à Insulina</i>	31
- <i>Hipoglicemiantes Orais Utilizados no Controle do Diabetes Tipo II</i>	32
- <i>BIGUANIDAS</i>	33
- <i>TIAZOLIDINEDIONAS</i>	33
- <i>SULFONILUREIAS</i>	34
- <i>INIBIDORES DA ALFA-GLICOSIDASE</i>	35
- <i>Espécies Vegetais Utilizadas no Controle do Diabetes Tipo II</i>	35
- <i>Parkinsonia aculeata L. (Caesalpiniaceae)</i>	37
3 OBJETIVOS	40
3.1 Objetivo Geral	40
3.2 Objetivos Específicos	40
4 METODOLOGIA	41
4.1 Material Botânico	41
4.2 Obtenção dos Extratos Orgânicos	41
4.3 Modelo Animal e Princípios Bioéticos	43
4.4 Avaliação da Toxicidade Aguda <i>in vivo</i> do extrato hidroalcoólico de <i>P. aculeata</i> e da sua partição polar com acetato de etila - Método de Classes (OECD, 2001)..	43
4.5 Modelo Experimental	44
4.6 Dieta e Tratamento	44
4.7 Avaliações <i>in vivo</i>	46
4.8 Avaliações <i>ex vivo</i>	48
4.9 Análise Estatística	50
5 RESULTADOS	51
6 DISCUSSÃO	67
7 CONSIDERAÇÕES FINAIS	77
REFERÊNCIAS	78
ANEXO	
Anexo 1 – Carta do Comitê de Ética da UFPE	

1 INTRODUÇÃO

A Síndrome Metabólica (SM) tem sido alvo de muitos estudos nos últimos anos. Os fatores de risco metabólicos associados à SM são: dislipidemia (hipertrigliceridemia, níveis elevados de LDL-colesterol e níveis baixos de HDL-colesterol), hipertensão arterial, hiperglicemia e distúrbios da coagulação (aumento da adesão plaquetária e do inibidor do ativador do plasminogênio-PAI-1). Há também um estado pró-inflamatório, com aumento da proteína C reativa (PCR), fator de necrose tumoral alfa (TNF- α) e interleucina 6 (IL-6) (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2005). A prevalência da SM no mundo ocidental contemporâneo está diretamente relacionada com as alterações na estrutura da dieta, associadas às mudanças econômicas, sociais e demográficas. Especificamente as mudanças na estrutura dietética são caracterizadas por uma maior ingestão de alimentos que contêm açúcares simples, gorduras saturadas, sódio e baixa ingestão de fibra. Este padrão alimentar é denominado de "dieta ocidental" (BATISTA; RISSIN, 2003).

De fato, a obesidade é considerada um importante fator de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina, sendo essa a principal característica do diabetes tipo II (DEFRONZO; TRIPATHY, 2009). Estima-se que 366 milhões de pessoas no mundo são portadoras de diabetes tipo II, podendo chegar a 552 milhões de diabéticos em 2030 e cerca de 55% dos casos desta patologia são atribuídos à obesidade (OLOKOBA-AB; OBATERU; OLOKOBA-LB, 2012). No Brasil, 75% da população com diabetes tipo II não está no peso ideal, sendo 42,1% com sobrepeso e 32,9% com obesidade (GOMES et al., 2006). Essa realidade estimula cada vez mais os pesquisadores a tentar entender os mecanismos moleculares associados ao desenvolvimento de resistência à insulina relacionada à obesidade, e por vezes encontrar alternativas terapêuticas para controlar o desequilíbrio metabólico desencadeado pela SM.

No Brasil, uma grande variedade de espécies vegetais tem sido estudada ou utilizada pela medicina popular como forma alternativa para controlar as alterações verificadas na SM, especificamente quanto à resistência à insulina/diabetes tipo II. Vários autores reportam a utilização de espécies vegetais, muitas das quais têm sido usadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente para tratar os sintomas dessa doença (KAR et al., 1999 e 2003; LAMBA et al., 2000; NOVAES et al., 2001; MCCUNE; JONHNS, 2002; SAID et al., 2002; VOLPATO et al., 2002; HUO et al.,

2003; ELDER, 2004; SAXENA; VIKRAM 2004; LEITE et al., 2007 e 2011). Entre essas espécies vem tendo destaque a *P. aculeata*, a qual é amplamente utilizada na medicina tradicional como hipoglicemiante (ANDRADE-CETTO e HEINRICH, 2005; DE-ALMEIDA et al., 2005). Estudos em modelos de ratos diabéticos revelaram que uma fração solúvel em água, do extrato hidroetanólico e do metanol de *P. aculeata*, reduziu os níveis de glicose no sangue e na urina, e melhorou os parâmetros bioquímicos e fisiológicos relacionados ao metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas (LEITE et al., 2007 e 2011; MARZOUK et al., 2013). Segundo Cazarolli et al. (2006 e 2009), os efeitos benéficos no controle do diabetes, a melhora na tolerância da glicose, no perfil lipídico, na biossíntese de glicogênio, na captação e na sinalização de insulina podem estar relacionados à presença dos flavonoides, principalmente aqueles pertencentes à classe dos C-glicosilados, os quais estão presentes em quantidade importante nos extratos das folhas de *P. aculeata* (BESSON et al., 1980; EL-SAYED et al., 1991; ALI et al. 2005).

Diante das evidências supracitadas, o escopo deste estudo foi investigar o efeito do extrato hidroalcoólico e da partição polar das folhas de *P. aculeata* quanto à atividade hipoglicemiante em ratos *Wistar* com Síndrome Metabólica induzida por Dieta Ocidentalizada.

2 EMBASAMENTO TEÓRICO

- *Influência da Transição Nutricional*

Segundo Popkin (2001), repercussões na saúde da população de diversos países em desenvolvimento vêm sendo observadas devido às alterações na estrutura da dieta, associadas a mudanças econômicas, sociais e demográficas. As modificações na estrutura dietética são caracterizadas por uma maior ingestão de alimentos que contêm açúcares simples, gorduras saturadas, sódio e de baixa ingestão de fibra. Esse padrão alimentar é denominado de "dieta ocidental" (BATISTA; RISSIN, 2003).

Monteiro et al. (2000), relatam que entre 1988-1996 foi observado um aumento do consumo de açúcares, refrigerantes, ácidos graxos saturados, ácidos graxos *trans*, presentes nas margarinas e produtos industrializados, e considerável redução do consumo de carboidratos complexos, frutas, verduras e legumes nas regiões metropolitanas do Brasil. Mondini e Monteiro (1995) informam que entre 1962-1988 o consumo de margarina no Brasil subiu de 0,4 para 2,5% do total de calorias, além de um incremento da densidade energética, favorecido pelo maior consumo de carnes, leite e derivados ricos em gorduras. Atrelados à crescente substituição dos alimentos *in natura* ricos em fibras, vitaminas e minerais por produtos industrializados (BARRETO; CYRILLO, 2001), esses fatores nutricionais associados a um estilo de vida sedentário, favorecido por mudanças na estrutura de trabalho e avanços tecnológicos, vêm contribuindo para o aumento da prevalência de pessoas obesas e conseqüentemente pré-dispostas ao desenvolvimento da Síndrome Metabólica (POPKIN, 1999).

- *Síndrome Metabólica (SM)*

A Síndrome Metabólica (SM) tem sido alvo de muitos estudos nos últimos anos e pode ser definida como um grupo de fatores de risco inter-relacionados, de origem metabólica, que diretamente contribuem para o desenvolvimento da diabetes tipo II e/ou doença cardiovascular (DCV) (PENALVAN, 2008).

Os fatores de risco metabólicos associados a SM são: dislipidemia aterogênica (hipertrigliceridemia, níveis elevados de LDL-colesterol e níveis baixos

de HDL-colesterol), hipertensão arterial, hiperglicemia e distúrbios da coagulação (aumento da adesão plaquetária e do inibidor do ativador do plasminogênio-PAI-1). Há também um estado pró-inflamatório, com aumento da proteína C reativa, fator de necrose tumoral alfa e interleucina 6 (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2005). Especificamente a(s) causa(s) para o desenvolvimento da SM ainda não é/são clara(s). Mas, sabe-se que a predisposição genética, a alimentação inadequada e o sedentarismo estão entre os principais fatores de risco que contribuem para o seu desencadeamento (LIESE; MAYER-DAVIS; HAFFNER, 1998).

Em abril de 2005, foi publicada a primeira Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica, com o apoio da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC), que utilizou o critério NCEP ATP III para definir SM (SBC, 2005). Em 2006, a IDF formulou nova definição para SM, considerando as diferentes etnias (ALBERTI; ZIMMET; SHAW, 2006).

- Aspectos Epidemiológicos da SM

A incidência de SM representa um espectro de alterações metabólicas, que incluem diferentes fatores como foi dito anteriormente (obesidade central, dislipidemia, hiperglicemia e hipertensão arterial). Esses fatores têm aumentado de forma crescente em todo o mundo, de modo que a síndrome se tornou um desafio na saúde pública geral (STOTHARD et al., 2009). Estima-se que de 25% a 40% de indivíduos entre 25 e 64 anos de idade tenham Síndrome Metabólica (*San Antonio Heart Study*) (LORENZO et al., 2007; KLEIN et al., 2007). Essa ocorrência encontra-se disseminada em diferentes grupos étnicos e populações de diferentes países (LOPES, 2007).

Segundo Ford (2004), a prevalência da SM nos Estados Unidos, ao analisar 8814 indivíduos com 20 anos de idade ou mais, foi de 23,7%, sendo mais alta em pessoas mais velhas (43,5% em indivíduos com idades entre 60 e 69 anos). Por sua vez, a prevalência da SM no México foi de 27% e na Itália de 29%, segundo Aguilar-Salinas (2004) e Irace (2005), respectivamente. No Brasil, apesar do aumento de estudos sobre o tema, ainda há uma carência na literatura no que concerne à prevalência da doença. Mas, Cavagioni et al. (2008), ao realizarem um estudo da prevalência da SM no Brasil, encontraram valores próximos a 24%.

- Síndrome Metabólica e os Fatores Associados à Obesidade

As grandes alterações no padrão alimentar da população mundial, que consome cada vez mais gorduras totais, açúcar, carboidratos refinados, baixo teor de ácidos graxos insaturados e de fibras, têm contribuído sobremaneira no agravamento da prevalência da obesidade (CUPAPRI, 2005). No Brasil, dados da Pesquisa de Orçamento Familiar (POF), realizada entre os anos de 2008 e 2009, mostram que 49,0% da população total de adultos apresentam sobrepeso e 14,8% são considerados obesos (Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística - IBGE, 2008 - 2009). Desta forma, a obesidade atualmente é considerada uma epidemia mundial e de caráter multifatorial, devido à relação direta entre excesso de tecido adiposo, inflamação sistêmica, desenvolvimento de doenças cardiovasculares e metabólicas (HAN et al., 2013).

Além dessas correlações, as evidências científicas apontam a obesidade como um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina, por existir uma correlação direta entre resistência insulínica e excesso de ácidos graxos livres (AGL) circulantes, oriundos do tecido adiposo (principalmente da gordura abdominal) e de lipoproteínas ricas em triglicerídeos. De modo geral, os AGL reduzem a sensibilidade à insulina, por competirem com a glicose como substrato energético, inibindo a sua captação insulino-mediada (GUERRE-MILLO, 2004; PANKOW et al., 2004), assim como, podem reprimir a expressão do GLUT4 (transportador de glicose dependente da insulina) em miócitos e adipócitos (HOTAMISLIGIL; SPIEGELMAN, 1994). Dessa forma, os níveis de insulina permanecem elevados no sangue (hiperinsulinemia).

O diagnóstico de SM é estabelecido pela presença de três dentre quaisquer dos cinco componentes descritos pela *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III - ATP III* (NCEP, 2001), segundo recomendação da I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica (SBH, 2004, I-DBSM, 2005; SBC, 2005). A *Internacional Diabetes Federation* desenvolveu novos critérios para o diagnóstico da SM (IDF, 2005), considerando a obesidade abdominal associada a dois ou mais componentes da SM (SBC, 2005) (Quadro 1).

Quadro 1 – Componentes da Síndrome Metabólica segundo o NCEP-ATP III

COMPONENTES	NÍVEIS
• Obesidade abdominal por meio de circunferência abdominal	
Homens	> 102 cm
Mulheres	> 88cm
• Triglicerídeos	≥ 150 mg/dL
• HDL colesterol	
Homens	< 40 mg/dL
Mulheres	< 50 mg/dL
• Pressão arterial	≥ 130 mmHg ou ≥ 85 mmHg
• Glicemia de jejum	≥ 110 mg/dL

Fonte: SBC – Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2005

- Síndrome Metabólica e Resistência à Insulina / Diabetes Tipo II

A obesidade é considerada um fator de risco para o desenvolvimento de resistência à insulina, sendo essa a principal característica do diabetes tipo II (DEFRONZO; TRIPATHY, 2009). Estima-se que 366 milhões de pessoas no mundo são portadoras de diabetes tipo II, podendo chegar a 552 milhões de diabéticos em 2030. Cerca de 55% dos casos desta patologia são atribuídos à obesidade (OLOKOBA-AB; OBATERU; OLOKOBA-LB, 2012). No Brasil 75% da população com diabetes tipo II não está no peso ideal, sendo 42,1% com sobrepeso e 32,9% com obesidade (GOMES et al., 2006). Essa realidade estimula cada vez mais os pesquisadores a tentar entender os mecanismos moleculares associados ao desenvolvimento de resistência à insulina relacionada à obesidade.

Holland et al. (2011), relatam que o excesso de tecido adiposo e o consumo elevado de gorduras são capazes de sintetizar e ativar proteínas com ações inflamatórias que influenciam na via intracelular da insulina causando prejuízos na translocação do GLUT4 para a membrana plasmática, previamente mediada pelo aumento da expressão de receptor TLR-4 (*toll like receptors 4*) (REYNA et al., 2008). Essa realidade faz com que o tecido adiposo passe de função primária de armazenador de energia para a de órgão endócrino, com funções de sintetizar e

liberar proteínas biologicamente ativas, denominadas adipocinas, com ações pró-inflamatórias e anti-inflamatórias (GALIC; OAKHILL; STEINBERG, 2010).

Dessa forma, o excesso de tecido adiposo pode levar a um estado de inflamação crônica de baixo grau, induzindo o recrutamento de macrófagos aos adipócitos em resposta à quimiotaxia e assim liberando as adipocinas pró-inflamatórias, que são capazes de induzir alterações intracelulares, influenciando diretamente na fosforilação dos substratos do receptor da insulina (LÊ et al., 2011). Esse mecanismo caracteriza a resistência à insulina, que decorrente da disfunção metabólica e molecular (translocação do GLUT4), diminui a capacidade do músculo esquelético e dos outros tecidos ao captar glicose para as células, levando a um estado hiperglicêmico (CASTRO et al., 2013).

- Obesidade e Processo de Inflamação Subclínica x Resistência à Insulina

O excesso de Ácidos Graxos Livres (AGL) circulantes ativam proteínas de membrana plasmática denominados TLR-4, que por sua vez ativam vias inflamatórias que vão interferir na captação de glicose pela sinalização da insulina (GAO et al., 2004; DASU; JIALAL, 2010). Esse é o início de uma cascata de competições por sítios de ligação, onde os AGL, ao se ligarem ao receptor TLR-4, ativam JNK (*c-jun N-terminal kinase*) e IκK (*Ikappa kinase*), os quais prejudicam a geração de substratos (IRS-1/IRS-2) provenientes da ativação dos receptores de insulina. Por sua vez, esses prejudicam sua fosforilação em resíduos de tirosina e a subsequente translocação do GLUT4 (NGUYEN et al., 2007, ANDREASEN et al., 2011).

Contudo, os AGL ativam outras vias inflamatórias que comprometem a sensibilidade à insulina. Os AGL, ao se ligarem aos receptores TLR-4, induz a ativação de IκK. Por sua vez, a ativação dessa molécula pode comprometer a sinalização da insulina por duas formas:

- 1) Após ser ativada, o IκK pode diretamente fosforilar IRS-1 em resíduos de serina, atenuando a atividade de tirosinas.

- 2) A ativação de IκK leva à fosforilação de IκkB. Quando essa proteína ganha grupo fosfato, são formadas cadeias de poliubiquitinas, que vão induzir a degradação proteassomal de IκkB, sendo um inibidor de fator de transcrição κB (NF-κB). Com a degradação de IκkB, ocorre subsequente aumento da expressão de NF-

kB, que vai agir no núcleo celular se ligando ao DNA e, portanto, induzindo a transcrição gênica de mediadores inflamatórios como TNF- α (fator de necrose tumoral alfa) e IL-6 (interleucina 6) (BARMA et al., 2009).

O mecanismo em que TNF- α induz o desenvolvimento de resistência à insulina está na ligação de TNF- α aos seus receptores na membrana plasmática TNFR1 e TNFR2, sendo capaz de ativar também as proteínas inflamatórias I κ B e JNK. Assim, dá-se sequência na resposta inflamatória causada por estas moléculas (ALVARO et al., 2004; VALEDO et al., 2009).

Outra via que está relacionada à resistência à insulina e tem sua ativação favorecida pela sobrecarga de nutrientes de forma crônica é o mTOR (*mammalian target of rapamycin*). Essa molécula, com atividade quinase, possui dois complexos distintos funcionais: mTOR complexo 1 (mTORC1) e mTOR complexo 2 (mTORC2). De modo geral, essa molécula é fundamental no fator de crescimento celular e no metabolismo, a qual regula várias funções celulares. Estudos apontam que o complexo mTORC1 possui relação negativa com a sinalização da insulina por ativação de p70 S6 kinase 1 (S6K1), influenciando na fosforilação de IRS-1 em resíduos de serina (SHAH; HUNTER, 2006; TZATSOS; KANDROR, 2006).

De modo geral, existem vários mecanismos de ativação de vias inflamatórias como JNK, I κ B/I κ B/NF- κ B e mTOR/S6K1 (Fig. 1), que a princípio encontram-se ativados nas pessoas obesas ou naquelas que fazem uso excessivo de gordura durante a alimentação. E essas, por sua vez, apresentam prejuízo na sinalização da insulina e consequentemente uma redução na captação de glicose.

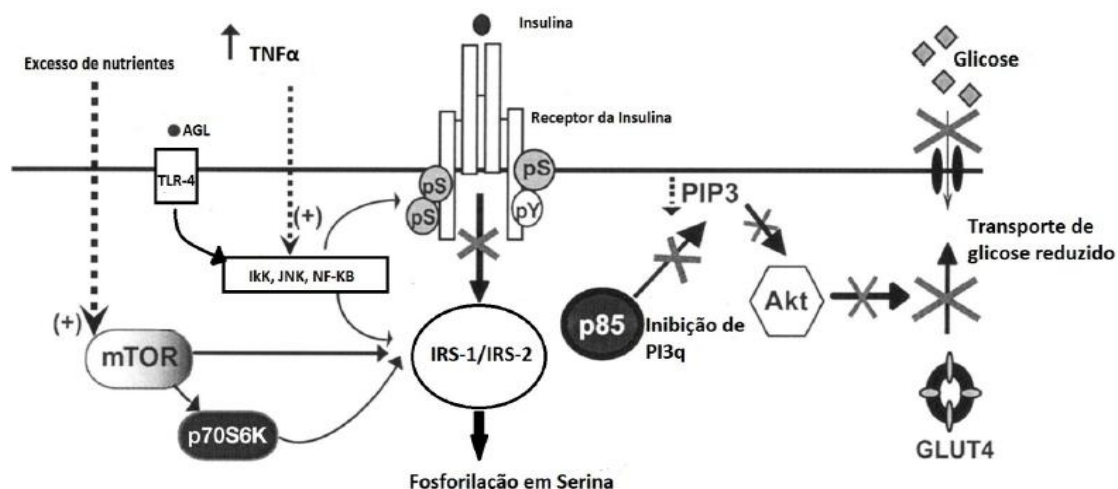


Figura 1 - Possíveis mecanismos de resistência à insulina, ativados na obesidade ou na ingestão excessiva de gorduras.
Fonte: Adaptado de BARBOUR, L.A. et al., 2007

- Modelos Experimentais de Indução de Resistência à Insulina

A grande similaridade e homologia entre os genomas dos roedores e dos humanos tornam esses modelos animais importante ferramenta para o estudo de condições que afetam os humanos, as quais podem ser mimetizadas em ratos. A obesidade pode ser induzida em animais com alterações neuroendócrinas, dietéticas ou genéticas.

Os modelos mais utilizados para indução de obesidade em ratos são: lesão do núcleo hipotalâmico ventromedial através da administração de glutamato monossódico ou lesão elétrica direta; ooforectomia; alimentação com dietas hipercalóricas; e manipulação genética para obesidade (VON; TRINDADE EM; TRINDADE MR, 2006). Muitos desses modelos, ao final, resultam na indução de resistência à insulina obtida através da mudança no padrão dietético. Por exemplo, a administração de uma dieta rica em frutose (35% da dieta), produto utilizado como adoçante de bebidas e doces, no lugar da sacarose, inicia uma cadeia de eventos metabólicos, o que pode levar a hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia, resistência à insulina e promover elevação da pressão arterial. A fisiopatologia dos distúrbios metabólicos induzidos por sobrecarga de frutose deve-se principalmente à inibição da enzima fosfofrutoquinase, o que leva à inibição da via glicolítica (VASDEV; LONGERICH; GILL, 2004).

Apesar dos modelos experimentais relatados na literatura com o propósito de induzir resistência à insulina e à obesidade (por ex: administração de somatotropina e de glicocorticoides (MORENO et al., 2005) e administração do monoglutamato de sódio (HIRATA et al., 1997), o modelo que se aproxima à grande parte da obesidade humana é o de obesidade exógena, no qual é oferecido ao animal um maior aporte calórico, através de uma sobrecarga de carboidratos ou de gordura, isoladamente ou em associação. Essa dieta é denominada dieta “ocidentalizada”, de *fast-food* ou ainda dieta cafeteria. É uma dieta de alta palatabilidade que faz com que os animais substituam sua dieta padrão.

No modelo de obesidade exógena, acrescenta-se ou associa-se à ração padrão substâncias altamente calóricas que variam de acordo com os diferentes grupos de pesquisa, como bacon ou banha, castanhas, leite condensado, refrigerantes, chocolate, amendoim, guloseimas, etc. Essa dieta produz um incremento de peso corporal total de aproximadamente 30–40% ao final de 12

semanas de estudo, além de produzir aumento significativo na quantidade de gordura visceral e apresentar resistência à insulina e hiperleptinemia (WOFFORD; HALL, 2004). Estudos revelam que ratos da linhagem *Wistar* submetidos à dieta hipercalórica e hiperlipídica, durante três meses, mostraram ganho de peso corporal em 1,4 vezes mais quando comparados com animais controle (DA-SILVA et al., 2010).

Contudo, outros estudos em roedores que tentam reproduzir os efeitos fisiológicos e metabólicos associados ao consumo de dieta de cafeteria através da combinação de uma dieta comercial associada a alimentos ricos em gorduras e açúcares (BUETTNER et al., 2007; BAYOL et al., 2008) não retratam com precisão os padrões de consumo na população humana, pois essas dietas experimentais apresentam quantidades inadequadas de proteína (CHEN et al., 2008; SHAFAT, MURRAY, RUMSEY, 2009).

Dessa forma, pesquisas vêm sendo desenvolvidas com o intuito de aproximar cada vez as dietas experimentais à realidade observada na Pesquisa de Orçamento Familiar (POF) do Brasil, através da aquisição crescente de alimentos ricos em lipídeos, carboidratos simples e gordura trans (LEVY-COSTA et al., 2005). Entretanto, mantem-se uma demanda proteica que atenda a necessidade fisiológica dos animais nas diferentes etapas do desenvolvimento, de forma a evitar o processo de subnutrição na presença da redução do aporte proteico, podendo ser verificadas as alterações metabólicas nos animais, mediadas pelos alimentos introduzidos na dieta experimental. Cavalcante et al. (2014) verificou que a prole de fêmeas alimentadas com dieta ocidentalizada mostrou hiperfagia, hiperinsulinismo, hipertrigliceridemia, maior peso de gordura visceral, alto nível de LDL-c, baixo de nível de HDL-c e teste de tolerância à glicose alterada.

- Hipoglicemiantes Orais Utilizados no Controle do Diabetes Tipo II

Os tratamentos indicados para o controle do diabetes tipo II visam manter a glicemia adequada, seja com dieta hipocalórica, aumento da prática de exercícios físicos ou uso de medicações. Entre as classes de hipoglicemiantes disponíveis no mercado têm-se: Biguanidas (metformina, fenformina), Tiazolidinedionas (rosiglitazona, pioglitazona), Sulfonilureias (clorpropamida, glibenclamida, gliclazida, glipizida, glimepirida), Inibidores da Alfa-glucosidase (acarbose, miglitol, voglibose).

Contudo, o uso dos hipoglicemiantes orais é indicado quando o controle da alimentação e o aumento da atividade física não forem capazes de obter um bom controle da glicemia, de forma a trazê-la para próximo dos níveis normais (PAN et al., 1997; HIRSCH; RIDDLE, 1997; DEL-PRATO; PENNO; MICCOLI, 2009).

BIGUANIDAS

A metformina é a mais utilizada da classe das biguanidas e seu principal efeito anti-hiperglicemiante consiste na redução da gliconeogênese hepática (HUNDAL et al., 2000; BOSI, 2009), resultando na melhora da ação da insulina no fígado, diminuindo a produção hepática da glicose em 10 a 30% e, no músculo, aumentando a captação de glicose em 15 a 40%, bem como estimulando a glicogênese. No adipócito, a metformina inibe a lipólise e a disponibilidade de ácidos graxos livres (AGL). Além disso, ela diminui a absorção gastrointestinal de glicose, aumenta a sensibilidade à insulina nos tecidos muscular e adiposo, e melhora indiretamente a resposta da célula β à glicose por reduzir a glicotoxicidade e os níveis de ácidos graxos livres (KIRPICHNIKOV; MCFARLANE; SOWERS, 2002). Nos tecidos periféricos, a metformina facilita o transporte de glicose por aumentar a atividade da tirosinaquinase nos receptores de insulina (HUNDAL et al., 2000, MATTHAEI et al., 1991; HUNDAL et al., 1992) e estimula a atividade da glicogeniosintetase (SANTOS et al., 1995). Ocorre também melhora do perfil lipídico, com diminuição de 20 a 25% nos níveis de triglicérides e de até 10% do LDL-colesterol, e aumento de até 17% dos níveis de HDL-colesterol, com diminuição de 20 a 30% do fator inibidor de ativação do plasminogênio (PAI-1). No diabetes tipo II, o uso isolado de metformina diminui a glicemia em cerca de 25%, ou 60 a 70 mg/dl e a hemoglobina glicosilada em 1,5 a 2% (CUSI; DE-FRONZO, 1998). Em adição, um efeito protetor nas células β tem sido demonstrado em ensaios in vitro (MARCHETTI et al., 2004)

THIAZOLIDINEDIONAS

A rosiglitazona e a pioglitazona são tiazolidinedionas de segunda geração. Elas agem aumentando e sensibilizando a ação da insulina no fígado, músculos e adipócitos, diminuindo a resistência periférica. Elas ativam os receptores

intracelulares *peroxisome proliferator activated receptor* (PPAR- γ) nucleares que regulam a expressão de genes que afetam o metabolismo glicídico e lipídico, responsáveis pela captação de glicose mediada por insulina nos tecidos periféricos e pela diferenciação de pré-adipócitos em adipócitos, entre outros efeitos. As tiazolidinedionas aumentam a expressão dos transportadores de glicose (GLUT4), da lipoproteína lipase e reduzem a expressão da leptina e do fator de necrose tumoral (TNF- α). As tiazolidinedionas inibem a oxidação de cadeias longas de ácidos graxos no fígado, diminuindo a gliconeogênese e a disponibilidade de AGL. Embora induzam a diminuição de 15 a 20% dos níveis de triglicérides e aumento de 5 a 10% do HDL-c, os níveis de colesterol total e do LDL-c podem não se alterar ou aumentar de 10 a 15%. As tiazolidinedionas diminuem os níveis glicêmicos em torno de 20%, mas não aumentam a secreção de insulina. Quando comparada à metformina, observou-se que a troglitazona têm maior efeito potencializador da ação periférica da insulina e menor efeito em diminuir a produção hepática de glicose (INZUCHI et al., 1998).

SULFONILUREIAS

As sulfonilureias são secretagogos de insulina, sua ação é determinada através de ligação aos receptores U-pancreáticas (subunidade SUR1 do canal de potássio), resultando na secreção de insulina (MALAISSE; LEBRUN, 1990).

As sulfonilureias (SU) são classificadas de acordo com sua geração e essa leva em consideração seu mecanismo e tempo de meia vida. A clorpropamida é uma SU de 1ª geração, cujo tempo de meia vida é mais longa (36 à 60h), devido à formação de metabólitos com excreção mais lenta. A glibenclamida, gliclazida e glipizida pertencem à 2ª geração e semelhante às de 3ª geração, como a glimepirida, têm meia vida mais curta, de 8 a 16h (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION-ADA, 2000; PAM et al., 1997).

O mecanismo de ação das sulfonilureias é semelhante: atuam em receptor de membrana, inibindo o efluxo de potássio. A despolarização da membrana favorece o influxo de cálcio e subsequente estímulo da secreção de insulina. A nível celular, as SU agem inibindo os canais de K_{ATP} , despolarizando a célula beta pancreática e estimulando o influxo de Ca^{2+} e a secreção de insulina (URSICH et al., 1992).

A curto prazo, as SU aumentam a secreção de insulina, mas a longo prazo (mais de 6 meses), a secreção de insulina pode estar igual ou até diminuída em relação aos níveis iniciais, mas o efeito hipoglicemiante persiste e possivelmente está relacionado aos efeitos extra pancreáticos. Alguns estudos sugerem que elas aumentem o número de receptores de insulina e/ou tenham efeito pós-receptor, facilitando as ações da insulina. As SU não restauram a primeira fase de secreção de insulina ao estímulo da glicose venosa, mas exageram a segunda fase, daí a importância de usar SU de ação mais curta. A principal indicação de SU é em pacientes DM2, na ausência de infecção ou cetose, com peso normal ou magro, cujos níveis de insulina estão normais ou diminuídos, não conseguindo um controle satisfatório com dietas e exercícios (ARAÚJO et al., 1988).

INIBIDORES DA ALFA-GLICOSIDASE

Os inibidores competitivos da α -glicosidase, como a acarbose, o miglitol e a voglibose, agem como antagonistas enzimáticos da amilase e sucrase e diminuem a absorção intestinal da glicose (SEGAL, 1997; JENMEY et al., 1993). Desta forma, a absorção dos carboidratos ocorre tardiamente, concomitante à secreção de insulina, com consequente redução da glicemia pós-prandial (BALFOUR; MCTAVISH, 1993; VAN et al., 2005). Possui benefício moderado no controle glicêmico, com redução da HbA1c em torno de 0,7% (VAN et al., 2005), estando indicada naqueles pacientes com glicemia de jejum adequada e glicemia pós-prandial elevada. Outra vantagem está relacionada à ausência de ganho de peso ou hipoglicemia (NATHAN et al., 2009; SEGAL, 1997; JENMEY et al., 1993).

- Espécies Vegetais Utilizadas no Controle do Diabetes Tipo II

Uma alternativa para controlar as alterações verificadas na SM, especificamente quanto à resistência à insulina/diabetes tipo II, reporta a utilização de espécies vegetais, muitas das quais têm sido usadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente para tratar os sintomas dessa doença (KAR et al., 1999 e 2003; LAMBA et al., 2000; NOVAES et al., 2001; MCCUNE; JONHNS, 2002; SAID et al., 2002; VOLPATO et al., 2002; SYEM et al., 2002; HUO et al., 2003; ELDER, 2004; SAXENA; VIKRAM, 2004; LEITE et al., 2007 e 2011).

No Brasil, uma grande variedade dessas espécies tem sido utilizada pela medicina popular para o tratamento da diabetes tipo II, dentre estas podem ser citadas a *Bauhinia forficata*, *Eugenia jambolana*, *Myrcia uniflora*, bem como a *Parkinsonia aculeata* L. (LEITE et al., 2007), sendo algumas dessas espécies nativas do bioma caatinga, no qual já foi descrito mais de 596 de porte arbóreas ou arbustivas e 1788 espécies herbáceas. Dentre as espécies endêmicas, 180 pertencem às famílias Caesalpiniaceae, Mimosaceae, Euphorbiaceae, Fabaceae, Celastraceae e Cactaceae (JOLY, 1998).

O mecanismo de ação pelos quais essas espécies reduzem a glicemia pode ser atribuído aos seguintes fatores: aumento da liberação de insulina através da estimulação das células β -pancreáticas; resistência aos hormônios que aumentam a taxa de glicose; aumento do número e da sensibilidade do sítio receptor de insulina; diminuição da perda de glicogênio; aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos; eliminação de radicais livres; resistência à peroxidação de lipídeos; correção da desordem metabólica causada em lipídeos e proteínas e estímulo ao aumento da microcirculação do sangue no organismo (HUO et al., 2003; SAID et al., 2002; LI et al., 2004; VOLPATO et al., 2002).

Há muitas substâncias extraídas de espécies vegetais que reduzem a glicemia e a grande variedade das classes fitoquímicas indica a variedade de mecanismos de ação responsáveis pelo efeito hiperglicêmico. No entanto, algumas destas substâncias podem ter potencial terapêutico, enquanto outras podem produzir efeito colateral devido à sua toxicidade, especialmente hepatotoxicidade (IVORRA et al., 1989; WANG; NG, 1999; BAE et al., 1999; LAMBA et al., 2000; PÉREZ-GUTIÉRREZ, 2002).

Dentre as classes fitoquímicas que apresentam atividade hipoglicemiante, destacam-se os flavonoides, os quais podem aumentar a liberação de insulina das ilhotas de Langerhans de maneira dose-dependente, estimulando os efeitos da insulina nas células através de segundo mensageiro, melhorando as desordens no metabolismo lipídico e inibindo o processo inflamatório causado por radicais livres (NEGRI, 2005).

Sezik et al. (2005) e Leite et al. (2007), relacionam que, entre os flavonoides, o controle da glicemia desencadeada por alguns extratos vegetais pode ser inferido pela presença de C-glucosídeos presentes em algumas Caesalpiniaceae. Ainda com relação aos flavonoides C-glicosídeos, além do controle glicêmico, trabalhos

demonstraram propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, as quais estão diretamente relacionadas com o diabetes tipo II e suas complicações (ANDRADE-CETTO; WIEDENFEL, 2001; KÜPELI et al., 2004; HASEGAWA et al., 2008; SHIBANO et al., 2008).

- *Parkinsonia aculeata* L. (Caesalpiniaceae)

Parkinsonia aculeata L. (Caesalpiniaceae) é uma árvore abundante das zonas áridas, semiáridas e subúmidas compreendida entre o sul dos Estados Unidos da América e o norte do Uruguai (HAWKINS et al., 2007), vulgarmente conhecida como vassoura, espinho Jerusalém, talo verde mexicano ou turco (CORRELL; JOHNSTON, 1970). Essa espécie atinge entre 4-10 m de altura, seu tronco e galhos são verdes (Fig. 2A), com espinhos medindo de 7-12 mm de comprimento (Fig. 2B). Apresenta folhas medindo de 20-40 cm de comprimento, contendo de 20 a 30 pares de folíolos ovais 3-8 mm (Fig. 2C) e ramos de flores amarelas com cinco pétalas (Fig. 2D) (DIVYA et al, 2011; PEÑA-CHOCARRO, 2006). A *P. aculeata* é utilizada como uma árvore ornamental e na medicina tradicional são usados infusões e decóctos de folhas, flores e frutos. O macerado das flores e folhas em álcool é utilizado como tratamento do reumatismo (DIVYA et al., 2011; ORWA et al., 2009).



Figura 2 – *Parkinsonia aculeata*: detalhe do caule (A), dos espinhos (B), das folhas (C) e das flores (D). Fonte: Franco, E.S. (2011).

De modo geral, a *P. aculeata* tem atraído a atenção de muitos pesquisadores nos últimos anos, devido ao aumento do uso do extrato aquoso de suas folhas na medicina popular. No norte da Nigéria e da Índia são utilizadas para tratamento de hepatopatias, doenças bacterianas, febre tifóide, diabetes, tripanossomíase e icterícia (HASSAN et al., 2008). Contudo, foi referida à *P. aculeata* efeito hepatoprotective, antioxidante (HASSAN et al., 2008; MRUTHUNJAYA; HUKKERI, 2008), antiemético (CRUZ-VEJA et al., 2000), antiespermatogénica (GUPTA et al., 2007) e antimicrobiana (ALI et al., 1999). No México, a *P. aculeata* é amplamente utilizada na medicina tradicional como hipoglicemiante (ANDRADE-CETTO; HEINRICH, 2005).

Foi registrada a ocorrência da *P. aculeata* na região do Xingó, Nordeste do Brasil, onde é conhecida popularmente como planta antidiabética. Segundo informações da comunidade local, a preparação tradicional é sob a forma de infusão da parte aérea da planta (~15g/L) e ingerida durante o dia para controlar as complicações relacionadas ao diabetes e dislipidemias (De-ALMEIDA et al., 2005). Estudos em modelos ratos diabéticos revelaram que uma fração solúvel em água, do extrato hidroetanólico e metanol de *P. aculeata*, reduziram os níveis de glicose no sangue e na urina, e melhoraram os parâmetros bioquímicos e fisiológicos relacionados ao metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas (LEITE et al., 2007 e 2011; MARZOUK et al., 2013).

Quimicamente, Bhatia; Gupta; Seshadri (1966) foram os primeiros a relatarem a existência de três C-glicosídeos nas folhas de *P. aculeata*. O primeiro (epi-orientina) é um C-glicosídeo da luteolina, que se assemelha à orientina na composição, reações químicas e espectros de UV e de IV, mas difere em peso molecular e rotação, podendo ser um epímero de orientina. O segundo (Parkinsonin-A), que é um C-glicosídeo de 5-O-metil luteolina, o qual está intimamente relacionado à orientina. O terceiro (Parkinsonin-B) é um C-glicosídeo de 5,7-di-O-Metil luteolina, que tem estereoquímica relacionada com epi-orientina. Em 1980, Besson et al. apresentaram as únicas flavonas C-glicosiladas isoladas de folhas *P. aculeata*, que eram: orientina (em vez de epiorientina), iso-orientina (em vez de Parkinsonin-A), vitexina e isovitexina (em vez de Parkinsonin-B). Por sua vez, El-Sayed et al. (1991) relataram que os extratos metanólicos (80% e 50%) das folhas de *P. aculeata* apresentavam vários flavonoides, incluindo na época novas flavonas C-glicosiladas (orientina, iso-orientina, vitexina, iso-vitexina, lucenin-II,

vicenin-II, diosmetin 6-C- β -glicosídeo, apigenina, luteolina, kaempferol e chrysoeriol). Nas últimas investigações quanto aos componentes fitoquímicos foi incluída uma nova flavona epoxi-iso-pentylflavanone (ALI et al., 2005).

Leite et al. (2007), prévio ao estudo farmacológico quanto à atividade hipoglicemiante, realizaram uma triagem fitoquímica do extrato hidroalcoólico obtido das folhas de *P. aculeata*, a qual constatou a presença de taninos, esteróides e uma alta concentração de flavonoides. E segundo Cazarolli et al. (2006 e 2009), os efeitos benéficos dos flavonoides presentes na *P. aculeata* são refletidos no controle do diabetes frente à melhoria da tolerância da glicose, do perfil lipídico, da biossíntese de glicogênio, da captação de insulina e sua sinalização.

Diante das evidências supracitadas, o escopo deste estudo é avaliar os efeitos bioquímicos e moleculares do extrato hidroalcoólico (HA) e partição (HAP - HA/acetato de etila) de *P. aculeata* sobre o perfil glicêmico de ratos *Wistar* com Síndrome Metabólica (SM) induzida por Dieta Ocidentalizada (DO).

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito antidiabético de *Parkinsonia aculeata* L. (Caesalpinaceae) em ratos *Wistar* com síndrome metabólica.

3.2 Objetivos Específicos

- Obter extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*;
- Obter a partição polar do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* com acetato de etila;
- Determinar a toxicidade aguda (DL₅₀) do extrato hidroalcoólico e da partição polar de *P. aculeata* em camundongos *Swiss webster*;
- Induzir Síndrome Metabólica (SM) em ratos *Wistar* utilizando Dieta Ocidentalizada (DO);
- Avaliar a evolução ponderal de ratos *Wistar* alimentados com DO, antes e após os tratamentos, com o extrato hidroalcoólico ou partição polar de *P. aculeata*;
- Determinar a glicemia de jejum, a tolerância oral à glicose e a resistência à insulina nos ratos *Wistar* com SM, antes e após o tratamento, com o extrato hidroalcoólico ou partição polar de *P. aculeata*;
- Determinar o perfil lipídico (colesterol total, Triglicérides, HDLc e LDLc) nos ratos *Wistar* com SM, antes e após o tratamento, com o extrato hidroalcoólico ou partição polar de *P. aculeata*;
- Determinar os níveis de glicogênio hepático e muscular nos ratos com SM, após o tratamento, com o extrato hidroalcoólico ou partição polar de *P. aculeata*;
- Determinar os níveis séricos das citocinas IL-6, IL-8, TNF- α , corticosterona e insulina em ratos *Wistar* com SM, após o tratamento, com o extrato hidroalcoólico ou partição polar de *P. aculeata*;
- Identificar, entre as propostas de tratamento (extrato hidroalcoólico ou partição polar de *P. aculeata*), qual apresenta melhor atividade anti-hiperglicêmica e/ou anti-hiperlipidêmica.

4 METODOLOGIA

4.1 Material Botânico

O material botânico foi coletado na região de Xingó, localizado no semiárido nordestino, entre os estados de Alagoas, Bahia, Pernambuco e Sergipe, correspondendo a uma área aproximada de 45.000 km², sendo essa cortada pelo rio São Francisco. A planta foi identificada pela Botânica Hortensia Pousada Bautista (INCRA-BA) e uma exsicata foi depositada (Nº 500) no herbário do Xingó (Canindé de São Francisco, Sergipe, Brasil).

4.2 Obtenção dos Extratos Orgânicos

As partes aéreas da *Parkinsonia aculeata* foram secas em estufa, com circulação forçada a 50°C, e trituradas em moinho de facas até a pulverização. A droga vegetal obtida foi armazenada sob refrigeração até o momento de ser submetida ao processo de extração.

- Extração direta e partição do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata*:

- Extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* - HA

O extrato hidroalcoólico foi obtido a partir da maceração do material vegetal (500 g) em etanol/água (1: 1, v / v) sob agitação mecânica (TECNAL[®], modelo TE-1400), durante 48 horas a 23°C, e posteriormente filtradas em papel de filtro qualitativo. O material vegetal residual foi novamente submetido à extração com a solução hidroalcoólica 50%, sendo esse processo repetido por seis vezes para completa exaustão do material vegetal. Em seguida, o extrativo foi concentrado em evaporador rotativo (TECNAL[®], modelo TE-211) para total eliminação do etanol. Após a retirada do etanol, o material foi separado em duas partes: uma congelada e liofilizada, cujo produto foi identificado como extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) e na outra o extrativo foi apenas concentrado em evaporador rotativo (extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* sem solvente) (Fig. 3).

- Partição do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* – HAP

O extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* sem solvente foi submetido à partição com acetato de etila (1:1). Essa mistura foi colocada em funil de decantação para obtenção da fração polar. Posteriormente, a fração polar foi colocada em evaporador rotativo para remoção de solvente residual, seguida de congelamento, para ser submetida ao processo de liofilização. O produto obtido foi identificado como extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* partição com acetato de etila (HAP) (Fig. 3).

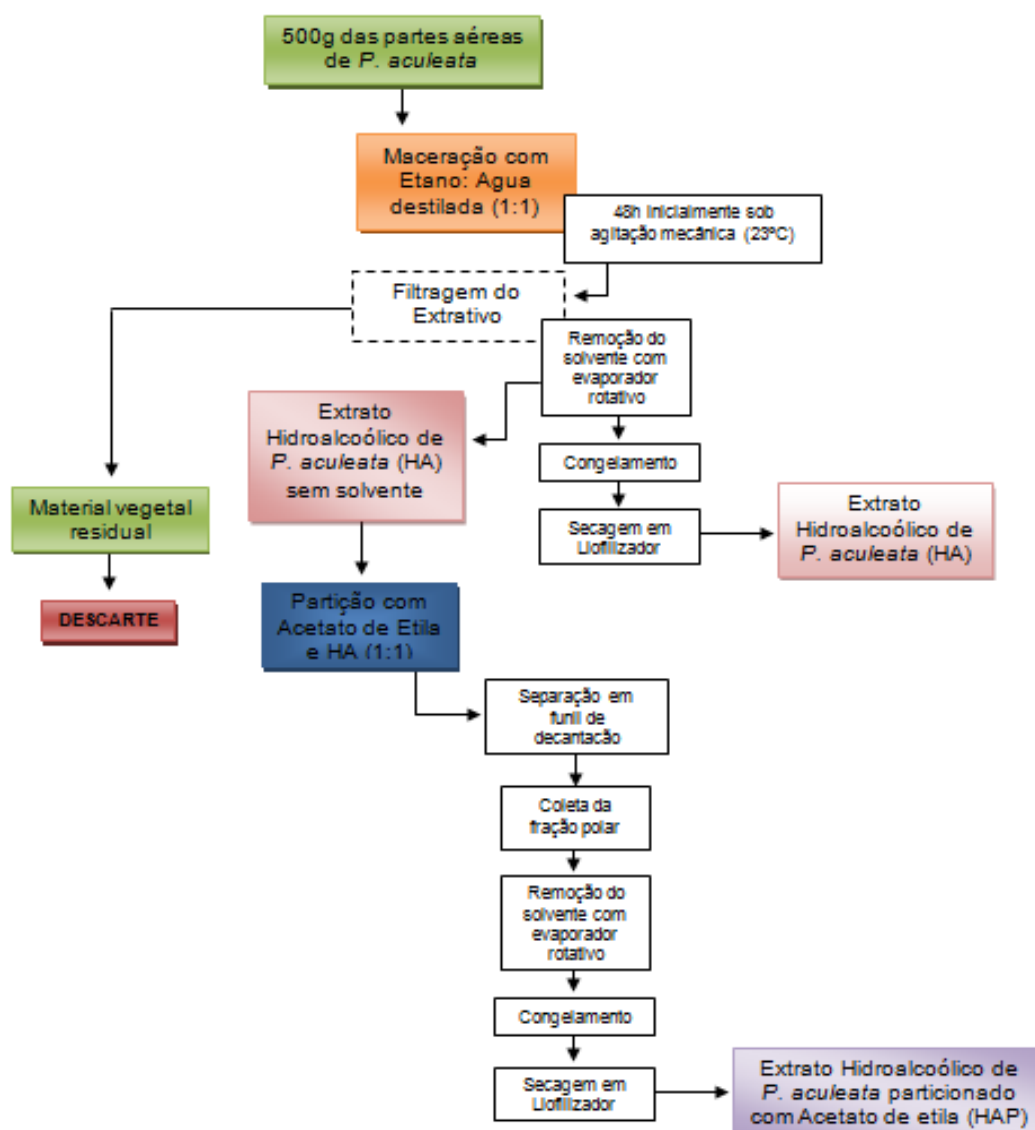


Figura 3 - Fluxograma para obtenção do extrato hidroalcoólico de *Parkinsonia aculeata* (HA) e sua fração polar através de partição com acetato de etila (HAP).

4.3 Modelo Animal e Princípios Bioéticos

Para determinação da toxicidade aguda dos extratos orgânicos de *P. aculeata*, foram utilizados 12 camundongos fêmeas *Swiss webster*, não-isogênicas, nulíparas, (25 - 30 g), provenientes do Biotério do Laboratório de Immunopatologia Keizo Asami (LIKA - UFPE). Todos os animais passaram por uma adaptação de 72 horas antes de cada ensaio e foram mantidos sob condições padrões (temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, umidade relativa do ar de 30–70% com controle do ciclo claro/escuro). Os animais tiveram acesso à ração comercial (Presence[®]) e à água *ad libitum* antes dos experimentos.

Para a indução e o tratamento da Síndrome Metabólica, foram utilizados 42 ratos *Wistar* machos com peso inicial (45-55g) aos 21 dias de vida, provenientes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco, que receberam dieta e água *ad libitum*, de acordo com o grupo experimental que pertenciam, descrito abaixo.

Estes estudos foram aprovados e registrados pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, sob o nº 23076.035789/2012-03. Os procedimentos adotados nos experimentos seguiram as normas da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL).

4.4 Avaliação da Toxicidade Aguda *in vivo* do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* e da sua partição polar com acetato de etila - Método de Classes (OECD, 2001)

A toxicidade aguda por gavagem (v.g) foi realizada utilizando-se camundongos *Swiss webster* fêmeas (n=6 animais/grupo). Os animais foram mantidos em jejum prévio de 12 horas e foram pesados antes de serem tratados com o extrato hidroalcoólico (HA) ou partição polar de *P. aculeata* (HAP) (5000mg/kg, 2500 mg/kg, 1250 mg/kg, 500 mg/kg ou 250 mg/kg). O grupo controle recebeu água destilada (5mL/kg; v.g.). Ocorrendo mortalidade de 2-6 animais até o 14º dia, administrou-se a dose subsequente menor até possibilitar a estimativa de uma faixa de DL50%, conforme os padrões da *Globally Harmonised System* (GHS) (OECD-423/2001).

4.5 Modelo Experimental

Foram utilizados 42 ratos *Wistar* machos com peso inicial (45-55g) aos 21 dias de vida, provenientes do biotério de criação do Departamento de Nutrição da Universidade Federal de Pernambuco.

Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno (n=3/caixa) sob condições constantes de temperatura ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), umidade relativa de 55-60%, e receberam água *ad libitum* e iluminação em ciclo invertido (20h00 – 08h00: claro; 08h00 – 20h00: escuro), visando mimetizar o ambiente natural dos roedores.

Inicialmente, os animais foram divididos em dois grupos de acordo com a dieta fornecida: 1) grupo dieta padrão de laboratório controle Dieta Presence® (DP) e 2) grupo experimental, composto por seis subgrupos (n=6), todos alimentado com Dieta Ocidentalizada (DO) (figura 4) durante 150 dias. Os detalhes da dieta estão descritos no item 4.6.

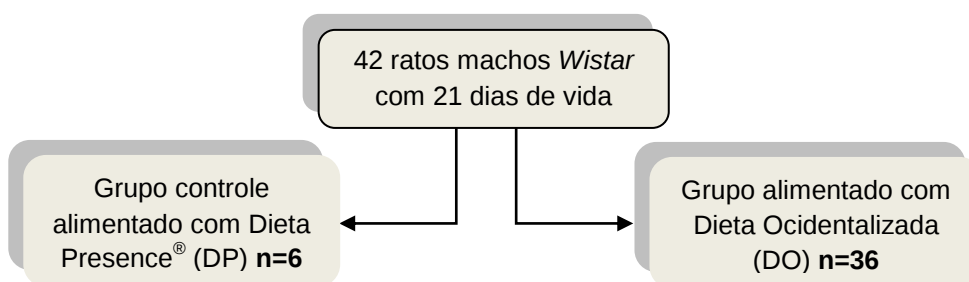


Figura 4 – Formação dos grupos experimentais (n=42)

4.6 Dieta e Tratamento

A Dieta Ocidentalizada (DO) experimental é caracterizada por apresentar um maior teor de lipídios saturados, quando comparada à dieta padrão para animais de laboratório. A dieta foi constituída de alimentos hiperenergéticos, triturados e misturados, formando *pellets* e ofertados aos animais. Os dados sobre a composição da dieta já foram publicados em trabalhos anteriores do grupo (FERRO-CAVALCANTE et al., 2013; FERRO-CAVALCANTE et al., 2014).

Também foi utilizado o Mix de mineral AIN-93G-MX (Rhoster®) essencial para a etapa de crescimento, do desmame até os 60 dias de vida, e em seguida alterado para o Mix de mineral AIN-93M – MX (Rhoster®), utilizado na manutenção dos

animais adultos. A composição percentual centesimal dos macronutrientes das dietas em relação ao seu valor energético encontra-se apresentado no quadro 2.

Quadro 2 - Composição de macronutrientes segundo o Valor Energético Total (VET) da dieta normocalórica para roedores (Presence®) e da Dieta Ocidentalizada elevada em lipídeos, açúcar simples e sódio.

Dieta	Proteína (% kcal VET)	Carboidrato (% kcal VET)	Lipídio (% kcal VET)	VET (kcal/g)
Ocidentalizada crescimento	19	46	35	4,04
Ocidentalizada manutenção	15	51	34	4,08
Presence**	26	63	11	3,6

**Os cálculos da composição centesimal de macronutrientes foram baseados nas informações nutricionais enviadas pela empresa fornecedora dos produtos e na Tabela Brasileira de Composição de Alimentos (TACO).*

***Determinado pelo Instituto Adolfo Lutz, 1985.*

Completados 150 dias de consumo da DO, os 36 animais (DO) (divididos previamente em seis subgrupos) foram aleatoriamente redistribuídos entre os seis tratamentos: extrato hidroalcolico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 ou 65 mg/kg; extrato hidroalcolico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 ou 65 mg/kg; Metformina (500 mg/kg; v.o. - NETO et al., 2013) ou veículo (10 ml/kg), diariamente, durante 30 dias. O grupo que foi alimentado com DP recebeu veículo (10 mL/kg) por igual período de tempo, conforme exposto na figura 5.

Durante o período experimental, foi registrado um índice de mortalidade de 6,25% (n=3 animais), sendo o estudo finalizado com a utilização de 42 animais.

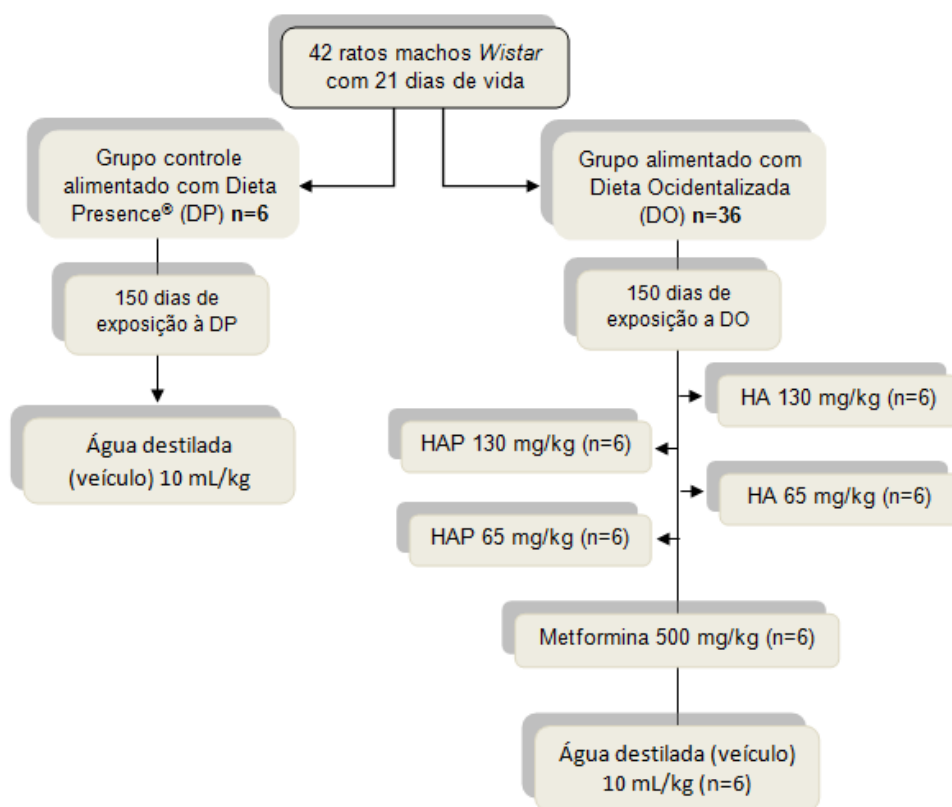


Figura 5 – Delineamento experimental dos grupos a serem tratados, durante 30 dias por via oral, com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) 130 ou 65 mg/kg; extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) 130 ou 65 mg/kg, Metformina (500 mg/kg) ou veículo (10 ml/kg).

4.7 Avaliações *in vivo*

Evolução Ponderal

A determinação da evolução corporal foi realizada utilizando balança eletrônica digital (marca YIHUA, modelo SF-400), uma vez por semana, a partir do 21º dia até a instalação da Síndrome Metabólica, no 150º dia, e durante o tratamento que ocorreu do 150º ao 180º dia.

Determinação das Medidas Murinométricas

As medidas de circunferência abdominal, circunferência torácica e comprimento naso-anal foram determinadas durante a indução da Síndrome Metabólica aos (90, 120, 150 dias) e ao final do tratamento (180 dias). A partir

destes parâmetros, mais o peso corporal, foram determinados o Índice de Massa Corporal (IMC) e o Índice de Lee nos tempos mencionados (NOVELLI, 2007).

$$IMC = \frac{Peso (g)}{(Comprimento\ naso - anal (cm))^2}$$

$$Lee = \left(\frac{\sqrt[3]{peso (g)}}{comprimento\ naso - anal (cm)} \right) / 10$$

Determinação do Perfil Hematológico

Ao atingir 150 e 180 dias de consumo da dieta, todos os animais foram colocados em jejum por 8 horas e anestesiados com quetamina (50mg/kg; i.p.) para serem coletadas amostras de sangue através do plexo infra-orbital com o auxílio de tubo capilar (microhematócrito) para avaliação do perfil hematológico.

Os parâmetros hematológicos (hemácias $10^6/\text{mm}^3$, hemoglobina g/dL, hematócrito%, plaquetas $10^6/\text{mm}^3$, leucócitos $10^6/\text{mm}^3$ e linfócitos $10^6/\text{mm}^3$) foram determinados imediatamente após a coleta, através do analisador automático de células hematológicas ABX Micros 60 HORIBA®.

Determinação do Perfil Lipídico

Aos 150 dias de consumo da dieta DO (período necessário para indução da Síndrome Metabólica) e aos 180 dias (final do tratamento), todos os animais foram colocados em jejum por 10 horas e anestesiados com enflurano (por via inalatório) para serem coletadas amostras de sangue através da punção do plexo infra-orbital com o auxílio de tubo capilar (microhematócrito com heparina) para avaliação do perfil lipídico [Colesterol total (CTO), Triglicerídeos (TG) e *High-Density Lipoprotein cholesterol* – HDL-c]. As amostras foram centrifugadas a 7500 r.p.m. por 15 minutos para obtenção do soro, o qual foi utilizado para análise do colesterol total e das frações através do método de diagnóstico por química seca da VITROS 250 Johnson & Johnson®.

O *Low-Density Lipoprotein cholesterol* – LDL-c foi calculado segundo a fórmula de Friedewald: $LDL-c = (CTO - HDL) - (TG/5)$

Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)

Aos 90, 120 e 150 dias de consumo da DO ou DP, os animais foram submetidos ao TOTG. Para esse teste, os animais foram colocados em jejum de seis horas e foi coletado sangue através da punção da ponta da cauda para determinação da glicemia (T0). Em seguida, foi administrada solução glicosada 50% (2g/kg) por gavagem, para que aos 30, 60, 90 e 120 minutos novas coletas de sangue fossem efetuadas para determinar a curva glicêmica, através da interpolação dos pontos da glicêmica versus os tempos de coleta, acima mencionados (*American Diabetes Association - ADA, 2010; SIEVENPIPER et al., 2000*).

Teste de Tolerância à Insulina (TTI)

Para a avaliação da sensibilidade à insulina, aos 150 dias de consumo da DO ou DP, os animais foram submetidos ao TTI. Nesse teste foi administrada insulina na dose de 50 μ U/100 g de peso corpóreo na veia peniana e foi determinada a concentração de glicose sérica em diferentes tempos de coleta de sangue (0 – tempo basal a 16 minutos) após a administração da insulina. Esse teste foi realizado com os animais anestesiados com enflurano (via inalatória) (PANVELOSKI-COSTA et al., 2011). Posteriormente, foi calculada a constante de decaimento da glicose (KITT, %/min.) a partir da regressão linear das concentrações de glicemia obtidas durante o TTI (SERAPHIM; NUNES; MACHADO, 2001).

4.8 Avaliações ex vivo

Método de Eutanásia e Obtenção do Sangue

Ao final do experimento, os animais foram deixados em jejum por 10 horas, posteriormente anestesiados com anestésico inalatório (enflurano) e submetidos à eutanásia através de decapitação. No momento da decapitação, o sangue dos animais foi coletado em dois tubos diferentes: um com anticoagulante (EDTA) e outro em tubo seco. Esse último foi imediatamente centrifugado a 7500 r.p.m. por 15 minutos, para obtenção do soro que foi utilizado nas análises das citocinas, insulina, corticosterona, perfil lipídico e de proteínas totais. O sangue coletado em tubo com EDTA foi utilizado para determinar o perfil hematológico.

Dosagem de IL-6, IL-8 e TNF- α no soro

A dosagem das interleucinas IL-6, IL-8 e TNF- α foi realizada utilizando o soro dos animais alimentados com DO e tratados durante 30 dias com HAP130, HAP65, HA130, HA65, Metformina ou veículo, ou alimentados com DP. Os protocolos empregados seguiram as especificações correspondentes aos Kit's, padronizado para cada variável: IL-6 (*Rat IL-6 Platinum ELISA*®), IL-8 (*Rat IL-8*) e TNF- α (*Rat TNF-alpha Platinum ELISA*®)

Dosagem de Corticosterona Sérica

A dosagem de corticosterona foi realizada ao final dos tratamentos (180 dias), concomitante ao consumo, utilizando kit ELISA. O protocolo para determinação dessa variável seguiu o indicado pelo fabricante (Corticosterone EIA Kit) Enzo Life Sciences®.

Determinação de Insulina Sérica

A insulina sérica de todos os animais foi determinada ao final do experimento. Para este processo foi utilizada Kit Elisa para dosar insulina em soro de ratos (Cayman Chemical®), utilizando o protocolo indicado pelo fabricante.

Modelo de Avaliação da Homeostase (HOMA)

O HOMA foi determinado segundo Matthews et al. (1985), que emprega as medidas das glicemias e de insulina de jejum para indicar o índice de resistência à insulina.

Determinação do Peso Relativo dos Órgãos e Tecidos

Após a eutanásia, os órgãos (coração e fígado) e tecidos (adiposo epididimal - TAE e adiposo abdominal - TAA) dos animais foram imediatamente retirados e pesados em balança digital com precisão de 0,005 gramas. Os valores foram expressos em peso relativo (grama de órgão ou tecido / cada 100 gramas de peso corporal total), obtidos através do seguinte cálculo: peso do tecido ou órgão do animal x 100) / peso corporal do animal no momento da eutanásia.

Determinação da Concentração de Glicogênio Hepático e Muscular

Após a pesagem do fígado total, uma amostra de 500 mg aproximadamente e 0,70 mg do músculo tibial foram coletadas. O conteúdo de glicogênio hepático e muscular foram determinados pelo método de Hassid et al. (1957). As amostras de fígados e músculo tibial foram digeridas inicialmente por 30 min para a extração do glicogênio em solução KOH 5,5M, em banho fervente. A extração final foi feita em duas etapas através da precipitação com etanol a 70%, ainda em banho fervente. Utilizando-se uma solução de antrona 1M em ácido sulfúrico (responsável pela hidrólise do glicogênio, transformando-o em glicose), determinou-se o conteúdo de glicogênio. A antrona reage com a glicose produzida, tornando a amostra esverdeada (método colorimétrico). O produto da reação foi determinado a 540nm de absorbância em espectrofotômetro (Femto® 700 Plus). Os dados foram expressos como mg de glicogênio por 100 mg de tecido.

4.9 Análise Estatística

Os resultados foram expressos por média $\pm$ erro padrão da média e para fins estatísticos, sendo considerada a significância mínima de 0,05 ($p < 0,05$). A normalidade das medidas foi avaliada através do teste de *Kolmogorov Smirnov*. Os dados paramétricos foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ou ANOVA, ou uma via com aplicação de pós-teste de *Turkey*. Os dados foram analisados estatisticamente pelo programa *Prism*® 4.00 (*GraphPad Software Inc.*, San Diego, California, US).

5 RESULTADOS

I - Indução da Síndrome Metabólica em ratos *Wistar* por Dieta Ocidentalizada

- Evolução Ponderal

A evolução ponderal dos animais alimentados com a Dieta Ocidentalizada (DO) revela que, a partir da décima semana de consumo dessa dieta, todos os componentes dos subgrupos demonstraram peso corporal significativamente maior ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo controle Dieta Presence® (DP) e assim se mantiveram até a 22ª semana. Esse aumento em percentual variou de $23,01\% \pm 0,78\%$ (10ª semana) a $23,85\% \pm 0,96\%$ (22ª semana) (Fig. 6).

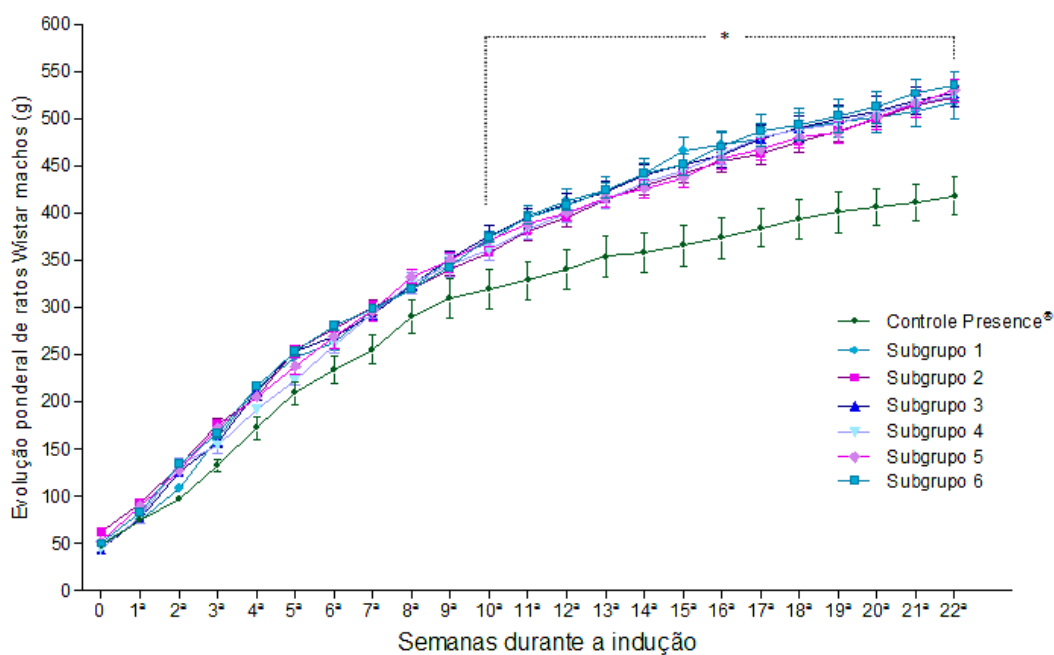


Figura 6 - Evolução ponderal (gramas) semanal de ratos Wistar machos, alimentados com Dieta Ocidentalizada ou ração padrão de laboratório (controle Presence®), do pós-desmame até a 22ª semana (150 dias). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ animais/grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* $^*(p < 0,05)$. Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

- Medidas Murinométricas

A tabela 1 apresenta os valores referentes ao Índice de Massa Corporal (IMC), Índice de Lee (ILee), Medida da Circunferência Torácica (MCT) e Abdominal (MCA) dos animais alimentados com DP ou DO, aos 90, 120 e 150 dias. Conforme pode ser observado, o IMC dos subgrupos alimentados com DO, 1/6 aos 90 dias e 4/6 aos 150 dias, apresentaram aumento médio significativo ($p < 0,05$) de 12,68% e 28,26%, respectivamente, comparado ao grupo DP. Quanto ao ILee, os subgrupos alimentados com DO 4/6 aos 150 dias apresentaram aumento médio significativo ($p < 0,05$) de 11% comparados ao grupo DP. O MCT apresentou aumento médio significativo ($p < 0,05$) de 9,30% em 2/6 subgrupos aos 90 dias comparados ao grupo DP. Por fim, a MCA apresentou aumento médio significativo ($p < 0,05$) em 3/6 aos 90 dias, 4/6 aos 120 dias e 1/6 aos 150 dias, respectivamente de 10,76%, 10,72% e 10,65% comparados ao grupo DP.

Tabela 1 – Índice de Massa Corporal (IMC), Índice de Lee (ILee), Medida da circunferência torácica (MCT) e Medida da circunferência abdominal (MCA) de ratos *Wistar* machos alimentados, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence®), determinados aos 90, 120 e 150 dias.

Variáveis/Unidade	Dias	Controle Presence®	Subgrupo 1	Subgrupo 2	Subgrupo 3	Subgrupo 4	Subgrupo 5	Subgrupo 6
IMC (g/cm ²)	90 dias	0,71 ± 0,02	0,80 ± 0,03	0,79 ± 0,04	0,80 ± 0,02	0,72 ± 0,02	0,84 ± 0,03*	0,79 ± 0,03
ILee (g/cm ³)		0,32 ± 0,00	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,31 ± 0,01	0,33 ± 0,00	0,32 ± 0,01
MCT (cm)		12,58 ± 0,57	14,17 ± 0,33*	13,50 ± 0,18	12,75 ± 0,25	13,50 ± 0,26	14,75 ± 0,34*	13,50 ± 0,43
MCA (cm)		15,42 ± 0,70	17,33 ± 0,33*	16,50 ± 0,45	17,00 ± 0,29*	16,58 ± 0,40	16,92 ± 0,49*	16,67 ± 0,60
IMC (g/cm ²)	120 dias	0,84 ± 0,06	0,89 ± 0,04	0,89 ± 0,07	0,90 ± 0,02	0,88 ± 0,03	0,91 ± 0,02	0,84 ± 0,07
ILee (g/cm ³)		0,34 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,34 ± 0,00	0,33 ± 0,01	0,34 ± 0,00	0,33 ± 0,01
MCT (cm)		15,08 ± 0,37	16,05 ± 0,35	15,58 ± 0,27	15,80 ± 0,39	15,42 ± 0,20	15,83 ± 0,17	15,17 ± 0,38
MCA (cm)		16,33 ± 0,31	18,17 ± 0,38*	18,00 ± 0,32*	18,17 ± 0,42*	18,00 ± 0,34*	17,67 ± 0,17	16,83 ± 0,28
IMC (g/cm ²)	150 dias	0,69 ± 0,05	0,92 ± 0,04*	0,88 ± 0,04*	0,80 ± 0,03	0,82 ± 0,03	0,89 ± 0,02*	0,85 ± 0,05*
ILee (g/cm ³)		0,30 ± 0,01	0,34 ± 0,00*	0,33 ± 0,01*	0,32 ± 0,00	0,32 ± 0,01	0,33 ± 0,00*	0,33 ± 0,01*
MCT (cm)		15,83 ± 0,28	16,58 ± 0,44	15,67 ± 0,31	15,83 ± 0,17	15,58 ± 0,15	16,17 ± 0,28	15,08 ± 0,30
MCA (cm)		17,17 ± 0,40	19,00 ± 0,56*	18,60 ± 0,40	18,00 ± 0,37	18,00 ± 0,58	18,58 ± 0,47	17,58 ± 0,54

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* *(p < 0,05). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

- Perfil Hematológico

A ingestão da Dieta Ocidentalizada, a partir do desmame até os 150 dias, não alterou significativamente os parâmetros hematológicos de nenhum dos subgrupos (tabela 2) quando comparado ao grupo DP. Resultado semelhante é observado no perfil das proteínas séricas (tabela 3).

Tabela 2 – Perfil hematológico dos ratos *Wistar* machos alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (controle Presence®).

Parâmetros hematológicos	Controle Presence®	Subgrupo 1	Subgrupo 2	Subgrupo 3	Subgrupo 4	Subgrupo 5	Subgrupo 6	Referencia literatura ¹
Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	8,61 ± 0,92	7,94 ± 1,52	7,82 ± 1,80	8,49 ± 0,33	8,72 ± 0,67	8,80 ± 0,40	8,73 ± 0,41	5 – 10
Hemoglobina (mg/dL)	15,98 ± 1,36	14,32 ± 2,72	14,92 ± 1,23	14,95 ± 0,29	15,15 ± 1,24	15,68 ± 0,81	15,28 ± 0,83	11 – 19
Hematócrito (%)	46,80 ± 5,86	43,12 ± 8,25	43,72 ± 7,24	45,72 ± 1,09	46,77 ± 3,81	47,53 ± 2,50	45,42 ± 3,27	35 – 57
Plaquetas (10 ⁶ /mm ³)	578,67 ± 218,01	544,83 ± 264,61	567,60 ± 346,30	638,17 ± 190,04	645,00 ± 190,56	593,00 ± 198,39	694,20 ± 55,89	200 – 1500
Leucócitos (10 ⁶ /mm ³)	8,23 ± 2,36	6,23 ± 1,49	8,36 ± 1,27	8,73 ± 2,07	9,07 ± 1,97	6,23 ± 1,81	9,34 ± 1,07	3 – 17
Linfócitos (10 ⁶ /mm ³)	68,17 ± 3,14	62,28 ± 8,57	60,30 ± 5,19	62,78 ± 6,37	62,62 ± 4,44	65,48 ± 8,45	57,36 ± 7,78	65 – 83

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* *(p < 0,05). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

¹HILLYER E QUESENBERRY (1997); SHARP e REGINA (1998).

Tabela 3 - Perfil das proteínas séricas de ratos *Wistar* machos, alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório.

Proteínas séricas	Controle Presence®	Subgrupo 1	Subgrupo 2	Subgrupo 3	Subgrupo 4	Subgrupo 5	Subgrupo 6	Padrão de referência ¹
Proteína total (mg/dL)	7,04 ± 0,11	6,55 ± 0,14	6,80 ± 0,47	6,66 ± 0,18	6,68 ± 0,08	6,95 ± 0,09	7,10 ± 0,23	6,50 ± 0,22
Albumina (mg/dL)	4,20 ± 0,07	4,29 ± 0,16	4,07 ± 0,40	4,21 ± 0,17	4,28 ± 0,07	4,33 ± 0,07	4,47 ± 0,15	3,50 ± 0,22
Globulina (mg/dL)	2,84 ± 0,06	2,26 ± 0,06	2,73 ± 0,14	2,45 ± 0,04	2,40 ± 0,04	2,62 ± 0,06	2,45 ± 0,14	2,33 ± 0,33

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* *(p < 0,05). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

¹HILLYER E QUESENBERRY (1997); SHARP e REGINA (1998).

- Perfil Lipídico

A verificação do perfil lipídico de todos os subgrupos, aos 150 dias de consumo de DO, revelou um quadro característico de dislipidemia. Os animais apresentaram um aumento médio significativo ($p < 0,05$) nos níveis de colesterol total (23,59%) e triglicerídeos (38,75%) quando comparados ao grupo DP (tabela 4).

Tabela 4 - Perfil lipídico (mg/dL) de ratos *Wistar* machos, alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence®).

Perfil lipídico	Controle Presence®	Subgrupo 1	Subgrupo 2	Subgrupo 3	Subgrupo 4	Subgrupo 5	Subgrupo 6	Padrão de referência ¹
Colesterol total	68,99 ± 1,46	84,46 ± 6,07*	86,22 ± 3,31*	85,79 ± 3,15*	83,99 ± 2,93*	84,97 ± 4,54*	86,15 ± 3,11*	78,50 ± 1,12
Triglicerídeos	96,77 ± 0,48	133,22 ± 5,89*	125,13 ± 9,50*	131,18 ± 5,93*	143,57 ± 4,93*	137,17 ± 3,11*	135,36 ± 6,15*	92,67 ± 2,03
HDL-c	28,87 ± 0,30	27,54 ± 0,67	27,22 ± 1,30	26,86 ± 0,37	26,20 ± 0,68	28,02 ± 1,19	26,42 ± 0,84	27,00 ± 1,24
LDL-c	20,76 ± 1,49	30,28 ± 5,92	33,97 ± 4,30	32,69 ± 2,93	29,07 ± 2,89	28,77 ± 3,49	30,99 ± 4,25	17,50 ± 0,99

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* * ($p < 0,05$). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

¹HILLYER E QUESENBERRY (1997); SHARP e REGINA (1998).

- Perfil Glicêmico

Teste de Tolerância Oral à Glicose

A figura 7 apresenta o perfil glicêmico do grupo controle alimentado com DP e dos subgrupos alimentados com DO nos tempos de 90, 120 e 150 dias, através do Teste de Tolerância Oral à Glicose. Por meio desse teste, em seus respectivos tempos, foi possível acompanhar a instalação das alterações glicêmicas nos subgrupos alimentados com a DO.

Observa-se que aos 90 dias de consumo da DO, 2/6 dos subgrupos apresentaram, nos tempos de 60 e 90 minutos, o transporte de glicose significativamente ($p < 0,05$) mais lento que aquele apresentado pelo grupo DP (Fig. 7A). Aos 120 dias, todos os subgrupos apresentaram, nos tempos de 90 e 120 minutos, concentração glicêmica significativamente ($p < 0,05$) superior àquela apresentada pelo grupo DP (Fig. 7B). E, aos 150 dias de consumo da dieta DO, todos os subgrupos nos tempos de 60, 90 e 120 minutos apresentaram nítida tolerância à glicose, mantendo concentrações séricas significativamente ($p < 0,05$) maiores do que aquelas apresentadas pelo grupo DP (Fig. 7C).

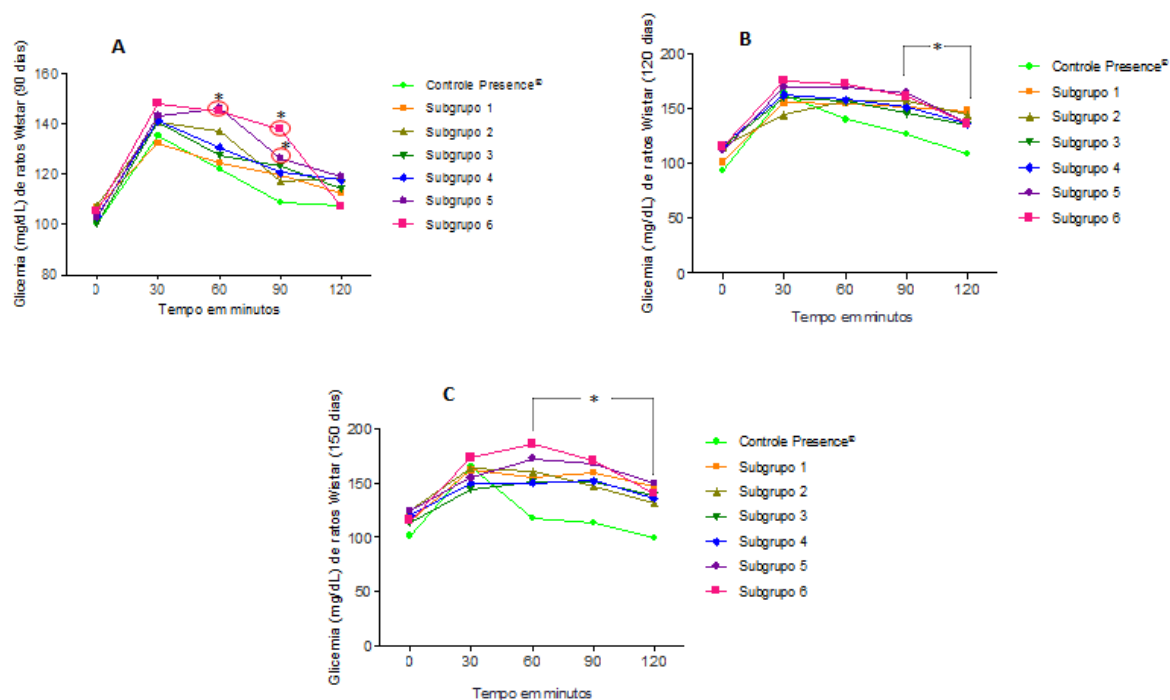


Figura 7 – Perfil glicêmico de ratos *Wistar* machos, alimentados durante 90 dias (A), 120 dias (B) e 150 dias (C) a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence®) e submetidos ao teste de tolerância oral a glicose (TTOG). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* * ($p < 0,05$). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

Teste de Resistência à Insulina

A figura 8 apresenta o perfil glicêmico do grupo controle alimentado com DP e dos subgrupos alimentados com DO nos tempos de 90, 120 e 150 dias, através do Teste de Resistência à Insulina (TRI), da glicemia de jejum e do Índice de Decaimento da Glicose (Kitt). O TRI foi empregado como complemento ao Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTOG) aos 150 dias, apresentado anteriormente, com o propósito de diagnosticar a nível molecular as alterações envolvidas no transporte da glicose para os tecidos.

Contrariamente ao observado nos animais alimentados com DP, o transporte de glicose para os tecidos foi significativamente ($p < 0,05$) reduzido nos animais alimentados com DO e, administração de insulina intravenosa não foi capaz de reverter esse quadro. Conforme ilustrado na figura 8A, a redução da concentração

sérica de glicose, do tempo zero até o final do teste (16 minutos) nos animais alimentados com DO foi significativamente menor ($p < 0,05$) quando comparados com o grupo DP em 26,08% e 51,29%, respectivamente.

Em relação à glicemia de jejum, foi verificado um aumento médio de 21,51% ($p < 0,05$) nos subgrupos alimentados com DO quando comparados com o grupo DP (Fig. 8B). O Kitt, determinado através da regressão linear negativa, revelou que o tempo de meia vida da glicose sérica apresentou um aumento médio de 75,63% ($p < 0,05$) nos subgrupos alimentados com DO, quando comparados ao grupo DP (Fig. 8C).

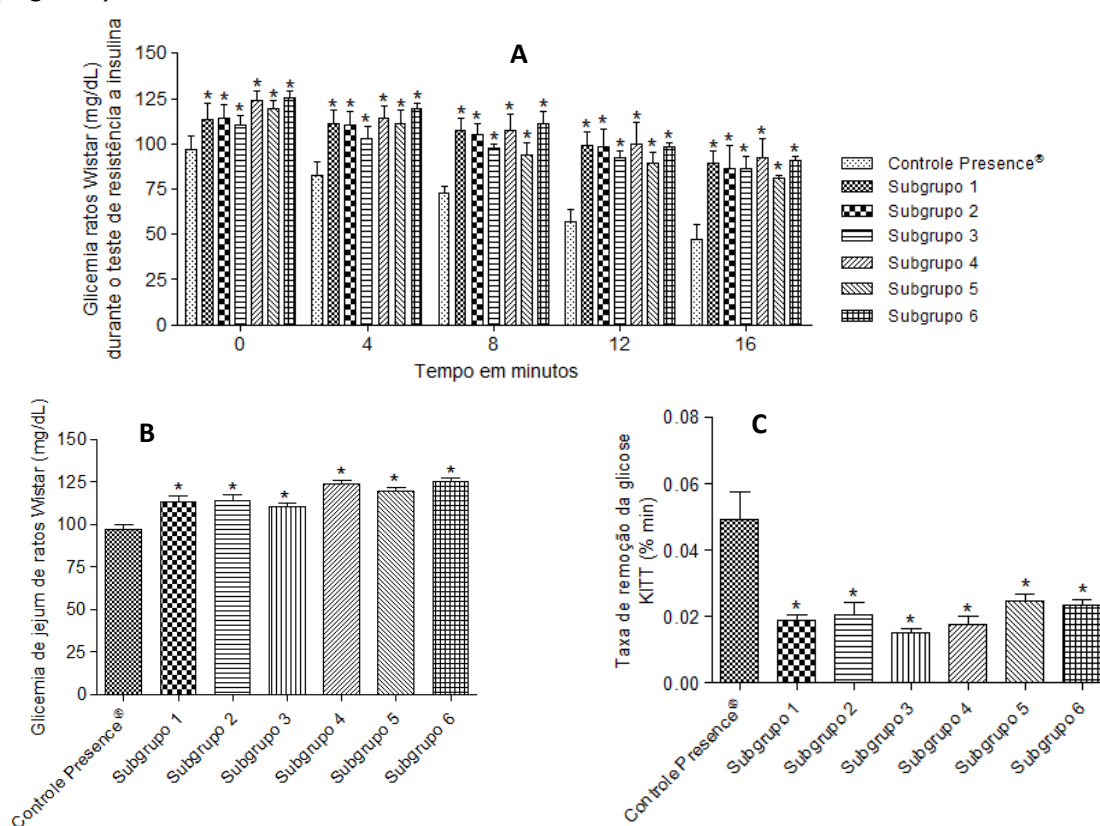


Figura 8 – Perfil glicêmico de ratos Wistar machos durante o Teste de Resistência à Insulina (TRI) (A); glicemia com seis horas de jejum antes do TRI (B); Taxa de Decaimento da Glicose (K_{ITT}) (C). Os animais foram alimentados durante 150 dias, a partir do desmame, com dieta ocidentalizada ou dieta padrão de laboratório (Presence®). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de Bonferroni * ($p < 0,05$). Legenda: (*) quando comparado cada subgrupo x grupo controle Presence®

II - Efeito do extrato hidroalcoólico (HA) e partição (HAP - HA/acetato de etila) de *P. aculeata* em ratos *Wistar* com Síndrome Metabólica, sobre:

- Evolução Ponderal

Na primeira semana de tratamento, o peso corporal dos animais alimentados com DO e concomitantemente tratados por via oral com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg) não diferiu daquele exibido pelo DO.

Na segunda semana de tratamento, o grupo HAP130 apresentou uma redução de 0,93% no seu peso corporal (variação entre a sua primeira e segunda semana), fato que fez o referido grupo não apresentar diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado com os grupos DP e DO. Ao verificarmos o ganho de peso na segunda semana, o grupo HAP130 apresentou uma redução significativa ($p < 0,05$) de 8,92% quando comparado ao grupo DO e um ganho significativo ($p < 0,05$) de 16,26% comparado ao DP (Fig. 9).

Na terceira e quarta semana de tratamento, os grupos HAP130 e Metformina não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparado tanto com o grupo DO quanto com o grupo DP. Contudo, ao avaliarmos separadamente esses grupos (HAP130 e Metformina), frente a cada controle (DO ou DP), verificamos que o HAP130, quando comparado com o grupo DO, apresentou redução no peso de 6,78% (terceira semana) e 2,95% (quarta semana), e quando comparado com o grupo DP, o HAP130 apresentou ganho de 13,51% (terceira semana) e 15,00% (quarta semana). Quanto ao grupo Metformina, esse apresentou redução de 7,19% (terceira semana) e 7,80% (quarta semana) quando comparado com o grupo DO e ganho de 13% (terceira semana) e 9,25% (quarta semana) quando comparado com o grupo DP (Fig. 9).

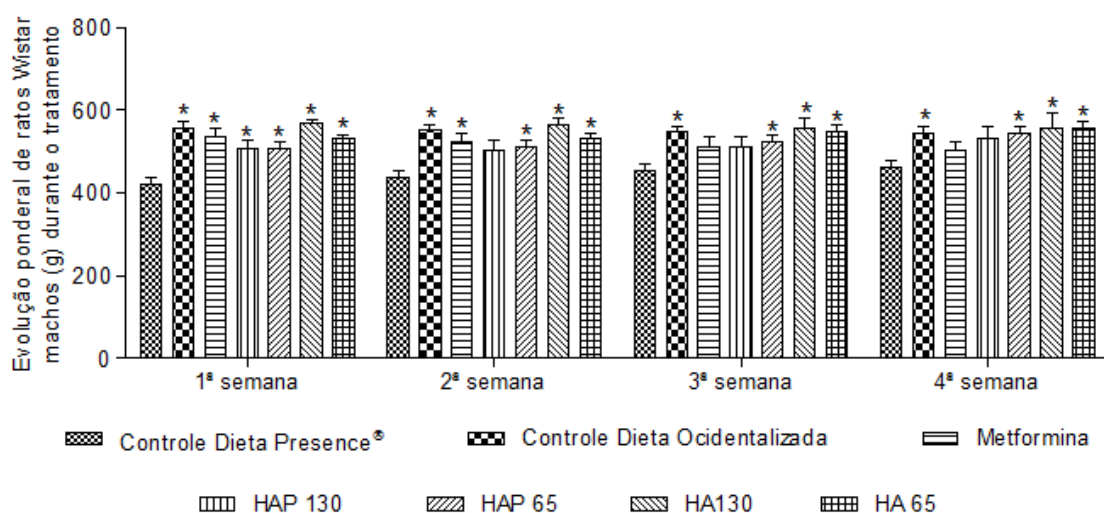


FIGURA 9 – Efeito do tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA - 130 ou 65 mg/kg), extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP - 130 ou 65 mg/kg), metformina (500 mg/kg) ou veículo (1ml/kg) - durante 30 dias consecutivos (do 150 aos 180 dias) sobre a evolução ponderal. Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence®; (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

- Medidas Murinométricas

Os valores referentes ao Índice de Massa Corporal (IMC), Índice de Lee (ILee), circunferência abdominal e circunferência torácica dos animais alimentados com DP, DO ou DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg) estão apresentados na tabela 5. Como pode ser verificado, os valores referentes ao IMC e circunferência abdominal dos grupos alimentados com DO e concomitantemente tratados com HAP130 ou metformina não diferiram dos registrados no grupo DP. Por outro lado, os grupos tratados com HAP130 ou HAP65 apresentaram ILee semelhante ao verificado no grupo DP. No que concerne o valor da circunferência torácica, os grupos tratados com HAP130, HA130 ou HA65 também foram comparáveis ao grupo ao DP.

Tabela 5 – Índice de Massa Corporal (IMC), Índice de Lee (ILee), Medida da circunferência torácica (MCT) e Medida da circunferência abdominal (MCA) de ratos *Wistar* machos, após tratamento oral com extrato de hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (controle Presence® e Dieta Ocidentalizada – 10 mL/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas).

Variáveis/Unidade	Controle Presence®	Grupo Dieta Ocidentalizada	Metformina	HAP 130	HAP 65	HÁ 130	HÁ 65
IMC (g/cm ²)	0,68 ± 0,01	0,80 ± 0,02*	0,77 ± 0,02	0,75 ± 0,03	0,80 ± 0,03*	0,90 ± 0,05*#	0,82 ± 0,02*
ILee (g/cm ³)	0,300 ± 0,003	0,320 ± 0,003*	0,320 ± 0,002*	0,300 ± 0,003	0,310 ± 0,004	0,330 ± 0,008*	0,320 ± 0,002*
MCT (cm)	18,42 ± 0,24	20,17 ± 0,28	18,83 ± 0,38	19,50 ± 0,66	20,42 ± 0,52*	20,42 ± 0,52*	20,83 ± 0,42*
MCA (cm)	15,92 ± 0,20	16,42 ± 0,27	15,17 ± 0,18#	15,58 ± 0,27	17,08 ± 0,24*	16,33 ± 0,33	16,33 ± 0,17

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* *(p < 0,05). Legenda: (*) em relação ao grupo controle Presence®; (#) em relação ao grupo controle Dieta Ocidentalizada.

O perfil lipídico dos animais alimentados com DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg) está registrado na figura 10. Como podemos verificar apenas os grupos tratados com HAP65, HA130 ou Metformina apresentaram concentração sérica de colesterol total semelhante ao DP. No que concerne à concentração dos triglicerídeos séricos, os grupos HAP130, HAP65 e Metformina não apresentaram nenhuma alteração quando comparado com o grupo DP. Ademais, os grupos tratados com HAP130 ou HA65 apresentaram significativo (p<0,05) aumento (34,53% e 38,32%, respectivamente) na concentração de HDL-c, quando comparado ao grupo DP.

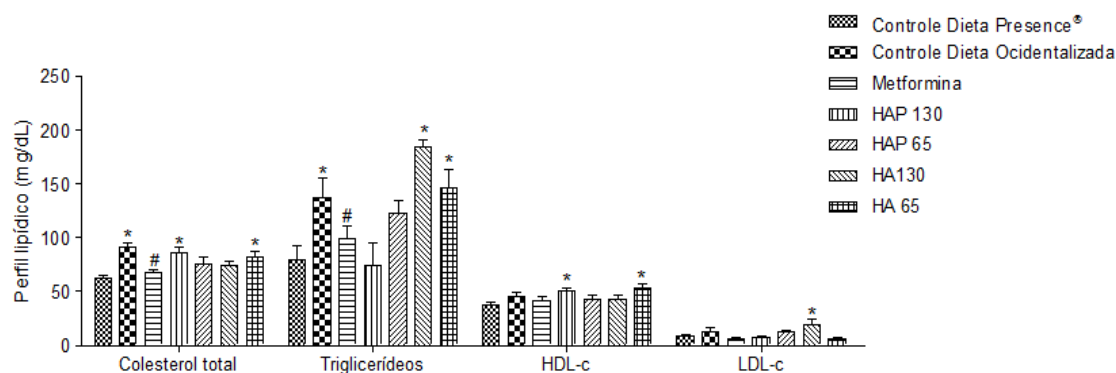


FIGURA 10 - Perfil lipídico (mg/dL) de ratos *Wistar* após o tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA - 130 ou 65 mg/kg), extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP - 130 ou 65 mg/kg), metformina (500 mg/kg) ou veículo (1ml/kg) - durante 30 dias consecutivos (do 150 aos 180 dias). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence®; (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

As tabelas 6 e 7 registram os valores correspondentes as variáveis hematológicas e das concentrações das proteínas séricas, respectivamente. Como pode ser verificado, nenhuma alteração referente a essas variáveis foi observada entre os grupos.

Tabela 6 – Perfil hematológico de ratos *Wistar*, após o tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas).

Parâmetros hematológicos	Controle Presence®	Dieta Ocidentalizada	Metformina	HAP 130	HAP 65	HA130	HA 65	Referencia literatura ¹
Hemácias (10 ⁶ /mm ³)	7,34 ± 0,36	7,00 ± 0,22	6,83 ± 0,16	6,57 ± 0,07	6,60 ± 0,11	7,05 ± 0,14	6,90 ± 0,12	5 – 10
Hemoglobina (mg/dL)	13,28 ± 0,58	13,10 ± 0,49	12,24 ± 0,30	12,67 ± 0,16	12,87 ± 0,17	13,42 ± 0,17	13,30 ± 0,16	11 – 19
Hematócrito (%)	37,58 ± 1,62	36,52 ± 1,34	34,74 ± 0,78	34,98 ± 0,60	35,48 ± 0,54	38,28 ± 0,64	37,33 ± 0,52	35 – 57
Plaquetas (10 ⁶ /mm ³)	485,20 ± 13,92	532,50 ± 14,72	511,80 ± 50,32	536,17 ± 42,99	539,50 ± 17,84	574,00 ± 35,22	557,17 ± 11,94	200 – 1500
Leucócitos (10 ⁶ /mm ³)	7,94 ± 1,15	4,62 ± 0,55	9,14 ± 1,57	6,78 ± 0,67	6,08 ± 0,67	5,58 ± 0,57	7,68 ± 1,15	3 – 17
Linfócitos (10 ⁶ /mm ³)	65,34 ± 2,42	72,92 ± 4,08	67,61 ± 2,97	58,87 ± 5,58	59,51 ± 1,82	70,00 ± 2,99	56,85 ± 5,37	65 – 83

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* *(p < 0,05). Legenda: (*) em relação ao grupo controle Presence®; (º) em relação ao grupo controle Dieta Ocidentalizada.

¹HILLYER E QUESENBERRY (1997); SHARP e REGINA (1998).

Tabela 7 - Perfil das proteínas séricas de ratos *Wistar* após o tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas).

Proteínas séricas	Controle Presence®	Controle Dieta Ocidentalizada	Metformina	HAP 130	HAP 65	HA130	HA 65	Padrão de referência ¹
Proteína total (mg/dL)	6,22 ± 0,18	6,08 ± 0,11	5,92 ± 0,12	6,12 ± 0,05	6,30 ± 0,06	5,80 ± 0,05	6,30 ± 0,03	6,50 ± 0,22
Albumina (mg/dL)	2,98 ± 0,08	2,95 ± 0,09	2,82 ± 0,08	3,10 ± 0,05	3,06 ± 0,07	2,80 ± 0,18	3,13 ± 0,04	3,50 ± 0,22
Globulina (mg/dL)	3,23 ± 0,13	3,13 ± 0,11	3,10 ± 0,06	3,02 ± 0,09	3,24 ± 0,06	2,84 ± 0,04	2,95 ± 0,14	2,33 ± 0,33

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* *(p < 0,05). Legenda: (*) em relação ao grupo controle Presence®; (º) em relação ao grupo controle Dieta Ocidentalizada.

¹HILLYER E QUESENBERRY (1997); SHARP e REGINA (1998).

- Níveis Séricos de Corticosterona

Os níveis séricos de corticosterona dos animais alimentados com DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg) estão registrados na figura 11. Foi possível identificar a concentração de corticosterona no grupo tratado com Metformina, significativamente ($p < 0,05$) reduzida (21,94%) quando comparada ao grupo DP. Os demais grupos não apresentaram nenhuma diferença estatisticamente significativa em relação ao grupo DO ou DP.

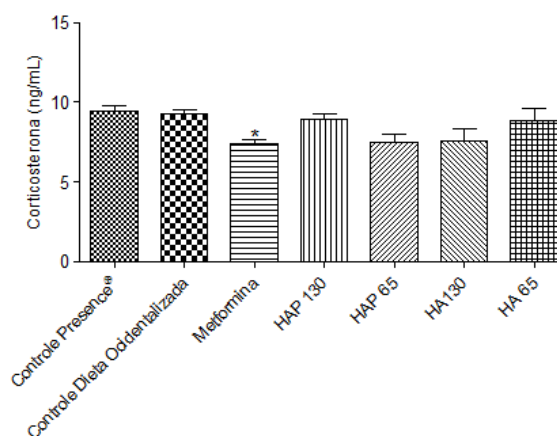


Figura 11 - Níveis séricos de corticosterona de ratos *Wistar* machos, após tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence®; (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

-Concentrações de IL-8, IL-6 e TNF- α

A figura 12 (A, B, C) apresenta os valores das concentrações séricas (pg/ml) das citocinas IL-8, IL-6 e TNF-alfa, respectivamente, dos animais alimentados com DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg). Analisando esses valores, podemos observar que não ocorreu alteração significativa ($p < 0,05$) quanto à concentração de IL-8 nos grupos tratados quando comparados ao grupo DP (Fig. 12 A).

A concentração de IL-6 em todos os grupos alimentados com DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg) apresentou-se significativamente ($p<0,05$) aumentada, quando comparada com o grupo DP. Entretanto, os grupos HAP130 e Metformina apresentaram uma redução significativa ($p<0,05$) na concentração de IL-6 de 37,74% e 16,07%, respectivamente, quando comparado ao grupo DO (Fig. 12 B).

Quanto à concentração de TNF- α , observa-se que essa se manteve significativamente ($p<0,05$) elevada nos grupos (DO, Metformina, HAP 65, HA 130, HA 65) quando comparada com o grupo DP. Em contrapartida, no grupo HAP 130, a concentração sérica de TNF- α não apresentou diferença significativa ($p<0,05$) comparada ao grupo DP, mas sim uma redução estatisticamente significativa ($p<0,05$) de 29,67% quando comparada com a DO (Fig. 12 C).

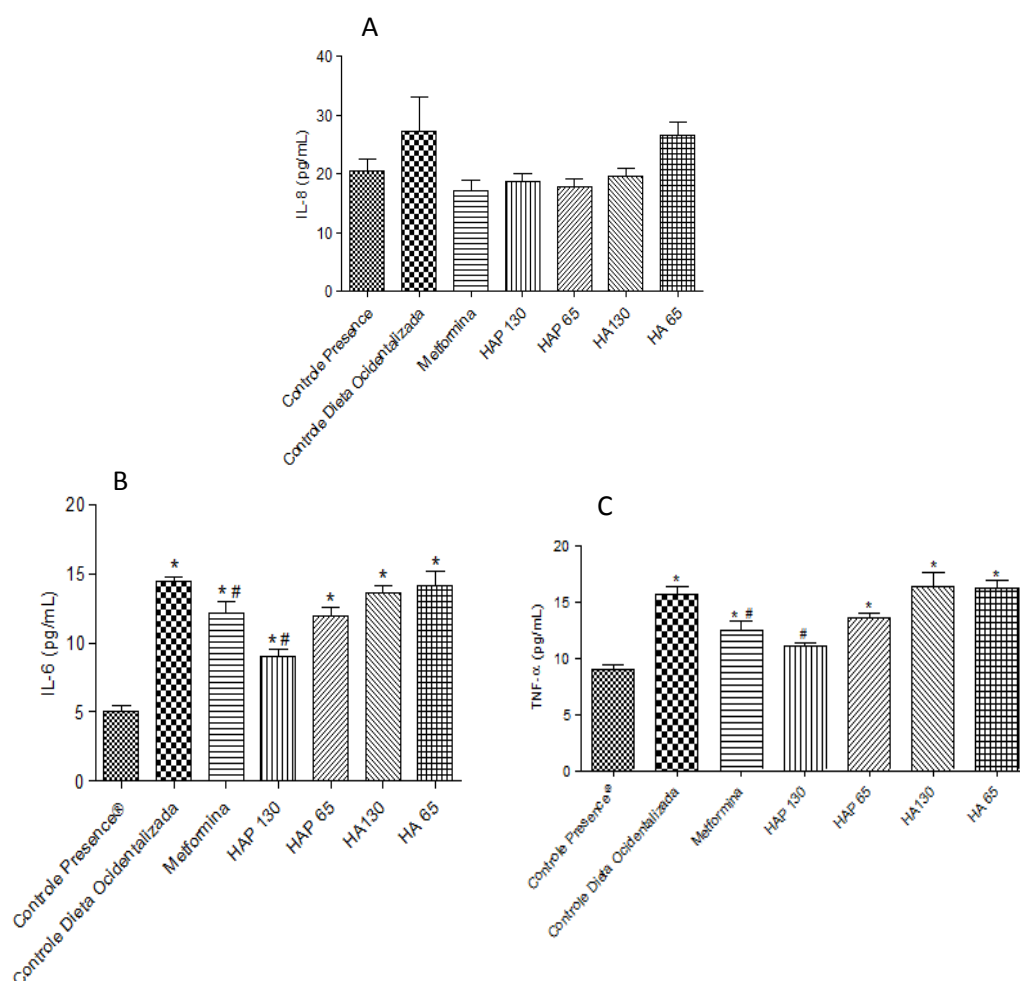


Figura 12 - Níveis séricos (pg/mL) de IL-8 (A), IL-6 (B) e TNF-α (C) de ratos *Wistar* machos após tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* (p < 0,05). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence®, (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

- Perfil Glicêmico

As figuras 13 e 14 registram os parâmetros relacionados ao processo de transporte de glicose aos tecidos: glicemia de jejum após o tratamento (Fig. 13 A), nível de insulina sérica (Fig. 13 B), índice de HOMA (Fig. 13 C) e Teste de Tolerância Oral à Glicose (TTOG) (Fig. 14 A, B e C) dos animais alimentados com

DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg).

Os resultados da glicemia em jejum ao final do tratamento revelam que os grupos (HAP130, HAP65 e Metformina) não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo DP, mas sim redução significativa ($p < 0,05$) de 18,53% (HAP130), 18,80% (HAP65) e 20,05% (Metformina) quando comparados com a DO. Quanto a esse mesmo parâmetro, os grupos (DO, HA130 e HA65) apresentaram glicemia de jejum significativamente ($p < 0,05$) maior em 39,45%, 17,75% e 18,74% quando comparados com a DP (Fig. 13A).

Os níveis de insulina sérica revelam que os grupos HAP130 e Metformina apresentaram significativa ($p < 0,05$) redução desse hormônio em 45,44% e 44,41%, respectivamente, quando comparados com os níveis do grupo DO. Essa redução permitiu que os níveis de insulina dos referidos grupos (HAP130 e Metformina) não apresentassem diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparados ao grupo DP (Fig. 13B).

A determinação do índice de HOMA através da relação da glicemia de jejum e insulina sérica reforça os achados referentes ao nível de insulina. Pois, os grupos (HAP 130 e Metformina), quando ao HOMA, não apresentaram diferença significativa ($p < 0,05$) quando comparados com o grupo DP, diferente dos grupos DO, HAP65, HA130 e HA65, que apresentaram aumento estatisticamente significativo quando comparado com o DP. Contudo, os grupos HAP65 e HA130, mesmo apresentando aumento em relação ao DP, revelaram que seus índices de HOMA foram significativamente ($p < 0,05$) menores que aquele apresentado pelo grupo DO (Fig. 13C).

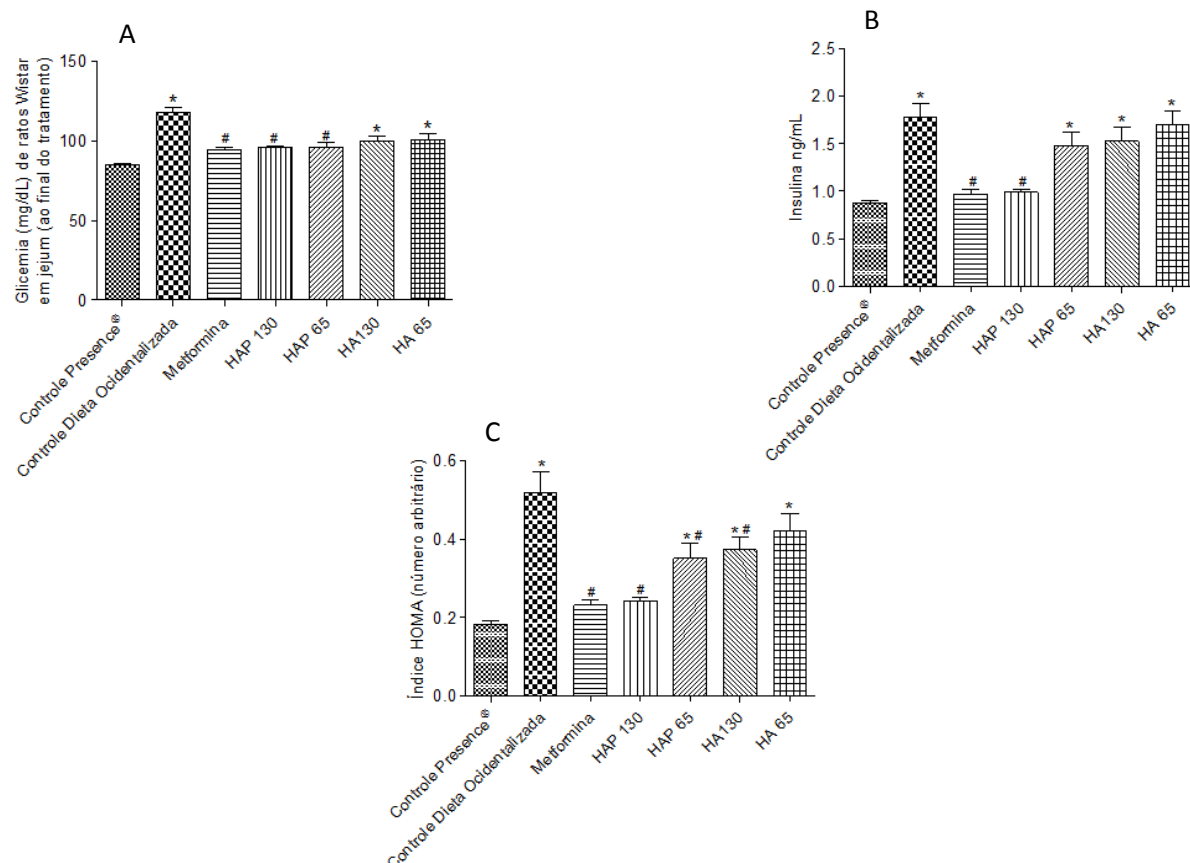


Figura 13 – Glicemia de jejum de ratos *Wistar* machos ao final do tratamento (A); concentração de insulina sérica (B) e índice de HOMA (C), após tratamento durante 30 dias por via oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presença® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presença®; (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

Os resultados das glicemias obtidos junto ao TTOG revelaram que os grupos HAP130 e HA130 apresentaram uma curva de transporte de glicose nos tempos 0, 30, 60 e 90 significativamente ($p < 0,05$) inferior ao observado no grupo DO (Fig. 14 A). Por sua vez, os mesmos grupos (HAP130 e HA130) apresentaram uma curva de transporte de glicose aos tecidos estatisticamente ($p < 0,05$) igual ao grupo DP (Fig. 14 B). E ao compararmos os grupos (HAP130, HAP65, HA130 e HA65) ao grupo Metformina, verificou-se que não foi significativa ($p < 0,05$) a diferença entre os grupos em nenhum dos tempos (Fig. 14 C).

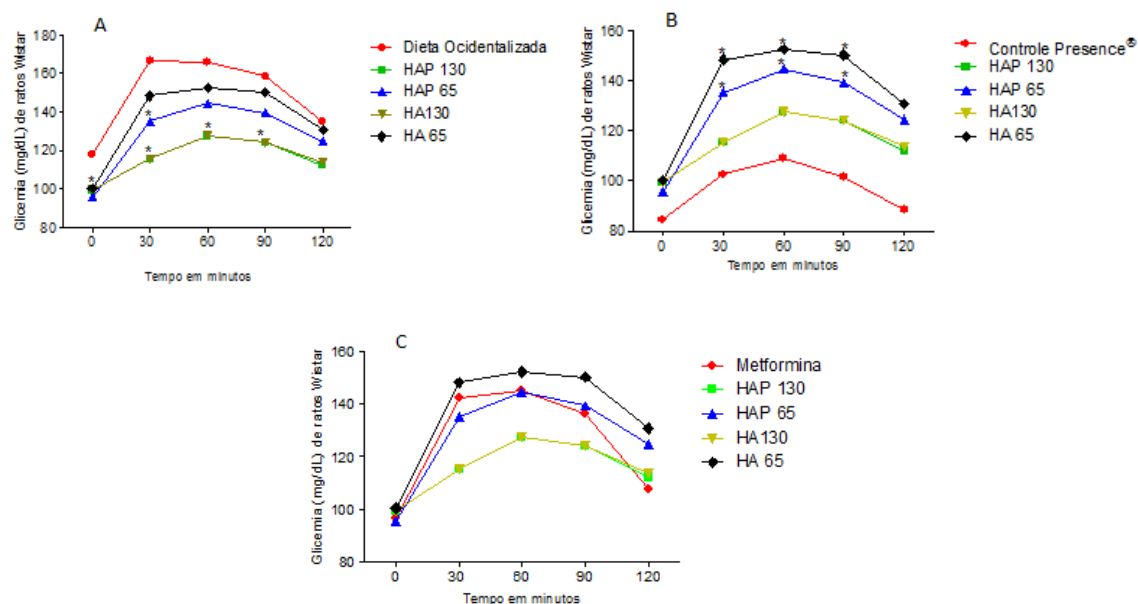


Figura 14 – Perfil glicêmico de ratos *Wistar* machos submetidos ao Teste de Tolerância Oral à Glicose (TOGO) ao final do tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: (A) - quando comparado o grupo dieta ocidentalizada; (B) - quando comparado o Controle Presence®; (C) - quando comparado o grupo Metformina.

Níveis de Glicogênio

A figura 15 (A, B) registra os valores de glicogênio determinado no tecido hepático e muscular, respectivamente, dos animais alimentados com DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg). Os grupos (HAP 130, HAP 65, HA 130 e Metformina) apresentaram valores referentes à concentração de glicogênio hepático significativamente ($p < 0,05$) iguais ao encontrado no grupo DP. Entretanto, os grupos (HAP 130 e HA 130) revelaram valores de glicogênio hepático significativamente ($p < 0,05$) superior em 48,58% e 49,86%, respectivamente, quando comparado ao grupo DO (Fig. 15 A).

Quanto à concentração de glicogênio muscular, verificou-se que os únicos grupos que apresentaram valores estatisticamente semelhantes ($p < 0,05$) ao grupo DP foram os grupos HAP 130 e Metformina. Vale ressaltar que o grupo HAP 130 apresentou valor na concentração de glicogênio tecidual significativamente ($p < 0,05$) superior em 74,15% comparada ao grupo DO (Fig. 15 B).

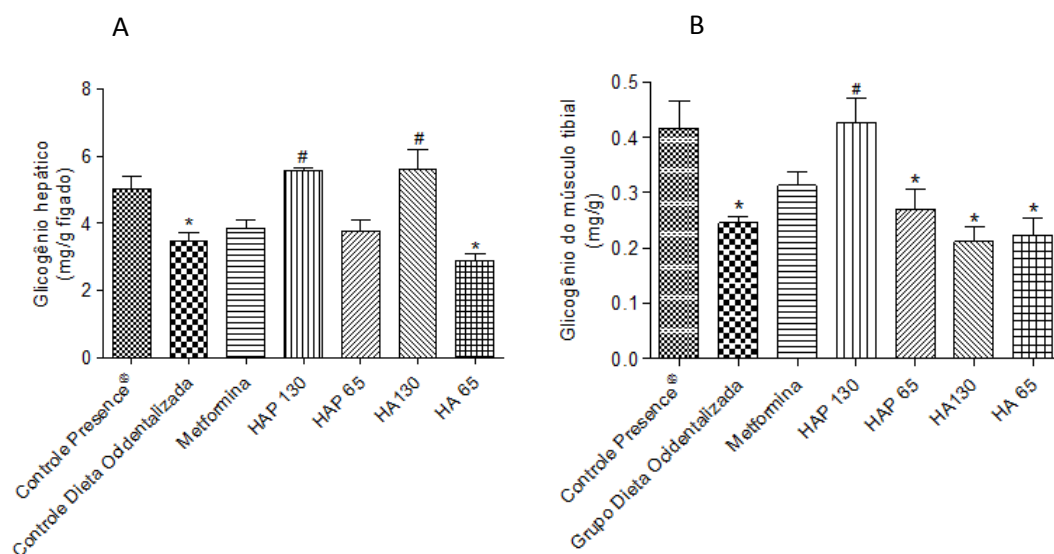


Figura 15 – Concentração de glicogênio no tecido hepático (A) e concentração de glicogênio no músculo tibial (B) de ratos *Wistar* machos ao final do tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas). Os dados estão representados pela média $\pm$ erro-padrão da média ($n = 6$ indivíduos por grupos), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* ($p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle dieta Presence®, (#) em relação ao grupo controle dieta Ocidentalizada.

Peso dos Órgãos e Tecidos

A tabela 8 registra os valores do tecido adiposo abdominal (TAA), tecido adiposo epididimal (TAE), coração e fígado dos animais alimentados com DO e concomitantemente tratados com HA (130 ou 65 mg/kg), HAP (130 ou 65 mg/kg) ou Metformina (500 mg/kg). Os grupos (HAP 130, HAP 65, HA 130, HA 65 e DO) apresentaram valores referentes ao peso do TAA e TAE significativamente ($p < 0,05$)

superior ao encontrado no grupo DP. O grupo Metformina foi o único que apresentou o valor do peso do TAE estatisticamente igual ao apresentado pelo grupo DP. Em nenhum dos grupos verificou-se diferença significativa ($p < 0,05$) quanto ao peso do coração comparado ao grupo DP.

Tabela 8 - Peso relativo (g/ 100 g de peso corporal) do tecido adiposo abdominal (TAA), tecido adiposo epididimal (TAE), coração, estômago, fígado e baço de ratos *Wistar* machos, após tratamento oral com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* (HA) nas doses de 130 mg/kg (HA 130), 65 mg/kg (HA 65) ou extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* particionado com acetato de etila (HAP) nas doses de 130 mg/kg (HAP 130), 65 mg/kg (HAP 65) ou metformina (500 mg/kg) ou veículo (Controle Presence® e Dieta Ocidentalizada - 1ml/kg) durante 30 dias consecutivos (do 150º - 180º dia de consumo das dietas).

Órgãos e Tecidos	Controle Presence	Controle Dieta Ocidentalizada	Metformina	HAP 130	HAP 65	HA130	HA 65
TAA	0,85 ± 0,16	3,78 ± 0,32*	2,62 ± 0,38*	3,58 ± 0,37*	4,09 ± 0,28*	4,00 ± 0,47*	4,00 ± 0,29*
TAE	0,77 ± 0,10	1,98 ± 0,12*	1,54 ± 0,12	1,81 ± 0,16*	2,39 ± 0,23*	1,91 ± 0,33*	2,25 ± 0,26*
Coração	0,32 ± 0,00	0,32 ± 0,01	0,33 ± 0,01	0,35 ± 0,01	0,33 ± 0,02	0,34 ± 0,01	0,31 ± 0,01
Fígado	2,68 ± 0,06	2,90 ± 0,10	3,39 ± 0,09*#	3,26 ± 0,11*#	2,95 ± 0,12*	3,39 ± 0,05*#	3,22 ± 0,08*

Dados representados pela média ± erro-padrão da média (n = 6 animais/grupo), submetidos à ANOVA duas vias, com aplicação do pós-teste de *Bonferroni* (* $p < 0,05$). Legenda: (*) em relação ao grupo controle Presence®; (#) em relação ao grupo controle Dieta Ocidentalizada.

6 DISCUSSÃO

Segundo Frank (2011), Moreno-Aliaga et al. (2005) e Trayhurn e Wood (2004), a diabetes tipo II apresenta-se como uma crise global de saúde pública que ameaça as economias de todas as nações, particularmente as dos países em desenvolvimento. Essa doença tem sido alimentada pela rápida urbanização, a transição nutricional e o estilo de vida cada vez mais sedentário das pessoas. A epidemia cresceu em paralelo ao aumento da prevalência mundial da obesidade.

Nossos resultados reproduziram o quadro de obesidade em todos os subgrupos alimentados com DO a partir da décima semana, que correspondeu a 70 dias de consumo da dieta. Nesse momento, o percentual médio de peso dos subgrupos DO foi $23,01\% \pm 0,78\%$ maior que o controle. Esses resultados são corroborados com Buettner et al. (2007), os quais observaram que a oferta prolongada de uma dieta rica em lipídios induz ganho de peso em ratos suscetíveis, na ordem de 10 e 20% em relação ao controle. Segundo os mesmos autores, a indução da obesidade é mais eficaz quando a dieta rica em gordura é iniciada em uma idade jovem e continua por várias semanas, exatamente como foi realizado no nosso experimento.

Picchi et al. (2011), reportam que o ganho de peso em ratos que fazem consumo de dieta obesogênica é gradual, aumentando discretamente durante as duas primeiras semanas e tornando-se mais acentuado a partir da quarta semana. Em nosso estudo, a evolução ponderal ocorreu de forma gradual, sinalizando aumento no peso a partir da terceira semana, o que corrobora com os dados apresentados por Picchi et al. (2011). Outros autores têm sugerido que os ratos alimentados com uma dieta *high-fat* mantêm a homeostase metabólica cerca de seis semanas, quando eles começam a desenvolver obesidade e resistência à insulina Chen et al. (2008), Matsuzawa-Nagataa et al. (2008).

A maior quantidade de calorias (12%) presente na DO (4,08kcal/g), em relação à dieta DP (3,6kcal/g) associada ao maior teor de lipídios, proporção de ácidos graxos saturados e açúcares refinados presente na DO possivelmente influenciaram o aumento de peso corporal nos animais. Picchi et al. (2011), relatam que outra variável que pode influenciar o ganho de peso dos animais é do tipo de lipídeo utilizado na formulação da dieta de elevado teor de gordura. Colditz et al. (1990), em estudo prospectivo, observaram que o ganho de peso apresentou uma

fraca associação positiva com a gordura animal (geralmente vista como prejudicial) e uma associação negativa com a gordura vegetal (geralmente vista como benéfica). Nessa base, mesmo que a diferença possa ser pequena, esses dois tipos de gordura podem ser metabolicamente diferentes em termos do seu efeito sobre o ganho de peso (WILLETT, 1998).

Bernardis e Patterson (1968) consideram animais obesos aqueles que apresentam um índice de Lee com valores acima de 0,300. No nosso estudo, todos os subgrupos alimentados com DO, aos 150 dias, apresentaram índice de Lee acima do limite do normal (0,300). No estudo aqui apresentado, não foram evidenciados resultados significativos quanto às outras medidas murinométricas, em todos os subgrupos. Contudo, esses apresentaram peso corporal maior que o do controle dieta padrão. Diferente do apresentado por Chang et al. (1990) e Dobrian et al. (2000), que ao alimentarem ratos *Wistar outbred* com *high-fat* moderada (32 ou 45 kcal% de gordura), observaram uma variação na distribuição do ganho de peso corporal entre os animais, pois alguns se tornaram obesos, enquanto outros permaneceram tão magros quanto os animais alimentados com uma dieta de baixo teor de gordura.

O quadro da obesidade observada nesse estudo revelou que de fato os animais apresentavam um conjunto de alterações metabólicas, compatíveis com a Síndrome Metabólica. Pois, o *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III - ATP III* (NCEP, 2001) reporta que o diagnóstico de SM é estabelecido pela presença de três dentre quaisquer dos cinco componentes (obesidade, elevada circunferência abdominal, hiperglicemia de jejum, hipertrigliceridemia, baixa nível de HDL-c e hipertensão arterial). Haja vista, os subgrupos alimentados com DO apresentaram: obesidade, hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, aumento na glicemia de jejum, tolerância à glicose e resistência à insulina.

Provavelmente o quadro da dislipidemia verificada foi decorrente do alto teor de gordura e da alta ingestão de carboidrato refinado demandado aos ratos. Zammit; Waterman; Topping e McKay (2001), advogam que uma demanda maior de gordura, proveniente da dieta, resulta em aumento da absorção da gordura e essa, na forma de quilomicrons, induz uma maior produção endógena de lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL), e/ou diminuição do transporte de triglicerídeos para o tecido periférico, resultando em quadro de hipertrigliceridemia. Contudo, o quadro de

dislipidemia foi enfatizado pela adição da demanda energética proveniente dos carboidratos simples que apresentam uma utilização mais rápida pelo fígado, devido ao *bypassing* regulado pela fosfofrutoquinase na via da glicólise. Essa via, por sua vez, promove a ativação de piruvato-desidrogenase favorecendo esterificação de ácidos graxos, aumentando, assim, a secreção de VLDL (MAYES, 1993).

Além de hipertrigliceridemia, os animais dos subgrupos alimentados com DO apresentaram também hipercolesterolemia. Segundo Proietto (2005), o aumento da absorção do colesterol dietético no intestino delgado, após a ingestão de uma dieta *high-fat*, resulta em um aumento da glicação de lipoproteínas ricas em colesterol (LDL-C), diminuindo assim o seu catabolismo e a atividade do receptor de LDL-C hepático.

Em nossos estudos, os subgrupos, após 150 dias de consumo da DO, revelaram tolerância à glicose, hiperglicemia de jejum, resistência à insulina, resultados compatíveis com o quadro de diabetes tipo II. Monnier; Colette; Percheron e Descomps (1995), relatam que o metabolismo do colesterol é alterado em pacientes diabéticos. Na presença dessa doença, a via de transporte reverso de colesterol é alterada através de uma diminuição nas concentrações de HDL-c. O aumento da secreção de VLDL pode, então, levar a uma reação em cadeia envolvendo outras lipoproteínas, como o LDL-c. Segundo Koteish e Diehl (2001), em um cenário onde ocorre um excesso de síntese e secreção de ácido graxo hepático, e a entrada de gordura no fígado ultrapassa a de saída, tem-se como consequência a ocorrência de esteatose hepática. Em nosso estudo, durante a eutanásia dos animais, foi possível evidenciar no parênquima hepático dos animais que consumiram DO um aspecto típico de esteatose.

Além das repercussões atribuídas à gordura da dieta Dobrzyn et al. (2004), advogam que os carboidratos refinados, que no nosso estudo estão presentes na DO, podem regular a via lipogênese através da ativação de cascatas enzimáticas acetil-CoA carboxilase e HMG-CoA redutase (hidroximetilglutaril), que induzem a síntese de ácidos graxos. Nagai et al. (2002), ainda relatam que o aporte de carboidrato simples pode reduzir o receptor ativador por proliferador de peroxissoma (PPAR)- α mRNA, que é responsável pela indução da peroxissomal β -oxidação mitocondrial, levando assim ao acúmulo de lipídios e ao quadro de dislipidemia.

Os TTOGs realizados aos 90, 120 e 150 dias de consumo da DO revelaram que apenas aos 150 dias todos os subgrupos apresentaram tolerância à glicose nos

tempos de 60, 90 e 120 minutos. Provavelmente esses achados decorrem da exposição crônica à DO, que por sua vez, aos 150 dias, também apresentava quadro típico de dislipidemia.

Segundo Gao et al. (2004), Dasu; Jialal (2010), o excesso de ácidos graxos livres (AGL) circulantes ativam proteínas de membrana plasmática denominadas TLR-4, que por sua vez ativam vias inflamatórias que vão interferir na captação de glicose pela sinalização da insulina. Assim, inicia-se uma cascata de competições por sítios de ligação, onde os AGL, ao se ligarem ao receptor TLR-4, ativam JNK e IκK, os quais prejudicam a geração de substratos (IRS-1/IRS-2) provenientes da ativação dos receptores de insulina. Dessa maneira, esses prejudicam sua fosforilação em resíduos de tirosina e a subsequente translocação do GLUT4 (NGUYEN et al., 2007; ANDREASEN et al., 2011).

Essa alteração molecular direciona a translocação das proteínas transportadoras de glicose (GLUT) e foi confirmada em todos os subgrupos alimentados com DO, ao ser realizado o TRI, pois esse evidenciou que os animais, mesmo com a administração exógena de insulina, não foram capazes de transportar a glicose para dentro dos tecidos, caracterizando um quadro de resistência à insulina associada a uma hiperglicemia de jejum, típica de paciente com diabetes tipo II.

Este é o primeiro estudo a mostrar os efeitos hipoglicemiantes e hipolipemiantes do extrato hidroalcoólico e da partição polar das folhas de *P. aculeata*, em ratos *Wistar* com síndrome metabólica induzida por Dieta Ocidentalizada. Em nosso estudo, mostramos e avaliamos ainda a segurança do extrato e da partição ora testada quanto aos efeitos supracitados.

A administração por via oral, na dose de 5 g/kg do extrato ou partição polar de *P. aculeata*, não produziu qualquer sinal de toxicidade ou causou mortalidade nos animais tratados, o que sugere uma DL50 superior a 5 g/kg. Kennedy et al. (1986), relataram que as substâncias com DL50 superior a 5 g/kg após administração oral podem ser consideradas praticamente não tóxico. Portanto, podemos sugerir que a toxicidade aguda para *P. aculeata* é praticamente nula quando administrado por essa via.

Após 30 dias de tratamento com a partição de *P. aculeata*, foi possível evidenciar que o grupo alimentado com a DO, e concomitantemente tratado com HAP130, apresentou considerável melhora quanto à evolução ponderal, ao IMC, ao

ILee, à circunferência abdominal e torácica, de forma a reportar os resultados desses parâmetros semelhantes ao grupo DP, em detrimento ao grupo que recebeu Metformina, o qual apresentou apenas evolução ponderal, IMC, circunferência abdominal e gordura epididimal semelhantes ao grupo DP. Contudo, os resultados verificados no grupo Metformina encontram sustentação no *UK Prospective Diabetes Study* (1998), que reporta que a metformina está associada com o menor ganho de peso entre os pacientes, sem a inconveniência das hipoglicemias induzidas pelo tratamento com insulina ou sulfonilureias. Luna; Feinglos (2001), Strowig; Raskin (2005) e Luna et al. (2006), relatam que os efeitos benéficos da metformina em modelos de ratos obesos podem ser atribuídos à diminuição do conteúdo de gordura visceral, pois sabe-se que entre os efeitos farmacológicos da metformina estão: diminuição da lipogênese, da oxidação de ácidos graxos e da lipotoxicidade, além de melhora na captação de glicose muscular e hepática, como também da sinalização da insulina.

Quanto aos achados (evolução ponderal, IMC, ILee, circunferência abdominal e circunferência torácica) referentes ao grupo HAP130, esses podem ser relacionados à presença dos flavonoides na partição polar de *P. aculeata*. Rivera et al. (2008), ao administrar quercetina (ex: flavonoide) em ratos magros ou obesos, verificou redução significativa no peso corporal de ambos, em comparação com os ratos do grupo controle. Ele relatou que esse efeito não estava relacionado a uma redução na ingestão de alimentos, pois, em seu estudo, a quercetina não alterou esse consumo. No caso dos ratos obesos, a explicação que foi dada encontra sustentação no efeito anti-inflamatório da quercetina sobre o tecido adiposo. Vale ressaltar que em nossos estudos os animais também não reduziram a ingestão de dieta (resultado não apresentado).

Entretanto, segundo El-Sayed et al. (1991) e Ali et al. (2005), os extratos polares das folhas de *P. aculeata* apresentavam vários flavonoides e flavonas C-glicosiladas: orientina, iso-orientina, vitexina, iso-vitexina, lucenin-II, vicianin-II, diosmetin 6-C- β -glicosídeo, apigenina, luteolina, kaempferol, chrysoeriol epoxi-isopentylflavanone. Corroborando com esses achados, Leite et al. (2007), através de triagem fitoquímica do extrato hidroalcoólico obtido das folhas de *P. aculeata*, constataram a presença de taninos, esteroides e uma alta concentração de flavonoides. Por sua vez, Andrade-Cetto; Wiedenfel (2001), Küpeli et al. (2004), Hasegawa et al. (2008) e Shibano et al. (2008) relatam que os flavonoides C-

glicosídeos, além do controle glicêmico, demonstram propriedades antioxidantes e anti-inflamatórias, as quais estão diretamente relacionadas com o controle do diabetes tipo II e suas complicações.

A redução de peso no grupo HAP130 parece ter influenciado positivamente na reversão do quadro de hipertrigliceridemia inicialmente constatada em todos os subgrupos, antes do tratamento. Porém o grupo HAP65, mesmo sem apresentar redução do peso corporal, revelou níveis de colesterol e triglicerídeos semelhantes ao grupo DP. Na realidade, Peluso (2006), explica que os flavonoides também apresentam ação moduladora da homeostase dos lipídeos no tecido adiposo e no fígado, através da inibição da fosfodiesterases. Outros autores, como Zern; West e Fernandez (2003), Kamada et al. (2005), Auger et al. (2005), demonstraram a ação hipocolesterolêmica dos flavonoides em modelos experimentais. O mecanismo de ação hipocolesterolêmico dos polifenóis, atribuí-se à sua ação antioxidante resultante na inibição da oxidação do LDL-c, mas há evidências crescentes que esses compostos atuem por outros mecanismos, incluindo a alteração da absorção hepática de colesterol, na síntese e liberação de triglicerídeos, ou por efeitos benéficos sobre a inflamação do tecido adiposo e hepático (ZERN; FERNANDEZ, 2005). Ademais, nosso grupo tem demonstrado o efeito anti-hiperlipidêmico e anti-hiperglicêmico da fração solúvel em água (WSF) e do extrato etanólico (250 mg/kg; v.o.) das partes aéreas de *P. aculeata* em modelo experimental de diabetes tipo 1 (LEITE et al., 2007 e 2010).

Apesar de termos verificado a redução dos níveis de colesterol e triglicerídeos nos grupos HAP130 e 65, podendo ser decorrente do reflexo direto sobre o metabolismo de síntese e liberação dos ácidos graxos livres aumentados devido a DO, em nosso estudo, não evidenciamos redução na massa hepática em nenhum dos grupos nem tão pouco melhora macroscópica do aspecto de esteatose verificada no fígado de nenhum grupo. Burt et al. (1999), e Ângulo; Lindor (2002) relatam que o fígado desempenha um papel fundamental no metabolismo dos lipídeos, referindo-se à esteatose hepática como sendo o acúmulo excessivo de lipídeos dentro dos hepatócitos, devido ao desequilíbrio entre a síntese e a degradação dos mesmos. Essa doença tende a ser mais comum nos pacientes que apresentam hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia, baixo nível de HDL-C e alto nível de LDL-C.

Nos últimos 30 dias do experimento, todos os animais foram manipulados diariamente para receber seus tratamentos, coleta de sangue, além da determinação das medidas corporais. Assim, a determinação da corticosterona sérica foi uma forma de medir o quanto essa manipulação interferiu nos animais, verificando indiretamente a atividade do eixo hipotálamo-hipófiseadrenal. Os animais dos grupos experimentais não apresentaram aumento na concentração sérica de corticosterona, pelo contrário, o grupo tratado com metformina apresentou redução. Möstl; Palme (2002), reportam que o aumento na concentração de corticosterona sérica está diretamente relacionada com a resposta fisiológica do organismo ao estresse. Segundo Durand et al. (2003), o aumento da atividade desse hormônio não somente influencia o metabolismo (carboidratos e lipídeos), mas também os sistemas cardiovascular, respiratório, digestivo e renal. Mello et al. (2004), advogam que todos os esteroides humanos, assim como os dos ratos, são sintetizados a partir da molécula de colesterol. 80% das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) do plasma são utilizadas na síntese dos esteroides. Dessa forma, é possível que a redução do nível de corticosterona verificada no grupo Metformina tenha alguma relação com a redução de LDL-c verificada no mesmo grupo.

De fato, a síndrome metabólica (SM) é caracterizada por uma orquestra de alterações moleculares que envolvem um processo de inflamação subclínica, caracterizada pela presença de citocinas pró-inflamatórias como (IL-6, TNF- α e PCR). Não obstante dessa realidade, verificamos esses marcadores inflamatórios em concentração elevada no grupo DO sem tratamento. Contudo, após o tratamento com HAP130 ou metformina, verificamos que nesses grupos os valores de IL-6, reduzidos em relação ao grupo DO, e os níveis de TNF- α do grupo HAP130 foram semelhantes aos do grupo DP. Hyun et al. (2013), relatam que a ação anti-inflamatória da metformina não só ocorre no endotélio, mas em vários tipos de células, através da redução de NO, prostaglandina E2 (PGE2) e citocinas pró-inflamatória (IL-6 e TNF- α) através da ativação dos inibidores de NF- κ B em macrófagos. Entretanto, verificamos uma concentração de TNF- α no grupo HAP130, semelhante ao grupo DP e inferior ao grupo DO sem tratamento.

Quanto à redução dos níveis dos marcadores inflamatórios no grupo tratado com HAP130, nossos resultados encontram suporte nas propriedades antioxidantes e anti-inflamatória dos flavonoides que são relatadas por: Rice-Evans et al. (1996), Pietta (2000), Rice-Evans (2001) e Kim et al. (2004). Pois, ao falarmos de extratos

das folhas de *P. aculeata*, devemos lembrar que segundo El-Sayed et al. (1991), a mesma apresenta vários flavonoides aglicona e glicosilados. Rice-Evans et al. (1996) e Mira et al. (2002), reportam que as duas características estruturais antioxidantes clássicas dos flavonoides são decorrentes da presença de um grupo catecol no anel B e de uma dupla ligação C2-C3, em conjugação com um grupo oxo em C4. O primeiro serve para doar hidrogênio/elétrons, o que estabiliza os radicais livres, e a segunda serve para fazer ligações com metais de transição, tais como ferro e cobre.

Ko et al. (1998) e Sadik; Sies e Schewe (2003) inferiram que a luteolina e os seus glicosídeos apresentam atividade antioxidante por ter a capacidade de retirar as espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio. Vale ressaltar que a luteolina é um exemplo de flavonoide, que na forma glicosilada, foi identificado nos extratos polares das folhas de *P. aculeata*. Consonante a essa linha, Cheng e Breen (2000) e Mira et al. (2002), relatam que essa classe fitoquímica quelata metais de transição que podem induzir danos oxidativos através da reação de Fenton. Por sua vez, Hu; Kitts (2004), Kong et al. (1999), Nagão; Seki e Kobayashi (1999) e Sadik; Sies e Schewe (2003) reportam que a luteolina e os seus glicosídeos inibem enzimas pró-oxidante e Choi et al. (2008) e Lim et al. (2007), verificaram que o mesmo grupo fitoquímico ainda induz a síntese de enzimas antioxidantes.

No que concerne à atividade anti-inflamatória, mediante à redução de IL-6 e TNF- α no grupo HAP130, verificada em nosso estudo, essa pode estar relacionada à presença de luteolina glicosilada nos extratos da folha de *P. aculeata*. Xagorari et al. (2001), Chen et al. (2004), Kim; Jobin (2005) e Kim et al. (2005), advogam que a atividade anti-inflamatória decorrente da luteolina e de seus compostos glicosídeos, mesmo em concentrações baixas na ordem de micromolar, está ancorada na inibição do fator nuclear Kappa B (NF-KappaB), cujo aumento da expressão desse fator induz síntese e liberação de citocinas, quimiocinas e enzimas pró-inflamatórias (por exemplo, TNF, IL-1, IL-6, COX-2, iNOS). Por exemplo, Xagorari et al. (2001), verificou que a luteolina apresentou uma potente inibição de TNF- α de macrófagos, mesmo com o estímulo de lipopolissacarídeo (LPS). Por sua vez, Jang et al. (2008), relataram a redução na produção de IL-6 *in vitro* e *in vivo* através da inibição de via de sinalização de JNK e AP-1, mesmo com estímulo de LPS. Esses últimos autores verificaram em camundongos suplementados com luteolina (em água potável) a diminuição dos níveis de IL-6 no plasma.

As avaliações realizadas para verificar o metabolismo dos carboidratos (TTOG, TRI, Kitt e HOMA) e o nível de insulina sérica, nos grupos alimentados com DO e tratados com HAP130, HAP65, HA130, HA65 ou Metformina, revelaram que os grupos HAP130 e HA130 apresentaram um comportamento semelhante ao grupo tratado com Metformina. Estes achados encontram vários respaldos na literatura, por exemplo: Weisberg et al. (2003) e Hajer et al. (2008), afirmam que a obesidade está associada a um estado pró-inflamatório de baixo grau, caracterizada por infiltração de macrófagos no tecido adiposo e muscular, disfunção de adipócitos e produção anormal de mediadores pró-inflamatórios. Grande parte dessas alterações verificamos em nosso experimento, no grupo controle DO sem tratamento, sendo importante reportar ao quadro de inflamação decorrente da obesidade, para trazer-nos a relação existente entre esse quadro e a resistência à insulina. Pois, todos os subgrupos anteriormente alimentados com DO exibiram nítido quadro de resistência à insulina, e ao final do tratamento, verificamos que o grupo controle não tratado apresentou concentrações de citocinas pró-inflamatórias elevadas (TNF- α e IL-6). Alvaro et al. (2004), Nguyen et al. (2007), Valedo et al. (2009) e Andreassen et al. (2011), advogam que o aumento nos níveis de TNF- α induz a resistência à insulina, pois essa citocina ativa seus receptores na membrana plasmática (TNFR1 e TNFR2), ativando por sua vez as proteínas inflamatórias (IkK e JNK), as quais prejudicam a ativação dos receptores de insulina e subsequente a translocação do transportador de glicose (GLUT). Dessa forma, ao verificarmos que o grupo HPA130 apresentou redução no nível das citocinas (TNF- α e IL-6), provavelmente o controle dessa resistência à insulina foi mediado nesse grupo por esse mecanismo.

Podemos descartar alguns mecanismos quando nos reportamos ao controle da glicemia por meio da utilização de iso-orientina isolada. Andrade-Cetto e Wiedenfeld (2001), Sezik et al. (2005), Revilla-Monsalve et al. (2007) e Shibano et al. (2008), verificaram que a ação hipoglicemiante desse C-glicosídeo, em modelo animal e em estudos clínicos, não envolve estímulo da liberação de insulina ou modulação da absorção intestinal da glicose. Contudo, são apenas dois mecanismos que podemos descartar, mas muitos outros podem estar envolvidos na redução da resistência insulínica atrelados à homeostase da glicose sérica, ora verificada em nosso estudo.

Os nossos resultados, quanto à concentração do glicogênio hepático e muscular, revelaram que o grupo HAP130 apresentou homeostase no perfil

glicêmico, pois a concentração de glicogênio, em ambos os compartimentos, apresentou-se semelhante ao grupo DP. Segundo Beardsall et al. (2003) e Ferrer et al. (2003), a homeostase da glicose é mantida pelo equilíbrio da produção de glicose hepática e sua utilização pelos tecidos periféricos. De modo geral, nos mamíferos, a glicose é armazenada na forma de glicogênio no fígado e nos músculos, que são os principais locais de síntese e armazenamento dessa reserva energética. Dessa forma, ao verificarmos aumento da concentração de glicogênio muscular e hepático, podemos inferir que houve um maior transporte de glicose para os tecidos, fato que fez reduzir o consumo de reserva energética (glicogênio). Esse transporte, por sua vez, está diretamente relacionado aos achados discutidos acima, no que concerne à redução de resistência à insulina, também verificada no grupo HAP130.

Não obstante dos nossos resultados, quanto à concentração de glicogênio, Leite et al. (2011), verificaram que o tratamento com extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* em ratos diabéticos, induzidos por aloxana, fizeram a concentração de glicogênio hepático e muscular nos animais diabéticos aproximar-se daquela verificada nos animais controle. Os autores inferiram que a melhora desse perfil se deu possivelmente pela estimulação da glicogênese e/ou inibição da glicogenólise, ligadas a melhorias na sinalização da insulina. De modo geral, alguns autores como Andrade-Cetto; Wiedenfel (2001), Vats; Yadav e Grover (2003), Sezik et al. (2005) e Folador et al. (2010), vêm relatando, ao longo dos anos, os efeitos de espécies vegetais utilizadas na medicina popular para o tratamento da diabetes, e em sua maioria observaram que as espécies ativas apresentam flavonoides C-glicosilados, mostrando ação anti-hiperglicêmica potencialmente importante, em diferentes ensaios *in vivo* e *in vitro*, incluindo a redução dos níveis de glicose no soro, estimulação da secreção de insulina, regulação da atividade da enzima no metabolismo dos carboidratos, estimulação da captação de glicose e armazenamento de glicogênio nos tecidos periféricos.

7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

- A dieta ocidentalizada promoveu aumento no ganho de peso corporal, na circunferência abdominal, I_{Lee} e IMC de ratos *Wistar*;
- Os animais alimentados com dieta ocidentalizada apresentaram nítidos sinais de Síndrome Metabólica (aumento da circunferência abdominal, dislipidemia, hiperglicemia, resistência à insulina e aumento na concentração sérica dos marcadores inflamatórios TNF- α e IL-6);
- O extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* e a partição desse em acetato de etila não induziu a mortalidade em nenhum animal na dose de 5g/mg;
- O tratamento com HAP (130 mg/kg) promoveu redução dos níveis de glicose sérica, melhora na sinalização insulínica e aumento da concentração do glicogênio hepático e muscular;
- A dislipidemia apresentada pelos animais alimentados com dieta ocidentalizada foi positivamente alterada após o tratamento com HAP (130 mg/kg), com redução dos níveis séricos de colesterol total, triglicerídeos e aumento de HDL-c;
- Os níveis séricos de corticosterona não foram alterados pela dieta ocidentalizada, nem pelo tratamento com HAP (130 mg/kg), anulando assim a possibilidade de interferência de estímulos estressores nos resultados apresentados;
- O tratamento com HAP (130 mg/kg) reduziu os níveis séricos de IL-6 e TNF- α dos animais alimentados com dieta ocidentalizada;
- O consumo da dieta ocidentalizada aumentou o peso do fígado e dos tecidos adiposo abdominal e epididimal;
- A partição do extrato hidroalcoólico de *P. aculeata* com acetato de etila foi a que melhor controlou as alterações verificadas nos ratos *Wistar* com a síndrome metabólica.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR-SALINAS, C.A. et al. High prevalence of metabolic syndrome in Mexico. *Archives of Medical Research*, México, v. 35, n. 1, p. 76-81, 2004.
- ALBERTI, K.G.; ZIMMET, P., SHAW, J.; IDF Epidemiology Task Force Consensus Group. The metabolic syndrome: a new worldwide definition. *Lancet*. v.366, n.9491, p.1059-1062, 2005.
- ALI, M.; AHMED, F.; PERVEZ, M. K.; AZHAR, I.; IBRAHIM, S. A. Parkintin: A new flavanone with epoxy-isopentyl moiety from *Parkinsonia aculeata* L. (Caesalpiniaceae). *Journal of Natural Products*, v.19, p.53–56, 2005.
- ALI, M.; AZHAR, I.; AMTUL, Z.; AHMAD, V.U.; USMANGHANI, K. Antimicrobial screening of some Caesalpiniaceae. *Fitoterapia*, v.70, p.299–304, 1999.
- ALVARO, C.; TERUEL, T.; HERNANDEZ, R.; LORENZO, M. Tumor necrosis factor α produces insulin resistance in skeletal muscle by activation of inhibitor κ B kinase in a p38 MAPK dependente manner. *The Journal of Biological Chemistry*. v.279, n.17, p.17070-17078, 2004.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diabetes mellitus and exercise. *Diabetes Care*. v.23, supl.1, p.50-54, 2000a
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. v.33, Supl.1, p.62–69, 2010.
- ANDRADE-CETTO, A.; WIEDENFELD, H. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* on streptozotocin diabetic rats. *J. Ethnopharmacol.*, v. 78, p. 145-149, 2001.
- ANDREASEN, A.S.; KELLY, M.; BERG, R.M.; MOLLER, K.; PEDERSEN, B.K. Type 2 diabetes is associated with altered NF- κ B DNA binding activity JNK phosphorylation and AMPK phosphorylation in skeletal muscle after LPS. *Plos One*. v.6, p.01-08, 2011.
- ANGULO, P.; LINDOR, K.D. Non-alcoholic fatty liver disease. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*. 17 Suppl., p.186–190, 2002.
- ARAÚJO, L.M.B.; URSICH, M.J.; PUPO, A.; FUKUI, R.T. The effects of glibenclamide treatment on insulin secretion and on insulin binding to erythrocyte in type 2 diabetes mellitus. *Braz J Med Biol Res* v.21, p.35-42, 1988.
- AUGER, C.; TEISSEDRE, P.L.; GERAIN, P. et al. Dietary wine phenolics catechin, quercetin, and resveratrol efficiently protect hypercholesterolemic hamsters against aortic fatty streak accumulation. *J Agric Food Chem* v.53, p.2015–2021, 2005.
- BALFOUR, J.A.; MCTAVISH, D. Acarbose. An update of its pharmacology and therapeutic use in diabetes mellitus. *Drugs* v.46, n.6, p.1025-1054, 1993.
- BARBOUR, L.A., et al. Cellular mechanism for insulin resistance in normal pregnancy and gestational Diabetes. *Diabetes*. v.30, n.2, p.112-119, 2007.

BARMA, P., et al. Lipid induced overexpression of NF-kappaB in skeletal muscle cells is linked to insulin resistance. *Biochimica et Biophysica Acta*. v.1792, n.3, p.190-200, 2009.

BARRETO, S. A. J.; CYRILLO, D. C. Análise da composição dos gastos com alimentação no Município de São Paulo (Brasil) na década de 1990. *Revista de Saúde Pública*, v.35, p.52-59, 2001.

BATISTA-FILHO, M.; RISSIN, A. Nutritional transition in Brazil: geographic and temporal trends. *Cad Saúde Pública*, v.19. S.1, p.181–191, 2003

BAYOL, S.A.; SIMBI, B.H.; BERTRAND, J.A.; STICKLAND, N.C. Offspring from mothers fed a ‘junk food’ diet in pregnancy and lactation exhibit exacerbated adiposity that is more pronounced in females. *J Physiol*. v.586, n.13, p.3219–3230, 2008.

BEARDSALL, K. YUEN, K.; WILLIAMS, R.; DUNGER, D. Applied physiology of glucose control. *Curr Paediatr*. v.13, p. 543–548, 2003.

BERNARDIS, L.L.; PATTERSON, B.D. Correlation between ‘Lee index’ and carcass fat content in weanling and adult female rats with hypothalamic lesions. *J Endocrinol*. v.40, n.4, p.527-528, 1968.

BESSON, E.; CHOPIN, J.; GUNASEGARAN, R.; RAMACHANDRAN, N.A.G. C-glycosylflavones from *Parkinsonia aculeata*. *Pytochemistry*, 19, 2787–2788, 1980.

BHATIA, V.K.; GUPTA, S.R.; SESHADRI, T.R. C-glycosides of the leaves of *Parkinsonia aculeata*. *Tetrahedron*. v.22, p.1147–1152, 1966.

BOSI, E. Metformin-the gold standard in type 2 diabetes: what does the evidence tell us? *Diabetes Obes Metab*. v.11, p.3-8, 2009

BUETTNER, R.; SCHOLMERICH, J.; BOLLHEIMER, L.C. High-fat diets: modeling the metabolic disorders of human obesity in rodents. *Obesity (Silver Spring)*. v.15, p.798-808, 2007.

BURT, A.D.; MUTTON, A.; DAY, C.P. Diagnosis and interpretation of steatosis and steatohepatitis. *Seminars in Diagnostic Pathology* 15, 246–258, 1998.

CASTRO G, et al. Diet-induced obesity induces endoplasmic reticulum stress and insulin resistance in the amygdala of rats. *FEBS Open Bio*. v.11, n.3, p.443-449, 2013.

CAVAGIONI, L.C. et al. Síndrome metabólica em motoristas profissionais de transporte de cargas da rodovia BR-116 no trecho Paulista-Régis Bittencourt. *Arquivo Brasileiro de Endocrinologia Metabólica*. v.52, n.6, p.1015- 1023, 2008.

CAZAROLLI, L. H.; FOLADOR, P.; PIZZOLATTI, M.G.; BARRETO, N.S.F.R. Signaling pathways of kaempferol-3-neohesperidoside in glycogen synthesis in rat soleus muscle. *Biochimie*. v.91, n.7, p.843–849, 2009.

CAZAROLLI, L.H.; ZANATTA, L.; JORGE, A.P. et al., Follow-up studies on glycosylated flavonoids and their complexes with vanadium: their anti-hyperglycemic potential role in diabetes. *Chemico-Biological Interactions*. v.163, n.3, p.177–191, 2006.

CHANG, S.; GRAHAM, B.; YAKUBU, F.; LIN, D.; PETERS, J.C.; HILL, J.O. Metabolic differences between obesity-prone and obesity-resistant rats. *Am J Physiol.* v.259, p.1103-1110, 1990.

CHEN, C.C.; CHOW, M.P.; HUANG, W.C.; LIN, Y.C.; CHANG, Y.J. Flavonoids inhibit tumor necrosis factor-alpha-induced upregulation of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in respiratory epithelial cells through activator protein-1 and nuclear factor-kappaB: structure-activity relationships. *Mol. Pharmacol.* v.66, p.683-693, 2004.

CHEN, W.P.; HO, B.Y.; LEE, C.L.; LEE, C.H.; PAN, T.M. Red mold rice prevents the development of obesity, dyslipidemia and hyperinsulinemia induced by high-fat diet. *Int J Obes.* v.32, p.1694-1704, 2008a.

CHENG, I.F.; BREEN, K. On the ability of four flavonoids, baicilein, luteolin, naringenin, and quercetin, to suppress the Fenton reaction of the iron-ATP complex. *Biometals*, v.13, p. 77-83, 2000.

CHOI, B.M.; LIM, D.W.; LEE, J.A.; GAO, S.S.; KWON, D.Y.; KIM, B.R. Luteolin suppresses Cisplatin-induced apoptosis in auditory cells: possible mediation through induction of heme oxygenase-1 expression. *J. Med. Food.*, v.11, p.230-236, 2008.

COLDITZ, G.A.; WILLETT, W.C.; STAMPFER, M.J.; LONDON, S.J.; SEGAL, M.R.; SPEIZER, F.E. Patterns of weight change and their relation to diet in a cohort of healthy women. *Am J Clin Nutr.* v.51, p.1100-1105, 1990.

CORRELL, D.S.; JOHNSTON, M.C. *Manual of the Vascular Plants of Texas*. Texas Research Foundation, Renner, TX., USA., p.1881, 1970.

CRUZ-VEGA, D.E.; AGUILAR, A.; CASTRO-GARZA, J.; GONZA-LEZGARZA, M.T. Antiamebic activity of aqueous extracts from five medicinal plants from Northeastern Mexico. *Archives of Medical Research*, v.31, p.517-518, 2000.

CUPAPRI, L. *Nutrição: nutrição clínica no adulto*. 2 ed. Barueri, SP: Manole, 2005.

CUSI, K.; DE-FRONZO, R. Metformin: a review of its metabolic effects. *Diabetes Rev* v.6, p.89-131, 1998.

DA-SILVA, A.S.; PAULI, J.R.; ROPELLE, E.R.; OLIVEIRA, A.G.; CINTRA, D.E.; DE-SOUZA, C.T. et al. Exercise intensity, inflammatory signaling and insulin resistance in obese rats. *Med Sci Sports Exerc.* v.42, n.12, p.2180-2188, 2010.

DASU, M.R.; JIALAL, I. Free fatty acids in the presence of high glucose amplify monocyte inflammation via toll-like receptors. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* v.300, p.145-154, 2011.

De-ALMEIDA, C.F.C.B.R., et al., Life strategy and chemical composition as predictors of the selection of medicinal plants from the caatinga (Northeast Brazil) *Journal of Arid Environments* v.62, p.127-142, 2005.

DEFRONZO, R.A.; TRIPATHY, D. Skeletal muscle insulin resistance is the primary defect in type 2 diabetes. *Diabetes Care.* v.32, n.2, p.157-163, 2009.

DEL-PRATO, S.; PENNO, G.; MICCOLI, R. Changing the treatment paradigm for type 2 diabetes. *Diabetes Care* v.32, supl 2, p.217-222, 2009.

DIVYA, B.; MRUTHUNJAYA, K.; MANJULA, S.N. *Parkinsonia aculeata*: a phytopharmacological review. *Asian J Plant Sci.* v.10, p.175-181, 2011.

DOBRIAN, A.D.; DAVIES, M.J.; PREWITT, R.L.; LAUTERIO, T.J. Development of Hypertension in a Rat Model of Diet-Induced Obesity. *Hypertension.* v.35, p.1009-1015, 2000.

DOBRZYN, P.; DOBRZYN, A.; MIYAZAKI, M.; COHEN, P.; ASILMAZ, E.; HARDIE, D.G.; FRIEDMAN, J.M.; NTAMBI, J.M. Stearoyl-CoA desaturase 1 deficiency increases fatty acid oxidation by activating AMP-activated protein kinase in liver. *Proc Natl Acad Sci U S A.* v.101, n.17, p.6409-6414, 2004.

DURAND, R.J.; CASTRACANE, V.D.; HOLLANDER, D.B.; TRYNIECKI, J.L.; BAMMAN, M.M.; O'NEAL, S.; et al. Hormonal responses from concentric and eccentric muscle concentrations. *Med Sci Sports Exerc.* v.35, n.6, p.937-43, 2003.

ELDER, C. Ayurveda for diabetes mellitus: a review of the biomedical literature. *Altern. Ther. Health Med.*, v.10, p.44-50, 2004.

EL-SAYED, N.H.; AHMED, A.A.; ISHAK, M.S.; KANDIL, F.E. Luteolin 7, 4'-dimethyl ether 6-C-glucoside from *Parkinsonia aculeata*. *Phytochem* v.30, p.2442, 1991.

FERRER, J.C.; FAVRE, C.; GOMIS, R.R.; FERNÁNDEZ-NOVELL, J.M.; GARCIA-ROCHA, M.; DE-LAIGLESIA, N. et al. Control of glycogen deposition. *FEBS Lett.* v.546, p.127-132, 2003.

FERRO-CAVALCANTE, T.C., SILVA, A.A.M., LIRA, M.C.A., ALMEIDA, L.C.A., MARQUES, A.P.J., NASCIMENTO, E. Early exposure of dams to a westernized diet has long-term consequences on food intake and physiometabolic homeostasis of the rat offspring. *Int J Food Sci Nutr*, v. 65, n.8, p.1-5, 2014.

FERRO-CAVALCANTE, T.C.; LIMA-DA-SILVA, J.M.; SILVA, A.A.M.; MUNIZ, G.S.; LUZNETO, L.M.; LOPES-DE-SOUZA, S.; MANHAES-DE-CASTRO, R.; et al. Effects of a westernized diet on the reflexes and physical maturation of male rat offspring during the perinatal period. *Lipids*, v.48, p.1157-1168, 2013.

FOLADOR, P.; CAZAROLLI, L.H.; GAZOLA, A.C.; REGINATTO, F.H.; SCHENKEL, E.P.; SILVA, F.R.M.B. Potential insulin secretagogue effects of isovitexin and swertisin isolated from *Wilbrandia ebracteata* roots in non-diabetic rats. *Fitoterapia.* v.81, p.1180-1187, 2010.

FORD, E.S.; GILES, W.H.; MOKDAD, A.H. Increasing prevalence of the metabolic syndrome among U.S Adults. *Diabetes Care.* v. 27, p. 2444-2449, 2004.

FRANK, B. HU. Globalization of Diabetes The role of diet, lifestyle, and genes. *Diabetes Care.* v.34, p. 1249-1259, 2011.

GALIC, S.; OAKHILL, J.S.; STEINBERG, G.R. Adipose tissue as an endocrine organ. *Molecular and cellular endocrinology.* v.316, p.129-139, 2010.

GAO Z, et al. Inhibition of insulin sensitivity by free fatty acids requires activation on multiple serine kinases in 3T3-L1 adipocytes. *Molecular Endocrinology.* v.18, n.8, p.2024-2034, 2014.

GOMES, M.B.; GIANNELLA-NETO, D.; MENDONÇA, E.D.; TAMBASCIA, M.A.; FONSECA, R.M.; RÉA, R.R.; MACEDO, G.; MODESTO-FILHO, J.; SCHMID, H.; BITTENCOURT, A.V.; CAVALCANTI, S.; RASSI, N.; FARIA, M.; PEDROSA, H.; DIB, S.A. Prevalência de sobrepeso e obesidade em pacientes com diabetes mellitus tipo 2 no Brasil: estudo multicêntrico nacional. *Arq Bras Endocrinol Metab*.v.50, n.1, p.136-144, 2006.

GUERRE-MILLO, M. Adipose tissue and adipokine; For better or worse. *Diabetes Metab*, v.3, p.13-9, 2004.

GUPTA, R.S.; REHWANI, H.; KHUSHALANI, V.; TANWAR, K.; JOSHI, Y.C. Antispermatic effects of *Parkinsonia aculeata* stem bark in male rats. *Pharmaceutical Biology*. v.45, p.1–8, 2007.

HAJER, G.R.; VAN-HAEFTEN, T.W.; VISSEREN, F.L. Adipose tissue dysfunction in obesity, diabetes, and vascular diseases. *Eur Heart J*. v.29, n.24, p.2959-2971, 2008.

HAN, M.S.; JUNG, D.Y.; MOREL, C.; LAKHANI, S.A.; KIM, J.K.; FLAVELL, R.A.; DAVIS, R.J. JNK expression by macrophages promotes obesity-induced insulin resistance and inflammation. *Science*. v.11, n.339(6116), p.218-22, 2013.

HASEGAWA, T.; TANAKA, A.; HOSODA, A.; TAKANO, F.; OHTA, T. Antioxidant C-glycosyl flavones from the leaves of *Sasa kurilensis* var. *gigantea*. *Phytochemistry*.v.69, n.6, p.1419-1424, 2008.

HASSAN, S.W.; UMAR, R.A.; EBBO, A.A.; AKPEJI, A.J.; MATAZU, I.K. Hepatoprotective effect of leaf extracts of *P. aculeata* L. against CCl₄ intoxication in albino rats. *International Journal of Biological Chemistry*. v.2, p.42–48, 2008.

HASSID, W.Z.; ABRAHAMS, S. Chemical procedures for analyses of polysaccharides. *Methods enzymol*. v.3, p.34-51, 1957.

HAWKINS, J.A., et al., Intercontinental dispersal prior to human translocation revealed in a cryptogenic invasive tree. *New Phytologist*, v.175, n.3, p.575-587, 2007.

HIRATA, A.E.; ANDRADE, I.S.; VASKEVICIUS, P.; DOLNIKOFF, M.S. Monosodium glutamate (MSG)-obese rats develop glucose intolerance and insulin resistance to peripheral glucose uptake. *Braz J Med Biol Res* v.30, p.671-674, 1997.

HIRSCH, I.B.; RIDDLE, M.C. Current therapies for diabetes. *Endocr Clin North Am* v.26, p.3, 1997.

HOLLAND, W.L.; BIKMAN, B.T.; WANG, L.P.; YUGUANG, G.; SARGENT, K.M.; BULCHAND, S.; KNOTTS, T.A.; SHUI, G.; CLEGG, D.J.; WENK, M.R.; PAGLIASSOTTI, M.J.; SCHERER, P.E.; SUMMERS, S.A. Lipid-induced insulin resistance mediated by the proinflammatory receptor TLR4 requires saturated fatty acid-induced ceramide biosynthesis in mice. *The journal of clinical investigation*. v.121, n.5, p.1858-1870, 2011.

HOTAMISLIGIL, G.S.; SPIEGELMAN, B.M. Tumor necrosis factor alpha: a key component of the obesity-diabetes link. *Diabetes*, v. 43, p.1271-1278, 1994.

HU, C.; KITTS, D.D. Luteolin and luteolin-7-O-glucoside from dandelion flower suppress iNOS and COX-2 in RAW264.7 cells. *Mol. Cell Biochem*. v.265, 107-113, 2004.

HUNDAL, R.S.; KRSSAK, M.; DUFOUR, S.; LAURENT, D.; LEBON, V.; CHANDRAMOULI, V.; et al. Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. *Diabetes*. v.49, p.2063-2069, 2000.

HUO, Y.; WINTERS, W. D.; YAO, DA-LIN. Prevention of diet-induced type 2 diabetes in the C57BL/6J mouse model by an antidiabetic herbal formulae. *Phytother. Res.*, v. 17, p. 48-55, 2003.

HYUN, B.; SHIN, S.; LEE, A.; LEE, S.; SONG, Y.; HA, N.-J.; CHO, K.-H.; KIM, K. Metformin down-regulates TNF-alpha secretion via suppression of scavenger receptors in macrophages. *Immune Netw.* v.13, p.123-132, 2013.

I-DBSM, I *Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica*, 2005.

IDF Internacional Diabetes Federation: The consensus world-wide definition of the metabólica syndrome. April14, 2005.

IDF Internacional Diabetes Federation: *The consensus world-wide definition of the metabólica syndrome*. 2005.

Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística – IBGE. Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008 – 2009. *Análise do Consumo Alimentar Pessoal no Brasil*.

INZUCCHI, S.E.; MAGGS, D.; SPOLLETT, G.; et al. Efficacy and metabolic effects of metformin and troglitazone in type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med* v.338, n.13, p.867-72, 1998.

IRACE, C. et al. Components of the metabolic syndrome and carotid atherosclerosis: role of elevated blood pressure. *Hypertension*. v.45, p. 597-601, 2005.

IVORRA, M.D.; PAYÁ, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. *J. Ethnopharmacol.*, v. 27, p. 243-275, 1989

JANG, S.; KELLEY, K.W.; JOHNSON, R.W. Luteolin reduces IL-6 production in microglia by inhibiting JNK phosphorylation and activation of AP-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* v.105, p.7534-7539, 2008.

JENMEY, A.; PROIETTO, J.; O'DEA, K.; NANKERVIS, A.; TRAIANEDES, K.; D'EMBDEN, E. Low-dose acarbose improves glycemic control in NIDDM patients without change in insulin sensitivity. *Diabetes Care*. v.16, p.499-502, 1993.

JOLY, A.B. *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 12 ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, 1998.

KAMADA, C.; DA-SILVA, EL.; OHNISHI-KAMEYAMA, M.; MOON, J.H.; TERAQ, J. Attenuation of lipid peroxidation and hyperlipidemia by quercetin glucoside in the aorta of high cholesterol-fed rabbit. *Free Radic Res.* v.39, p.185–194, 2005.

KAR, A.; CHAUDHARY, B. K.; BANDYOPADHYAY, N. G. Preliminary studies on the inorganic constituents of some indigenous hypoglycaemic herbs on oral glucose tolerance test. *J. Ethnopharmacol.*, v. 64, p. 179-184, 1999.

KENNEDY, G.L.; FERENZ, R.L.; BURGESS, B.A. Estimation of acute oral toxicity in rats by determination of the approximate lethal dose rather than the LD50. *J Appl Toxicol.* v.6, p.145-148, 1986.

KIM, H.P.; SON, K.H.; CHANG, H.W.; KANG, S.S. Anti-inflammatory plant flavonoids and cellular action mechanisms. *J. Pharmacol. Sci.* v.96, p.229-245, 2004.

KIM, J.A.; KIM, D.K.; KANG, O.H.; CHOI, Y.A.; PARK, H.J.; CHOI, S.C.; KIM, T.H.; YUN, K.J.; NAH, Y.H.; LEE, Y.M. Inhibitory effect of luteolin on TNF-alpha-induced IL-8 production in human colon epithelial cells. *Int. Immunopharmacol.* v.5, p. 209-217, 2005.

KIM, J.S.; JOBIN, C. The flavonoid luteolin prevents lipopolysaccharide-induced NF-kappaB signalling and gene expression by blocking IkappaB kinase activity in intestinal epithelial cells and bone-marrow derived dendritic cells. *Immunology.* v.115, p. 375-387, 2005.

KIRPICHNIKOV, D.; MCFARLANE, S.I.; SOWERS, J.R. Metformin: an update. *Ann Intern Med.* v.137, p.25-33, 2002.

KLEIN, S.; ALLISON, D.B.; HEYMSFIELD, S.B.; KELLEY, D.E.; LEIBEL, R.L.; NONAS, C.; KAHN, R. Waist circumference and cardiometabolic risk: a consensus statement from shaping America's health: Association for Weight Management and Obesity Prevention; NAASO, the Obesity Society; the American Society for Nutrition; and the American Diabetes Association. *Diabetes Care.* v.30, p.1647-1652, 2007.

KO, F.N.; CHU, C.C.; LIN, C.N.; CHANG, C.C.; TENG, C.M. Isoorientin-6"-O-glucoside, a water-soluble antioxidant isolated from *Gentiana arisanensis*. *Biochim. Biophys. Acta,* v.1389, p.81-90, 1998.

KONG, L.D.; WOLFENDER, J.L.; CHENG, C.H.; HOSTETTMANN, K.; TAN, R.X. Xanthine oxidase inhibitors from *Brandisia hancei*. *Planta Med.*, v.65, p.744-746, 1999.

KOTEISH, A.; DIEHL, A.M. Animal models of steatosis. *Semin Liver Dis.* v.21, n.1, p.89-104, 2001.

KÜPELI, E.; ASLAN, M.; GÜRBÜZ, I.; YESILADA, E. Evaluation of in vivo biological activity profile of isoorientin. *Z Naturforsch [C].* v.59, n.11-12, p.787-790, 2004.

LAMBA, S.S.; BUCH, K.Y.; LEWIS, H.; LAMBA, H.J. Phytochemicals as potential hypoglycemic agents. *Studies in Natural Products Chemistry*, v. 21, p. 457- 495, 2000.

LÊ, K.A.; MAHURKAR, S.; et al. Subcutaneous adipose tissue macrophage infiltration is associated with hepatic and visceral fat deposition, hyperinsulinemia and stimulation of NF-kB stress pathway. *Diabetes.* v.60, p.2802-2809, 2011.

LEITE, A.C.; ARAUJO, T.G.; CARVALHO, B.M.; MAIA, M.B.S.; LIMA, V.L.M. Characterization of the Antidiabetic Role of *Parkinsonia aculeata* (Caesalpineaceae). *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, v.2011, 2011.

LEITE, A.C.; ARAUJO, T.G.; CARVALHO, B.M.; SILVA, N.H.; LIMA, V.L.M.; MAIA, M. B. S. *Parkinsonia aculeata* aqueous extract fraction: Biochemical studies in alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.111, p.547-552, 2007.

LEVY-COSTA, R. B.; SICHIERI, R.; PONTES, N.S.; MONTEIRO, C. A. Disponibilidade domiciliar de alimentos no Brasil: distribuição e evolução (1974-2003). *Rev. Saúde Pública*. v.39, n.4, 2005.

LIESE, A.D.; MAYER-DAVIS, E.J.; HAFFNER, S.M. Development of the multiple metabolic syndrome: an epidemiologic perspective. *Epidemiol Rev*. v.20, p.:157-172, 2008.

LIM, J.H.; PARK, H.S.; CHOI, J.K.; LEE, I.S.; CHOI, H.J. Isoorientin induces Nrf2 pathway-driven antioxidant response through phosphatidylinositol 3-kinase signaling. *Arch. Pharm. Res*. v.30, p. 1590-1598, 2007.

LOPES, H. F. *Síndrome Metabólica: uma abordagem multidisciplinar*. São Paulo: Atheneu, 2007.

LORENZO, C.; WILLIAMS, K.; HUNT, K.J.; HAFFNER, S.M. The National Cholesterol Education Program - Adult Treatment Panel III, International Diabetes Federation, and World Health Organization definitions of the metabolic syndrome as predictors of incident cardiovascular disease and diabetes. *Diabetes Care*. v.30, p.8–13, 2007.

LUNA V, CASAUBAN L, SAJAN MP, GOMEZ-DASPET J, POWE JL, MIURA A, et al. Metformin improves atypical protein kinase C activation by insulin and phosphatidylinositol-3,4,5-(PO4)3 in muscle of diabetic subjects. *Diabetologia*. v.49, p.375-382, 2006.

LUNA, B.; FEINGLOS, M.N. Oral agents in the management of type 2 diabetes mellitus. *Am Fam Physician*. v.63, p.1747-80, 2001.

MALAISSE, W.J.; LEBRUN, P. Mechanisms of sulfonylurea-induced insulin release. *Diabetes Care*. v.13, supl.3, p.9-17, 1990.

MARCHETTI, P.; DEL-GUERRA, S.; MARSELLI, L.; LUPI, R.; MASINI, M.; POLLERA, M.; et al. Pancreatic islets from type 2 diabetic patients have functional defects and increased apoptosis that are ameliorated by metformin. *J Clin Endocrinol Metab*. v.89, p.5535-5541, 2004.

MARZOUK, M.S.; MOHARRAM, F.A.; EL-DIB, R.A.; EL-HOSSARY, D.G. Novel Macrocyclic Monoterpene Glycosides from Bioactive Extract of *Parkinsonia aculeata* L. *Cell Biochem Biophys*. v.65, p.301–313, 2013.

MATSUZAWA-NAGATAA, N.; TAKAMURA, T.; ANDO, H.; NAKAMURAA, S.; KURITA, S.; MISU, H. Increased oxidative stress precedes the onset of high-fat diet-induced insulin resistance and obesity. *Metabolism*. v.57, p.1071-1077, 2008.

MATTHAEI, S.; HAMANN, A.; KLEIN, H.H.; BENECKE, H.; KREYMANN, G.; FLIER, J.S.; et al. Association of Metformin's effect to increase insulin-stimulated glucose transport with potentiation of insulin-induced translocation of glucose transporters from intracellular pool to plasma membrane in rat adipocytes. *Diabetes*. v.40, p.850-857, 1991.

MATTHEWS, D.R.; HOSKER, J.P.; RUDENSKI, A.S.; NAYLOR, B.A.; TREACHER, D.F.; TURNER, R.C. Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia*. v.28, p.412–419, 1985.

MAYES, P.A. Intermediary metabolism of fructose. *Am J Clin Nutr.* v.58, Supl. 5, p.754-765, 1993.

McCUNE, L. M.; JOHNS, T. Antioxidant activity in medicinal plants associated with the symptoms of diabetes mellitus used by indigenous peoples of the North American Boreal Forest. *J. Ethnopharmacol.*, v. 82, p. 197-205, 2002.

MELLO, M.P.; PENACHIONI, J.Y.; AMARAL, F.C.; CASTRO, M. Deficiência da 11-hidroxilase. *Arq Bras Endocrinol Metab.* v.48, n.5, p.713-23, 2004.

MIRA, L.; FERNANDEZ, M.T.; SANTOS, M.; ROCHA, R.; FLORENCIO, M.H.; JENNINGS, K.R. Interactions of flavonoids with iron and copper ions: a mechanism for their antioxidant activity. *Free Radic. Res.* v.36, p. 1199-1208, 2002.

MONDINI, L.; MONTEIRO, C. A., 1995. Mudanças no padrão de alimentação. In: Velhos e Novos Males da Saúde no Brasil. *A Evolução do País e de suas Doenças* (C. A. Monteiro, org.), pp. 79-89, São Paulo: Editora Hucitec/Núcleo de Pesquisas Epidemiológicas em Nutrição e Saúde, Universidade de São Paulo.

MONNIER, L; COLETTE, C.; PERCHERON, C.; DESCOMPS, B. Insulin, diabetes and cholesterol metabolism. *C R Seances Soc Biol Fil.* v.189, n.5, p.919-931, 1995.

MONTEIRO, C. A.; MONDINI, L.; COSTA, R. L. Mudanças na composição e adequação nutricional da dieta familiar nas áreas metropolitanas do Brasil (1988-1996). *Revista de Saúde Pública*, v.34, p.251-258, 2000.

MORENO, G.; PERELLO, M.; CAMIHORT, G.; LUNA, G.; CONSOLE, G.; GAILLARD, R.C.; SPINEDI, E. Impact of transient correction of increased adrenocortical activity in hypothalamusdamaged, hyperadipose female rats. *Int J Obes (London).* v.30, n.1, p.73-82, 2006.

MORENO-ALIAGA, M.J.; CAMPIO´N, J.; MILAGRO, F.I.; BERJO´N, A.; MARTÍ´NEZ, J.A. Adiposity and proinflammatory state: the chicken or the egg. *Adipocytes.* v.1, p.1–9, 2005.

MÖSTL, E.; PALME, R. Hormones as indicators of stress. *Domest Anim Endocrinol.* v.23, p.67-74, 2002.

MRUTHUNJAYA, K.; HUKKERI, V.I. *In vitro* antioxidant and free radical scavenging potential of *Parkinsonia aculeata* Linn. *Pharmacognosy Magazine.* v.4, p.42–51, 2008.

NAGAI, Y.; NISHIO, Y.; NAKAMURA, T.; MAEGAWA, H.; KIKKAWA, R.; KASHIWAGI, Amelioration of high fructose-induced metabolic derangements by activation of PPARalpha. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* v.282, n.5, p. 1180-1190, 2002.

NAGÃO, A.; SEKI, M.; KOBAYASHI, H. Inhibition of xanthine oxidase by flavonoids. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* v.63, p. 1787-1790, 1999.

NATHAN, D.M.; BUSE, J.B.; DAVIDSON, M.B.; FERRANNINI, E.; HOLMAN, R.R.; SHERWIN, R.; et al. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. *Diabetes Care* v.32, n.1, p.193-203, 2009.

NCEP, *National Cholesterol Education Program's Adult Treatment Panel III -ATPIII*, 2001

NETO, M.C.L.; NETOA, M.C.L.; VASCONCELOSA, C.F.B.; THIJANA, V.N.; CALDASA, G.F.R.; ARAÚJO, A.V.; COSTA-SILVA, J.H.; AMORIMA, E.L.C.; FABIANO FERREIRA, F.; OLIVEIRA, A.F.M.; WANDERLEY, A.G. Evaluation of antihyperglycaemic activity of *Calotropis procera* leaves extract on streptozotocin-induced diabetes in Wistar rats. *Rev Bras Farmacogn.* v.23, p.913-919, 2013.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes, *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.* v.41, p.122-142, 2005.

NGUYEN, M.T.A., et al. A subpopulation of macrophages infiltrates hypertrophic adipose tissue and is activated by free fatty acids via toll-like receptors 2 and 4 JNK dependent pathways. *The Journal of Biological Chemistry.* v.282, n.48, p.35279-35292, 2007.

NOVAES, A. P.; ROSSI, C.; POFFO, C.; PRETTI JÚNIOR, E.; OLIVEIRA, A. E.; SCHLEMPER, V.; NIERO, R.; CECHINEL-FILHO, V.; BÜRGER, C. Preliminary evaluation of the hypoglycemic effect of some Brazilian medicinal plants. *Therapie*, v. 56, p. 427- 430, 2001.

OLOKOBA, A.B.; OBATERU, A.O.; OLOKOBA, L.B. Type 2 diabetes mellitus: A review of current trends. *Oman Medical Journals.* v.27, n.4, p.269-273, 2012.

ORWA, C.; MUTUA, A.; KINDT, R.; JAMNADASS, R.; SIMONS, A. Agroforestree database: A tree reference and selection guide version 4.0. Nairobi, Kenya. <http://eolspecies.lifedesks.org/node/3416>. (2009).

PAN, X.R.; LI, G.W.; HU, Y.H.; et al. Effects of diet and exercise in preventing NIDDM in people with impaired glucose tolerance. The Da Quing IGT and Diabetes Study. *Diabetes Care.* v.20, p.537-54, 1997.

PANKOW, J.S.; DUNCAN, B.B.; SCHMIDT, M.I.; BALLANTYNE, C.M.; COUPER, D.J.; HOOGEVEEN, R.C.; GOLDEN, S.H. Fasting plasma free fatty acids and risk of type 2 diabetes: atherosclerosis risk in communities study. *Diabetes Care*, v.27, n.1, p.77-82, 2004.

PELUSO, M.R. Flavonoids attenuate cardiovascular disease, inhibit phosphodiesterase, and modulate lipid homeostasis in adipose tissue and liver. *Exp Biol Med* v.231, p.1287–1299, 2006.

PEÑA-CHOCARRO, M.; DE-EGEA, J.; VERA, M.; MATURO, H.; KNAPP, S. *Guia de arboles y arbustos del Chaco humedo* (eds. J De Egea y M Pena-Chocarro). The Natural History Museum, Guyra Paraguay, Fundacion Moises Bertoni y Fundacion Habitat y Desarrollo. Asuncion, Paraguay. p.244–245, 2006.

PENALVA, D. Q. F. Síndrome metabólica: diagnóstico e tratamento. *Rev Med (São Paulo)*, v.87, n.4, p.245-250, 2008.

PEREZ-GUTIÉRREZ, R.M.; CERVANTES, C.H.; ZAVALA, S.M.A.; SANCHEZ, A.J.; PEREZ, G.S.; PEREZ, G.C. Isolation and hypoglycemic activity of 5, 7, 3'-trihydroxy-3,6,4'-trimetoxiflavona from *Brickellia veronicaefolia*. *Phytomedicine*, v.7, p.25-29, 2000

PICCHI, M.G.; MATTOS, A.M.; BARBOSA, M.R.; DUARTE, C.P.; GANDINI, M.A.; PORTARI, G.V.; JORDÃO, A.A. A high-fat diet as a model of fatty liver disease in rats. *Acta Cir. Bras.* v.26, supl.2, 2011.

PIETTA, P.G. Flavonoids as antioxidants. *J. Nat. Prod.* v.63, p.1035-42, 2000.

POPKIN, B. M. The nutrition transition and obesity in the developing world. *Journal of Nutrition*, v.131, p.871-873. 2001.

POPKIN, B. M. Urbanization, lifestyle changes and the nutrition transition. *World Development*, v.27, p.1905-1916, 1999.

PROJETTO, J. Mechanisms of insulin resistance caused by nutrient toxicity. *Hepatol Res.*v.33, n.2, p.87-91, 2005.

REVILLA-MONSALVE, M.C.; ANDRADE-CETTO, A.; PALOMINO-GARIBAY, M.A.; WIEDENFELD, H.; ISLAS-ANDRADE, S. Hypoglycemic effect of *Cecropia obtusifolia* Bertol aqueous extracts on type 2 diabetic patients. *J Ethnopharmacol.* v.111, n.3, p.636-640, 2007.

REYNA, S.M. et al. Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin resistant subjects. *Diabetes.*v.57, p.2595-2602, 2008.

RICE-EVANS, C. Flavonoid antioxidants. *Curr. Med. Chem.*v.8, p.797-807, 2001.

RICE-EVANS, C.A.; MILLER, N.J.; PAGANGA, G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radic. Biol. Med.* v.20, p.933-956, 1996.

RIVERA, L.; MORÓN, R.; SÁNCHEZ, M.; ZARZUELO, A.; GALISTEO, M. Quercetin Ameliorates Metabolic Syndrome and Improves the Inflammatory Status in Obese Zucker Rats. *Obesity.*v.16, p.2081–2087, 2008.

SADIK, C.D.; SIES, H.; SCHEWE, T. Inhibition of 15-lipoxygenases by flavonoids: structure-activity relations and mode of action. *Biochem. Pharmacol.* v.65, p.773-781, 2003.

SAID, O.; KHALIL, K.; FULDER, S.; AZAIZEH, H. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region. *J. Ethnopharmacol.*, v. 83, p. 251-265, 2002.

SANTOS, R.F.; NORMIZO, R.; WAJCHENBERG, B.L.; REAVEN, G.; AZHAR, S. Changes in insulin receptor tyrosine kinase activity associated with metformin treatment of type 2 diabetes. *Diabetes Metabol* n.21, p.274-280, 1995.

SAXENA, A.; VIKRAM, N. K. Role of selected Indian plants in management of type 2 diabetes: a review. *J. Altern. Complem. Med.*, v.10, p.369-378, 2004.

SBC-Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Arq. Bras. Cardiol.* v.84, supl.1, 2005

SBH-Sociedade Brasileira de Hipertensão. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. *Hipertensão.* v.7, n.4, 2004.

SEGAL, P. Efficacy and safety of miglitol therapy compared with glibenclamide in patients with NIDDM inadequately controlled by diet. *Diabetes Care*. v.20, p.687, 1997.

SERAPHIM, P.M.; NUNES, M.T.; MACHADO, U.F. GLUT4 protein expression in obese and lean 12-month-old rats: insights from different types of data analysis. *Braz J Med Biol Res*. v.34, p.1353-1362, 2001.

SEZIK, E.; ASLAN, M.; YESILADA, E.; ITO, S. Hypoglycemic activity of *Gentiana olivieri* and isolation of the active constituent through bioassay-directed fractionation techniques. *Life Sci*. v.76, p.1223-1238, 2005.

SHAFAT, A.; MURRAY, B.; RUMSEY, D. Energy density in cafeteria diet induced hyperphagia in the rat. *Appetite*. v.52, n.1, p.34-38, 2009.

SHAH, O.J.; HUNTER, T. Turnover of the active fraction of IRS1 involves raptor-mTOR-and S6K1-dependent serine phosphorylation in cell culture models of tuberous sclerosis. *Mol Cell Biol*. v.26, p.17, p.6425-34, 2006.

SHIBANO, M.; KAKUTANI, K.; TANIGUCHI, M.; YASUDA, M.; BABA, K. Antioxidant constituents in the dayflower (*Commelina communis* L.) and their alpha-glucosidase-inhibitory activity. *Nat Med* v.62, n.3, p.349-53, 2008.

SIEVENPIPER, J.L.; JENKINS, D.J.A.; JOSSE, R.G.; VUKSAN, V. Dilution of the 75-g oral glucose tolerance test increases postprandial glycemia: implications for diagnostic criteria. *CMAJ*. v.162, p.993-996, 2000.

STOTHARD, K.J.; TENNANT, P.W.; BELL, R.; RANKIN, J. Maternal overweight and obesity and the risk of congenital anomalies: a systematic review and meta-analysis. *V.*;301, Nº 6, nensalidade que :636-50, 2009.

STROWIG, S.M.; RASKIN, P. Combination therapy using metformin or thiazolidinediones and insulin in the treatment of diabetes mellitus. *Diabetes Obes Metab*. v.7, p.633-641, 2005.

TASKINEN, M.R.; BELTZ, W.F.; HARPER, I.; FIELDS, R.M.; SCHONFELD, G.; GRUNDY, S.M.; HOWARD, B.V. Effects of NIDDM on very-low-density lipoprotein triglyceride and apolipoprotein B metabolism. Studies before and after sulfonylurea therapy. *Diabetes*. v.35, n.11, p.1268-1277, 1986.

TRAYHURN, P.; WOOD, I.S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of white adipose tissue. *Br J Nutr*. v.92, p.347-355, 2004.

TZATSOS, A.; KANDROR, K.V. Nutrients suppress phosphatidylinositol 3 kinase/ Akt signaling via raptor dependent mTOR-mediated insulin receptor substrate 1 phosphorylation. *Molecular and Cellular Biology*. v.26, n.1, p.63-76, 2006.

UK Prospective Diabetes Study. Effect of intensive blood-glucose control with metformin on complications in overweight patients with type 2 diabetes (UKPDS 34). UK Prospective Diabetes Study group. *Lancet*. v.352, p.854-865, 1998.

URSICH, M.J.M.; SILVA, M.E.R.; ROCHA, D.M. Tratamento do diabetes mellitus. In: Wajchenberg BL - *Tratado de Endocrinologia Clínica*. São Paulo: Roca, p.789, 1992.

VALEDO, S.F.; VILA-BEDMAR, R.; NIETO-VAZQUEZ, I.; LORENZO, M. C-Jun N-terminal kinase1/2 activation by tumor necrosis factor α induces insulin resistance in human visceral but not subcutaneous adipocytes: reversal by liver x receptor agonists. *J Clin Endocrinol Metab.* v.94, n.9, p.3583-3593, 2009.

VAN-DE-LAAR, F.A.; LUCASSEN, P.L.; AKKERMANS, R.P.; VAN-DE- LISDONK, E.H.; RUTTEN, G.E.; VAN-WEEL, C. Alpha- glucosidase inhibitors for patients with type 2 diabetes: results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* v.28, n.1, p.154-163, 2005.

VASDEV, S.; LONGERICH, L.; GILL, V. Prevention of fructose-induced hypertension by dietary vitamins. *Clin Biochem.* v.37, p.1-9, 2004.

VATS, V.; YADAV, S.P.; GROVER, J.K. Effect of *T. foenumgraecum* on glycogen content of tissues and the key enzymes of carbohydrate metabolism. *J Ethnopharmacol.* v.85, p.237–242, 2003.

VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; CALDERON, I. M. P.; RUDGE, M. V. C. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes mellitus. *Rev. Bras. Pl. Med.*, v. 4, p.35-45, 2002.

VON-DIEMEN, V.; TRINDADE, E.N.; TRINDADE, M.R. Experimental model to induce obesity in rats. *Acta Cir Bras.* v.21, n.6, p.425-9, 2006.

WANG, H.X.; NG, T.B. Natural products with hypoglycemic, hypotensive, hypocholesterolemic, antithrombotic and antithrombotic activities. *Life Sci.*, v.65, p.2663-2677, 1999.

WEISBERG, S.P.; MCCANN, D.; DESAI, M.; ROSENBAUM, M.; LEIBEL, R.L.; FERRANTE, A.W. JR. Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. *J Clin Invest.* v.112, n.12, p.1796-1808, 2003.

WILLETT, W.C. Is dietary fat a major determinant of body fat? *Am J Clin Nutr.* v.67, p.556-562, 1998.

WOFFORD, M.R.; HALL, J.E. Pathophysiology and treatment of obesity hypertension. *Curr Pharm Des.* v.10, p.3621-3637, 2004.

XAGORARI, A.; PAPAPETROPOULOS, A.; MAUROMATIS, A.; ECONOMOU, M.; FOTSIS, T.; ROUSSOS, C. Luteolin inhibits an endotoxin-induced phosphorylation cascade and proinflammatory cytokine production in macrophages. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* v.296, p.181-187, 2001.

ZAMMIT, V.A.; WATERMAN, J.I.; TOPPING, D.; MCKAY, G. Insulin stimulation of hepatic triacylglycerol secretion and the etiology of insulin resistance. *J Nutr.* v.131, n.8, p.2074-2077, 2001.

ZERN, T.L.; FERNANDEZ, M.L. Cardioprotective effects of dietary polyphenols. *J Nutr.* v.135, p.2291–2294, 2005.

ZERN, T.L.; WEST, K.L.; FERNANDEZ, M.L. Grape polyphenols decrease plasma triglycerides and cholesterol accumulation in the aorta of ovariectomized guinea pigs. *J Nutr.* v.133, p.2268–2272, 2003.

ANEXO

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
Fones: (55 81) 2126 8840 / 2126 8161
Fax: (55 81) 2126 8356
www.ccb.ufpe.br



Recife, 24 de outubro de 2012

Ofício nº 493/12

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE

Para: **Profª. Maria Bernadete de Souza Maia**

Departamento de Fisiologia e Farmacologia

Universidade Federal de Pernambuco

Processo nº 23076.035789/2012-03

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, **"Avaliação do efeito antidiabético da Parkinsonia aculeata (Caesalpinaceae): Estudos bioquímicos e metabômicos em ratos com índice de síndrome metabólica"**.

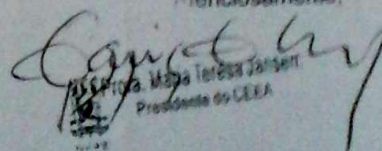
Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos parecer favorável aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Fisiologia e Farmacologia - UFPE; Animais: camundongos e ratos; Sexo: fêmeas e machos; Idade: 45 dias; Peso: 25 - 30g; Número de animais previsto no protocolo: 120 ratos e 180 camundongos.

Atenciosamente,


Profª. Maria Teresa Jansen
Presidente da CEUA