



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS**  
**INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS**  
**PROGRAMA de PÓS-GRADUAÇÃO em**  
**CIÊNCIAS BIOLÓGICAS: FISILOGIA e FARMACOLOGIA**



**Investigação dos efeitos de extratos de *Terminalia glabrescens* e *Terminalia phaeocarpa* (Combretaceae) em modelo de Diabetes tipo 2 e na síndrome metabólica induzida por dieta hiperlipídica**

**Ulrich Carlos Mbiakop**

**Belo Horizonte**

**2020**

**Ulrich Carlos Mbiakop**

**Investigação dos efeitos de extratos de *Terminalia glabrescens* e *Terminalia phaeocarpa* (Combretaceae) em modelo de Diabetes tipo 2 e na síndrome metabólica induzida por dieta hiperlipídica**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia e Farmacologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Biológicas.

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Steyner de França Côrtes

Coorientadores:

Prof. Fernão Castro Braga

Profa. Maria Aparecida Vieira

043

Mbiakop, Ulrich Carlos.

Investigação dos efeitos de extratos de *Terminalia glabrescens* e *Terminalia phaeocarpa* (Combretaceae) em modelo de Diabetes tipo 2 e na síndrome metabólica induzida por dieta hiperlipídica [manuscrito] / Ulrich Carlos Mbiakop. – 2020.

174 f. : il. ; 29,5 cm.

Orientador: Prof. Steyner de França Côrtes. Coorientadores: Prof. Fernão Castro Braga; Profa. Maria Aparecida Vieira.

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Minas Gerais, Instituto de Ciências Biológicas. Programa de Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia.

1. Farmacologia. 2. Síndrome X Metabólica. 3. Diabetes Mellitus Tipo 2. 4. *Terminalia*. 5. alfa-Amilases. 6. Lipase. I. Côrtes, Steyner de França. II. Braga, Fernão Castro. III. Vieira, Maria Aparecida. IV. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Biológicas. V. Título.

CDU: 615



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS  
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FISIOLOGIA E FARMACOLOGIA

### ATA DA DEFESA DA TESE DE DOUTORADO Nº 323 DE ULRICH CARLOS MBIAKOP

Às 14:00 horas do dia 18 do mês de agosto de 2020, através de Webconferência pela Rede Nacional de Pesquisa (RNP), realizou-se a sessão pública para a defesa da Tese de **Ulrich Carlos Mbiakop**. A presidência da sessão coube ao **Prof. Dr. Steyner de França Côrtes**, orientador. Inicialmente, o presidente fez a apresentação da Comissão Examinadora assim constituída: **Prof. Dr. Patrick Wander Endlich**, UFMG, **Profa. Dra. Aline Carvalho Pereira**, DSA/UFLA, **Profa. Dra. Andrea de Castro Perez**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, **Prof. Dr. Stêfany Bruno de Assis Cau**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, **Prof. Dr. Fernão Castro Braga**, FARMACIA/Universidade Federal de Minas Gerais, coorientador, **Profa. Dra. Maria Aparecida Ribeiro Vieira**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, coorientadora, e **Prof. Dr. Steyner de França Côrtes**, ICB/Universidade Federal de Minas Gerais, orientador. Em seguida, o candidato fez a apresentação do trabalho que constitui sua **Tese de Doutorado**, intitulada: "**Investigação dos Efeitos de Extratos de Terminalia Glabrescens e Terminalia Phaeocarpa (combretaceae) Em Modelo de Diabetes Tipo 2 e Na Síndrome Metabólica Induzida Por Dieta Hiperlipídica**". Seguiu-se a arguição pelos examinadores e logo após, a Comissão reuniu-se, sem a presença do candidato e do público e decidiu considerar **APROVADA** a Tese de Doutorado. O resultado final foi comunicado publicamente ao candidato pelo presidente da Comissão. Nada mais havendo a tratar, o presidente encerrou a sessão e lavrou a presente ata que, depois de lida, se aprovada, será assinada pela Comissão Examinadora.

**Belo Horizonte, 18 de agosto de 2020.**

Assinatura dos membros da banca examinadora:



Documento assinado eletronicamente por **Stefany Bruno de Assis Cau, Professor do Magistério Superior**, em 19/08/2020, às 12:03, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Andrea de Castro Perez, Professora do Magistério Superior**, em 19/08/2020, às 15:39, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Steyner de Franca Cortes, Professor do Magistério Superior**, em 19/08/2020, às 16:17, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Patrick W Endlich, Usuário Externo**, em 19/08/2020, às 21:41, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).



Documento assinado eletronicamente por **Maria Aparecida Ribeiro Vieira, Professora do Magistério Superior**, em 20/08/2020, às 15:36, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Aline Carvalho Pereira, Usuário Externo**, em 20/08/2020, às 17:21, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



Documento assinado eletronicamente por **Fernão Castro Braga, Professor do Magistério Superior**, em 20/08/2020, às 17:32, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do [Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015](#).

---



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [https://sei.ufmg.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0218553** e o código CRC **9C95070B**.

---

## DEDICATÓRIA

*Aos meus pais TCHAKOUNTE Marie Therese e MBIAKOP Justin,*

*A minha filha TCHAKOUNTE MBIAKOP Lyse Gorethy.*

*Vocês são a fonte da energia que sempre me permitiu enfrentar dificuldades e abraçar as realidades deste mundo. Que Deus e o Universo todo lhe empreguem uma vida longa. Que este trabalho seja para vocês o testemunho do meu grande amor.*

## AGRADECIMENTOS

A Deus e ao Universo todo, agradeço. Obrigado por essas maravilhas, por essas coisas bem feitas na minha vida, por todas as graças e por todas essas múltiplas possibilidades que vocês me oferecem, constantemente e em todos os momentos. Façam-me lembrar sempre, a cada momento da minha peregrinação neste mundo, que vocês são minha Rocha, minha Luz, meu Refúgio... meu Destino.

Ao meu orientador, Prof. Steyner de França Côrtes, agradeço por ter me recebido no Brasil e por tudo o que você fez para permitir minha inserção no programa de pós-graduação e pela minha integração no Brasil. Agradeço por me aceitar no seu laboratório e na sua equipe de pesquisa. Agradeço por ter me concedido a oportunidade de trabalhar neste projeto e por me orientar passo a passo neste trabalho, desde a concepção do projeto até a redação desta tese. Agradeço por ter orientado cuidadosamente e minuciosamente meus passos na pesquisa, por tornar possível meu sonho de pesquisar e por abrir a porta para inúmeras possibilidades. Graças à sua minúcia por um trabalho bem feito e bem relatado, sua experiência e suas críticas construtivas, adquiri a maturidade que me permitiu estar onde estou hoje. Obrigado professor por ter me permitido me expressar, por toda a atenção e paciência que você sempre me deu. Obrigado por tudo o que me permitiu aprender e entender, graças aos seus comentários construtivos e seu pensamento crítico, entendi hoje que tenho muito a aprender. Tive a honra de trabalhar sob a sua orientação. Receba através dessas linhas minha profunda gratidão, meus sinceros agradecimentos e a expressão de meu profundo respeito.

Aos meus queridos pais, Tchakounte Marie Therese e Mbiakop Justin, agradeço por minha educação e crescimento espiritual. Vocês sempre foram um modelo para mim. Aprendi com vocês o senso de dever, responsabilidade moral, comprometimento e perseverança, e tudo isso foi de uma importância imensurável ao longo de meu doutoramento e durante a minha estadia no Brasil. Por perto ou de longe, vocês sempre estiveram lá por mim e por meus irmãos. Recebam esta tese em honra e como uma das manifestações mais profundas do meu amor por vocês.

Ao Prof. Fernão Castro Braga, a José Hugo de Sousa Gomes e Alisson Samuel Portes Caldeira. Muito obrigado pela colaboração franca, pelo convívio e trocas de experiências. Obrigado pela parte fitoquímica deste trabalho.

A Prof<sup>a</sup> Virgínia Soares Lemos, obrigado por ter me dado acesso ao seu laboratório e por ter me permitido usar todos os equipamentos e reagentes que foram necessários para a realização do meu trabalho de tese. Muito obrigado pelos desejos e incentivos, bem como por todas essas trocas construtivas e esses bons momentos passados em seu laboratório.

A minha querida filha, Tchakounte Mbiakop Lyse Gorethy, por me deixar ir e viver tantos anos longe de você. No começo, parecia que eu estava passando por algo que nunca terminaria. Mas aos poucos comecei a entender que o tempo é como o horizonte, tão longe quanto parece, ele está muito perto de nós. Minha querida filha, eu te agradeço do fundo do meu coração, esta tese é a obra de seus desejos e orações.

A minha querida esposa, Achounna Angele Sorel, por tudo o que você era, pelo que é, por todas as dificuldades pelas quais passamos e por todo o apoio que você sempre me deu. Sua contribuição para a realização desta tese é imensurável, eu estou grato por tudo.

Aos meus queridos irmãos, Sanga Liliane, Mbonzo'o Thiery Blanchard, Djakou Serge, Nyakam Clovis, Wandji Nadège, Ngassa Roméal e Fondja Lucesse. Por todo o amor, carinho, apoio e incentivo que vocês sempre me deram nesta vida. Este trabalho também é fruto de seus sacrifícios. Encontrem nestas linhas a expressão da minha gratidão.

A Dr<sup>a</sup> Daniela Garcia, obrigado por ter liderado meus primeiros passos no uso do equipamento de estudo da reatividade vascular.

A Prof<sup>a</sup>. Maria Aparecida Ribeiro Vieira, por ter me permitido acesso ao seu laboratório, bem como ao uso de equipamentos. Agradeço por todos os conselhos, ajuda e apoio que você me deu durante todo meu doutoramento.

A Prof<sup>a</sup>. Miriam Teresa Paz Lopes, agradeço por ter me permitido acesso ao seu laboratório, bem como o uso de equipamentos e reagentes. Muito obrigado pelas múltiplas motivações, seus conselhos e sua atenção ao longo do meu doutoramento.

Ao Prof. Stêfany Bruno de Assis Cau, agradeço por todas as motivações, pelo apoio moral, pelo incentivo e pelas indicações que recebi de você. Obrigado por todos os melhores desejos para meus estudos, minha pesquisa e minha carreira. Obrigado pelas observações construtivas durante meu exame de qualificação como membro da banca examinadora.

A Prof<sup>a</sup>. Andrea de Castro Perez, agradeço pelas observações construtivas durante meu exame de qualificação como membro da banca examinadora.



A Prof<sup>a</sup>. Marina Gomes Miranda e Castor Romero, Obrigado por todos os melhores desejos para meus estudos, minha pesquisa e minha carreira. Obrigado pelas observações construtivas durante meu exame de qualificação como membro da banca examinadora.

Ao Enes Francisco Beraldo de Queiroz, eu te agradeço pelo irmão que você era, pelo irmão que você é. Estou grato por toda sua atenção, sua assistência durante toda a minha estadia no Brasil. Agradeço pelos desejos e incentivos, bem como por todos esses bons momentos que compartilhamos. Agradeço ao universo por ter permitido que nossos caminhos se encontrem neste mundo. Que o universo sempre te ilumine e permita que encontremos novamente um dia neste mundo.

Aos companheiros do Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia e Farmacologia, pelo convívio, trocas de experiências e conhecimentos.

Aos membros da banca examinadora pela prontidão em participar desta importante etapa de avaliação do nosso trabalho.

Aos professores da Pós-Graduação em Fisiologia e Farmacologia, por contribuírem para a minha formação.

Aos secretários da Pós-Graduação, Cyntia e Thiago, pelo auxílio com os assuntos burocráticos.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas – Fisiologia e Farmacologia pela oportunidade de realizar este trabalho.

Aos camundongos que foram usados e sacrificados pela realização deste trabalho.

Ao CNPq e à TWAS, pelo suporte financeiro durante todo o meu doutoramento.

Agradeço a todos que contribuíram para a realização deste trabalho e cujos nomes não foram mencionados.

*Erros e falhas são meus companheiros mais fiéis.  
Nossos olhos não veem nossos erros, mas veem nossas falhas.  
Quando tomamos consciência deles, não devemos ignorá-los  
nem negá-los, devemos saudá-los sem no entanto, elogiar a  
estupidez.*

## RESUMO

Diabetes mellitus tipo 2 (DMT2), obesidade e síndrome metabólica (SM) têm se tornado problemas de saúde pública em todo o mundo ocidental. O arsenal terapêutico atualmente disponível ainda é ineficaz em reduzir significativamente as morbidades associadas a estas doenças. Espécies do gênero *Terminalia* são utilizadas na Ásia para o tratamento do diabetes e obesidade, enquanto no Brasil não existem relatos para o uso de plantas deste gênero no tratamento destas patologias. Estudos fitoquímicos recentes sugerem que as espécies asiáticas e brasileiras apresentam um perfil químico semelhante. Por este motivo, no presente projeto decidimos investigar as atividades antidiabética, antiobesidade e anti SM das folhas de *Terminalia phaeocarpa* e *Terminalia glabrescens*. Neste estudo foram realizados ensaios *in vitro* para a atividade de  $\alpha$ -glicosidase,  $\alpha$ -amilase e lipase; e *in vivo* para teste de tolerância oral ao amido (TTA) e sacarose (TTS). Os extratos etanólicos brutos e respectivas frações das duas *Terminalias* também foram avaliados em camundongos Swiss machos com DMT2 induzida pela associação de frutose/nicotinamida/estreptozotocina tratados por 4 semanas. A espécie mais ativa foi testada em um modelo de obesidade associada à SM, induzida pela associação de dieta hiperlipídica e frutose. Nestes camundongos foram avaliados parâmetros séricos como glicose, insulina, triglicerídeos, colesterol total, hemoglobina glicada, alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FAL), creatinina e ácido úrico. Além disso, a pressão arterial sistólica (PAS), a peroxidação lipídica e a atividade hepática de glicogênio fosforilase (GP), fosfoenol-piruvatocarboxiquinase (PEPCK) proteína tirosina fosfatase 1-B (PTP1-B), também foram mensuradas. Glicose, ácido úrico e creatinina foram mensurados na urina. Os testes *in vitro* mostram que os extratos e frações de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* inibem de forma concentração-dependente a atividade das enzimas testadas, enquanto que *in vivo*, somente o extrato e frações de *T. phaeocarpa* reduziram significativamente a glicose plasmática no TTA. Nos camundongos DMT2, somente o extrato bruto (EB) e a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa* induziram uma redução consistente na glicemia, triglicerídeos, colesterol total, ALT, AST, FAL, a peroxidação lipídica e a atividade da PTP1-B. Nos camundongos com SM, o tratamento com FAE de *T. phaeocarpa* reduziu significativamente o ganho de massa corporal, níveis séricos de glicose, triglicerídeos, colesterol total, ácido úrico, proteína total, insulina, ALT, AST, a PAS e a disfunção endotelial em artérias mesentéricas, enquanto que aumentou a sensibilidade a insulina, níveis de hemoglobina total e FAL. Houve também uma redução consistente de triglicerídeos hepáticos, e da atividade da PTP1-B hepática em camundongos com SM tratados com *T. phaeocarpa*. Os presentes resultados permitem concluir que a planta *T. phaeocarpa* é mais promissora do que *T. glabrescens* para o tratamento de distúrbios metabólicos. *T. phaeocarpa* apresenta atividade antidiabética por um mecanismo dependente da inibição da absorção de glicose no trato gastrointestinal, pela inibição da neoglicogenese através da quebra de gordura e aumento da sensibilidade a insulina, via inibição da enzima PTP1-B. Adicionalmente, os presentes resultados também permitem concluir que o tratamento

com *T. phaeocarpa* melhora o perfil metabólico e alterações cardiovasculares associadas à SM induzida por dieta hiperlipídica.

**Palavras-chave:** Síndrome metabólica, diabetes mellitus tipo 2, *Terminalia phaeocarpa*, *Terminalia glabrescens*,  $\alpha$ -glicosidase,  $\alpha$ -amilase, lipase, sensibilidade à insulina, PTP1-B, PEPCK.

## ABSTRACT

Type 2 diabetes mellitus (T2DM), obesity and metabolic syndrome (MTS) have become a public health problem throughout the western world. The currently available therapeutic arsenal is still ineffective to significantly reduce the morbidities associated with these diseases. Species of the genus *Terminalia* are used in Asia for the treatment of diabetes and obesity, while in Brazil there are no reports of the use of plants of this genus in the treatment of these diseases. Recent phytochemical studies suggest that Asian and Brazilian species have a similar chemical profile. For this reason, in the present project we decided to investigate the antidiabetic and antiobesity activities of the leaves of *Terminalia phaeocarpa* and *Terminalia glabrescens*. In this study, *in vitro* assays were performed for  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase and lipase activity; and *in vivo* for oral starch tolerance (OS<sub>t</sub>TT) and sucrose (OS<sub>s</sub>TT) test. Crude ethanolic extracts and respective fractions of the two *Terminalia* were also evaluated in male Swiss mice with T2DM induced by the association of fructose / nicotinamide / streptozotocin treated for 4 weeks. The most active *Terminalia* was tested in a MTS model induced by the association of high fat diet and fructose. In these mice, serum parameters such as glucose, insulin, triglycerides, total cholesterol, glycated hemoglobin, alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), creatinine and uric acid were evaluated. In addition, systolic blood pressure (SBP), lipid peroxidation and hepatic activity of glycogen phosphorylase (GP), phosphoenol-pyruvate carboxykinase (PEPCK) protein tyrosine phosphatase 1-B (PTP1-B), were also measured. Glucose, uric acid and creatinine were measured in the urine. *In vitro* tests showed that extracts and fractions of *T. phaeocarpa* and *T. glabrescens* inhibit activity of the enzymes tested in a concentration-dependent manner, while *in vivo* only *T. phaeocarpa* extract and fractions significantly reduced plasma glucose in OS<sub>t</sub>TT. In T2DM mice, only crude extract (CE) and ethyl acetate fraction (EAF) of *T. phaeocarpa* induced a consistent reduction in glycemia, triglycerides, total cholesterol, ALT, AST, ALP, lipid peroxidation and liver PTP1-B activity. In MTS mice, treatment with EAF of *T. phaeocarpa* significantly reduced body mass gain, serum glucose levels, triglycerides, cholesterol, total, uric acid, total protein, insulin, ALT, AST, PAS and endothelial dysfunction in mesenteric arteries, while insulin sensitivity, total hemoglobin and ALP levels increased. These results allow us to conclude that the *Terminalia phaeocarpa* plant is more promising than *Terminalia glabrescens* for the treatment of metabolic disorders. *T. phaeocarpa* exhibits antidiabetic activity by a mechanism dependent on inhibition of glucose absorption in the gastrointestinal tract, by inhibition of neoglycogenesis through fat breakdown and increased insulin sensitivity via inhibition of PTP1-B enzyme. Additionally, the present results also allow us to conclude that *T. phaeocarpa* treatment improves metabolic profile and cardiovascular changes associated with hyperlipidic diet-induced MTS.

**Key words:** Metabolic syndrome, type 2 diabetes, *Terminalia phaeocarpa*, *Terminalia glabrescens*,  $\alpha$ -glucosidase,  $\alpha$ -amylase, lipase, insulin sensitivity, PTP1-B, PEPCK.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1:</b> The $\beta$ Cell-Centric Model: The Egregious Eleven. A disfunção das células $\beta$ é o denominador comum final em DM. ....	4
<b>Figura 2:</b> A via de sinalização da insulina.....	6
<b>Figura 3:</b> Efeito das sulfonilureias e outros agentes na liberação de insulina pelas células $\beta$ das ilhotas pancreáticas. ....	10
<b>Figura 4:</b> Representação esquemática dos mecanismos de ação moleculares da metformina.	12
<b>Figura 5:</b> The “inflammation hypothesis.” Fisiopatologia da resistência periférica à insulina associada à inflamação crônica induzida pela obesidade.. ....	16
<b>Figura 6:</b> The “lipid overflow hypothesis.” Fisiopatologia dos estoques lipídicos ectópicos induzidos pela obesidade que causam resistência periférica à insulina e função prejudicada das células $\beta$ .....	17
<b>Figura 7:</b> The “adipokine hypothesis.” Fisiopatologia da disfunção de adipocinas, induzida pela obesidade em células adiposas, contribuindo para a resistência periférica à insulina. ....	18
<b>Figura 8:</b> Os principais fatores de risco da síndrome metabólica.....	20
<b>Figura 9:</b> A capilarização do LSEC promove esteatose. ....	23
<b>Figura 10:</b> A disfunção do LSEC promove a esteatose.....	25
<b>Figura 11:</b> Mecanismos propostos pelos quais a dislipidemia induz a RI nos cardiomiócitos.. ....	27
<b>Figura 12:</b> Planta <i>Terminalia glabrescens</i> Mart. Foto ilustrativa da espécie e em destaque suas inflorescências e folhas.....	32
<b>Figura 13:</b> Planta <i>Terminalia phaeocarpa</i> Eichler. Foto ilustrativa da espécie e em destaque suas inflorescências e folhas.....	33
<b>Figura 14:</b> Estruturas químicas dos principais constituintes presentes no extrato etanólico e sua fração acetato de etila das folhas de <i>Terminalia phaeocarpa</i> .. ....	34

<b>Figura 15:</b> Efeito inibitório in vitro de <i>Terminalias</i> sobre as enzimas $\alpha$ -glicosidase, $\alpha$ -amilase e lipase. ....	54
<b>Figura 16:</b> Atividade de <i>Terminalias</i> no teste oral de tolerância ao amido (TTA) camundongos euglicêmicos.....	56
<b>Figura 17:</b> Atividade de <i>Terminalias</i> no teste oral de tolerância à sacarose (TTS) em camundongos euglicêmicos.....	58
<b>Figura 18:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalias</i> na variação de massa corporal em camundongos diabéticos.....	63
<b>Figura 19:</b> Efeito do tratamento subcrônico com as <i>Terminalias</i> sobre a glicemia semanal em camundongos diabéticos.....	65
<b>Figura 20:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalias</i> na variação da glicemia em camundongos diabéticos. ....	66
<b>Figura 21:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalias</i> nos níveis séricos de ácido úrico e hemoglobina glicada (HbA1c) em camundongos diabéticos. ....	67
<b>Figura 22:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalias</i> nos níveis séricos de lipídios em camundongos diabéticos.....	69
<b>Figura 23:</b> Efeito hepático do tratamento subcrônico com <i>T. glabrescens</i> em camundongos diabéticos.....	71
<b>Figura 24:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>T. phaeocarpa</i> sobre parâmetros séricos da função hepática de camundongos diabéticos.....	72
<b>Figura 25:</b> Efeito do tratamento com <i>T. phaeocarpa</i> no índice de estresse oxidativo, na atividade da PTP1-B, na massa e proteína total do fígado em camundongos diabéticos.....	75
<b>Figura 26:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalia glabrescens</i> no movimento de fluidos e na excreção renal em camundongos diabéticos.....	78
<b>Figura 27:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalia glabrescens</i> na variação de movimento de fluidos e excreção renal em camundongos diabéticos.....	79



<b>Figura 28:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalia phaeocarpa</i> no movimento de fluidos e na excreção renal em camundongos diabéticos.....	80
<b>Figura 29:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalia phaeocarpa</i> na variação de movimento de fluidos e excreção renal em camundongos diabéticos.....	81
<b>Figura 30:</b> Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalia phaeocarpa</i> nos parâmetros séricos da função renal e na massa relativa dos rins em camundongos diabéticos..	82
<b>Figura 31:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> na massa corporal semanal e a ingestão de alimento em camundongos SM. s.....	89
<b>Figura 32:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> na massa de tecidos adiposos em camundongos com SM. .	90
<b>Figura 33:</b> Efeito do tratamento crônico com de <i>T. phaeocarpa</i> nos órgãos viscerais em camundongos com SM..	91
<b>Figura 34:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> na glicemia semanal em camundongos com SM..	93
<b>Figura 35:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> no teste de tolerância à glicose (TTG) em camundongos com SM.....	94
<b>Figura 36:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> no teste de sensibilidade a insulina (TSI) em camundongos com SM.....	95
<b>Figura 37:</b> Efeito do tratamento crônico com a fração acetato de etila (FAE) de <i>T. phaeocarpa</i> no teste de tolerância ao piruvato (TTP) em camundongos com SM.....	97
<b>Figura 38:</b> Efeito do tratamento crônico com a <i>T. phaeocarpa</i> nos marcadores séricos da sensibilidade à insulina em camundongos com SM.....	99
<b>Figura 39:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> nos níveis de lipídios, ácido úrico e hemoglobina em camundongos com SM.....	101
<b>Figura 40:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> nos parâmetros séricos da função hepática em camundongos com SM.....	103

<b>Figura 41:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> nos níveis hepáticos de glicogênio e triglicerídeos, na massa e nível de triglicerídeos fecais em camundongos com SM. ....	105
<b>Figura 42:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> na atividade de enzimas hepáticas em camundongos com SM. ....	106
<b>Figura 43:</b> Efeito do tratamento crônico com <i>T. phaeocarpa</i> na função cardiovascular em camundongos com SM. ....	112

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Critérios para definir e diagnosticar SM, conforme estabelecido por diferentes entidades.....	21
<b>Tabela 2:</b> Valores de pIC50 para o efeito inibitório de <i>Terminalia phaeocarpa</i> e <i>Terminalia glabrescens</i> sobre as atividades das enzimas $\alpha$ -glicosidase, $\alpha$ -amilase e lipase. ....	55
<b>Tabela 3:</b> Parâmetros corporais obtidos antes e depois do tratamento com duas doses (30 e 100 mg/kg) do extrato etanólico bruto (EB) e da fração acetato de etila (FAE) das folhas de <i>Terminalia phaeocarpa</i> , uma dose (100 mg/kg) do EB e da fração hidrometanólica (FHM) de <i>Terminalia glabrescens</i> , e metformina (200 mg/kg) em camundongos diabéticos.....	62
<b>Tabela 4:</b> Valores de pEC50 para o efeito de fenilefrina e acetilcolina nos vasos de camundongos SM tratados com a fração acetato de etila (FAE) <i>T. phaeocarpa</i> . ....	113

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ACC: acetil-CoA carboxilase  
ADA: associação americana de diabetes  
ADP : adenosina difosfato  
AGE : produtos finais de glicosilação avançada  
AGL :ácidos graxos livres  
ALT: Alanina transaminase  
AMP :adenosina monofosfato  
AST: aspartato transaminase  
ATB: ácido tiobarbitúrico  
ATC: ácido tricloroacético  
ATP : adenosina-5'-trifosfato  
CPT-1:carnitina palmitoil transferase  
CT: colesterol total  
DAG, diacilglicerol;  
DCV: doenças cardiovasculares  
DDAG: doença de armazenamento de glicogênio (*glycogen storage disease*)  
DHGNA: doença hepática gordurosa não alcoólica  
DM: diabetes millitus  
DMT1: diabetes millitus tipo 1  
DMT2: diabetes millitus tipo 2  
DNSA :ácido 3,5-dinitrosalicílico  
DRC: doença renal crônica  
DTNB: ácido dinitro-2,2'-ditio-5,5'-dibenzoico  
EB Tg : extrato etanólico bruto de *Terminallia glabrescens*  
EB Tp: extrato etanólico bruto de *Terminallia phaeocarpa*  
EHNE: esteato-hepatite não alcoólica  
ERO: espécies reativas de oxigênio  
FAE Tg: fração acetato de etila de *Terminalia glabrescens*  
FAE Tp: fração acetato de etila de *Terminalia phaeocarpa*  
FAL: fosfatase alcalina  
FAS : *fatty acid synthase*

FGNA: fígado gorduroso não alcoólico  
FHM Tg: fração hidro-metanólica de *Terminalia glabrescens*  
FHM Tp: fração hidro-metanólica de *Terminalia phaeocarpa*  
FID : Federação Internacional de Diabetes  
G6Pase: glicose-6-fosfatase  
GIP: polipeptídeo insulínico dependente de glicose,  
GJP glicemia de jejum prejudicada  
GLP-1: peptídeo-1 semelhante a glucagon  
GLUT2 :transportador de glicose 2  
GP: glicogênio fosforilase  
GPP: glicemia pós-prandial  
HBA1c: Hemoglobina glicosilada  
HGPP : hiperglicemia pós-prandial  
HOMA-IR: modelo de avaliação da homeostase para resistência à insulina  
IDF : Federação Internacional de Diabetes  
IFG : *impaired fasting glucose* (glicemia de jejum prejudicada)  
IGF-1R : receptor do fator de crescimento semelhante à insulina 1  
IGT: *Impaired glucose tolerance* (tolerância à glicose diminuída)  
IL:interleucina  
IMC: índice de massa corporal  
IRS : receptor de insulina  
*LADA: latent autoimmune diabetes in the adult*  
LDN : lipogênese de novo  
LPP: lipase pancreática porcina,  
*LSECs, liver sinusoidal endothelial cells*  
MAPK : proteína quinase ativada por mitógenos  
MAPK8: proteína quinase ativada por mitogênio 8  
MC4R : receptor de melanocortina 4  
MCP-1, proteína quimiotática de monócitos;  
mGDP : glicerofosfato desidrogenase mitochondrial  
MKK7: proteína quinase quinase ativada por mitogênio 7  
*MODY, maturity- onset diabetes of the young*)  
NA : nicotinamida

NADH : nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida  
ND : nefropatia diabética  
OMS: Organização Mundial da Saúde  
PAS : pressão arterial sistólica  
PEPCK: fosfoenol-piruvatocarboxiquinase,  
PI3K : fosfatidilinositol 3-quinase  
PNP : palmitato de *p*-nitrofenilo  
PTK : Proteínas tirosina quinases  
PTP: Proteínas tirosina fosfatases  
PTP1-B : proteína tirosina fosfatase 1-B (*protein tyrosine phosphatase 1-B*)  
QUICKI: *quantitative insulin sensitivity check index*  
SGLT1: co-transportador de Na / glicose 1  
SGLT-2: Sodium-glucose cotransporter-2  
SM: síndrome metabólica  
STZ: estreptozotocina  
TFH: testes de função hepática  
TFG: taxa de filtração glomerular  
TG: triglicérides  
*TGF-β: transforming growth factor beta*  
TLR-4, receptor Toll-like 4  
TNF: fator de necrose tumoral;  
TSI: teste de sensibilidade à insulina  
TTA: teste de tolerância ao amido  
TTG: teste de tolerância à glicose  
TTP: teste de tolerância ao piruvato  
TTS: teste de tolerância à sacarose

## SUMÁRIO

DEDICATÓRIA.....	v
AGRADECIMENTOS.....	vi
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
LISTA DE FIGURAS.....	xiv
LISTA DE TABELAS.....	xviii
LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS.....	xix
1 INTRODUÇÃO .....	1
1.1 DIABETES MELLITUS .....	1
1.2 OBESIDADE.....	14
1.3 SÍNDROME METABÓLICA .....	19
1.4 PLANTAS MEDICINAIS E MEDICINA TRADICIONAL .....	28
1.4.1 ESPÉCIES DO GÊNERO <i>TERMINALIA</i> Linn .....	30
1.4.1.1 <i>Terminalia glabrescens</i> Mart.....	31
1.4.1.2 <i>Terminalia phaeocarpa</i> Eichler .....	32
2 OBJETIVOS.....	36
2.1 Objetivo geral: .....	36
2.2 Objetivos específicos: .....	36
3 MATERIAIS E MÉTODOS .....	37
3.1 Investigações de efeitos dos extratos sobre atividade das enzimas digestivas .....	37
3.1.1 Reagentes.....	37
3.1.2 Animais.....	37
3.1.3 Material vegetal: <i>Terminalias</i> .....	37
3.1.4 Ensaio <i>in vitro</i> de inibição de alfa-glicosidase .....	38
3.1.5 Ensaio <i>in vitro</i> de inibição da lipase pancreática.....	38
3.1.6 Ensaio <i>in vitro</i> de inibição da $\alpha$ -amilase pancreática.....	39

3.1.7	Teste de tolerância oral ao amido (TTA) e à sacarose (TTS) em animais euglicêmicos.....	39
3.2	Investigação de efeitos dos extratos em um modelo de diabetes.....	40
3.2.1	Indução do diabetes .....	40
3.2.2	Desenho experimental e tratamento .....	40
3.2.3	Massa corporal e glicemia semanal .....	41
3.2.4	Determinação dos parâmetros renais.....	41
3.2.5	Eutanásia, coleta de sangue e tecidos .....	41
3.2.6	Determinação dos parâmetros bioquímicos do sangue.....	42
3.2.7	Determinação da peroxidação lipídica e do perfil de defesa antioxidante no fígado.....	42
3.2.8	Avaliação da atividade da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1-B) do fígado ..	43
3.3	Investigação de efeitos da fração acetato de etila da <i>Terminalia phaeocarpa</i> em modelo de síndrome metabólica .....	44
3.3.1	Indução da síndrome metabólica (SM).....	44
3.3.2	Desenho experimental e tratamento .....	44
3.3.3	Massa corporal, glicemia, ingestão alimentar, excreção de fezes e pressão arterial sistólica (PAS) ao longo do tratamento .....	44
3.3.4	Teste de Tolerância à Glicose, ao piruvato (TTP) e de sensibilidade à insulina (TSI).....	45
3.3.5	Eutanásia e coleta de tecidos dos animais com a SM.....	46
3.3.6	Determinação dos parâmetros bioquímicos do sangue.....	46
3.3.7	Estudos de reatividade vascular em animais com SM.....	47
3.3.8	Análise de TG hepáticos, fecais e cardíacos.....	47
3.3.9	Quantificação do glicogênio hepático .....	48
3.3.10	Medição de atividade hepática das enzimas PEPCK e GP.....	48
3.4	Análises estatísticas .....	49
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	51



4.1	Avaliação <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> da atividade antidiabética potencial de <i>Terminalia phaeocarpa</i> e <i>Terminalia glabrescens</i> .....	51
4.1.1	Efeito inibitório <i>in vitro</i> dos extratos e frações de <i>T. phaeocarpa</i> e <i>T. glabrescens</i> sobre as atividades enzimáticas da $\alpha$ - glicosidase, $\alpha$ - amilase e lipase.....	51
4.1.2	Efeitos dos extratos das <i>Terminalias</i> sobre o teste de tolerância ao amido (TTA) e à sacarose (TTS) em camundongos euglicêmicos.....	55
4.2	Avaliação do tratamento subcrônico com extratos e frações de <i>Terminalia phaeocarpa</i> e <i>Terminalia glabrescens</i> em um modelo murino de DMT2 .....	60
4.2.1	Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalias</i> na massa corporal de camundongos DMT2.....	61
4.2.2	Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalias</i> sobre a glicemia semanal de camundongos diabéticos .....	64
4.2.3	Efeito do tratamento subcrônico com <i>Terminalias</i> nos níveis séricos de ácido úrico, triglicerídeos, colesterol total e na porcentagem da hemoglobina glicada (HbA1c) em camundongos diabéticos.....	66
4.2.4	Parâmetros séricos da função hepática de camundongos diabéticos tratados com <i>Terminalias</i> .....	70
4.2.5	Efeito do tratamento subcrônico com <i>T. phaeocarpa</i> no índice de estresse oxidativo e na atividade da PTP1-B do fígado de camundongos diabéticos .....	74
4.2.6	Efeito do tratamento subcrônico com as <i>Terminalias</i> sobre a função renal de camundongos diabéticos .....	77
4.3	Avaliação do tratamento crônico com <i>Terminalia phaeocarpa</i> em modelo de síndrome metabólica induzida por dieta hiperlipídica e frutose .....	87
4.3.1	Efeito da <i>T. phaeocarpa</i> sobre a massa corporal, a ingestão de alimento e a massa de órgãos em camundongos com SM.....	87
4.3.2	Efeito da <i>T. phaeocarpa</i> sobre a glicemia semanal, TTG, TSI e TTP em camundongos com SM.....	92
4.3.3	Efeito de <i>T. phaeocarpa</i> nos parâmetros sanguíneos e metabolismo hepático de glicose e triglicerídeos em camundongos com SM.....	97

4.3.4	Efeito da <i>T. phaeocarpa</i> nos parâmetros da função vascular de camundongos com SM. ....	110
5	CONCLUSÃO .....	116
6	REFERÊNCIAS .....	119

# **INTRODUÇÃO**

# 1 INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM) é uma constelação de fatores de risco metabólicos inter-relacionados que promovem diretamente o desenvolvimento de diabetes e doenças cardiovasculares (DCV). A resistência à insulina (RI), obesidade e inflamação parecem ser os mecanismos subjacentes predominantes para a SM (DANDONA *et al.*, 2005; RIDKER; *et al.* 2004). A SM está fortemente correlacionada com diabetes mellitus tipo 2 (DMT2) devido à relação entre obesidade e RI (MARCHESINI *et al.*, 2004). De fato, a RI é um defeito fisiopatológico característico na maioria dos indivíduos com DMT2 e a obesidade é a causa mais comum de RI (BASTARD *et al.*, 2006; KAHN *et al.*, 2006). DMT2 e obesidade são importantes distúrbios endócrinos e crescentes problemas de saúde. Eles são distúrbios metabólicos crônicos caracterizados pelo metabolismo prejudicado de carboidratos, proteínas e gorduras. Estes distúrbios metabólicos estão frequentemente associados a várias disfunções fisiológicas (CHADT *et al.*, 2018; DEFRONZO *et al.*, 2015). DMT2 e obesidade estão associados a um risco aumentado de doenças metabólicas e inflamatórias, como doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) e DCV (VAN GAAL *et al.*, 2006). A RI induzida pela obesidade no fígado, tecido adiposo branco, músculo esquelético e nos vasos, combinada com secreção insuficiente de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas para superar essa resistência, é a principal causa do DMT2 (KUSMINSKI *et al.*, 2009).

## 1.1 DIABETES MELLITUS

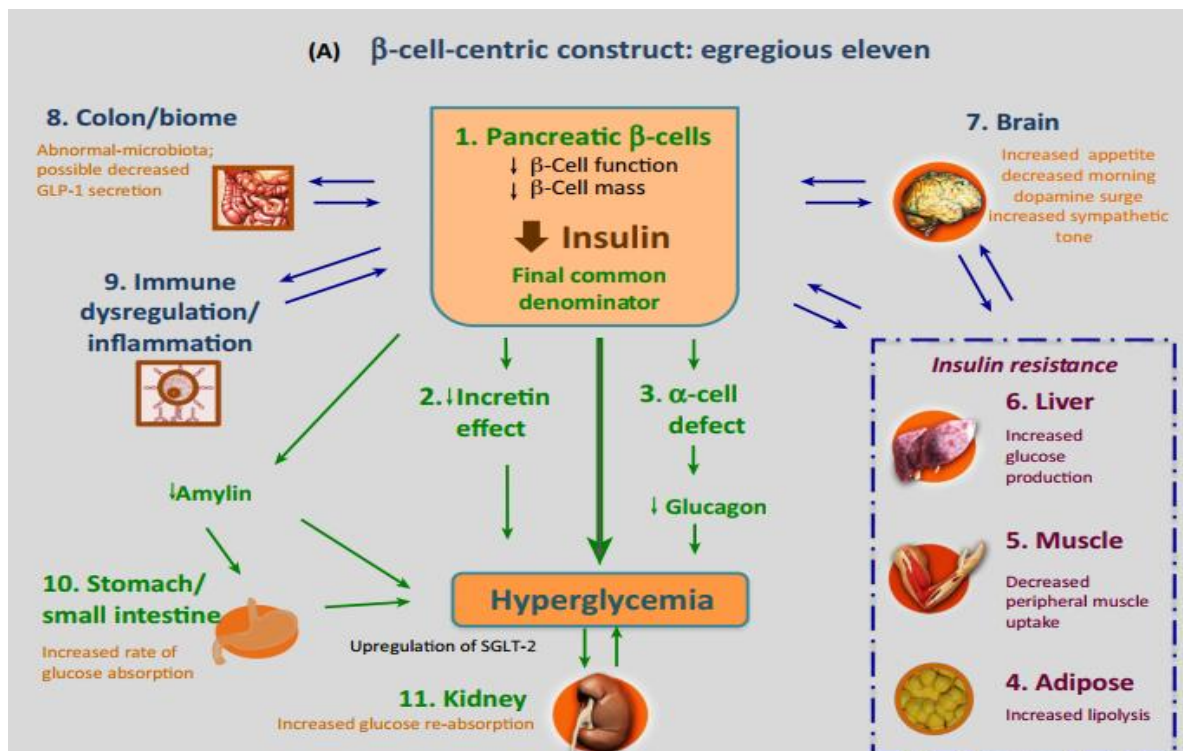
O diabetes mellitus (DM) é um distúrbio metabólico crônico caracterizado por altos níveis de glicose no sangue que resultam de deficiência absoluta ou relativa de insulina (no contexto de disfunção das células  $\beta$ ), ação defeituosa da insulina ou ambos (COLE e FLOREZ, 2020; PUNTHAKEE *et al.*, 2018). A epidemia do DM e suas complicações representa uma grande ameaça à saúde global. A Federação Internacional de Diabetes (FID) estimou em 2015 que 1 em cada 11 adultos, entre 20 e 79 anos (415 milhões de adultos), apresentava DM no mundo e que esta estimativa está sujeita a aumento (IDF, 2015; CHO *et al.*, 2018). De fato, DM constitui um grupo de doenças mais comuns e de crescimento mais rápido no mundo, projetadas para afetar 693 milhões de adultos até 2045 (CHO *et al.*, 2018); e os maiores aumentos virão das regiões que enfrentam transações econômicas, de níveis de

baixa renda para níveis de renda média (IDF, 2015, 2019). As razões para a epidemia crescente de DM são múltiplas, incluindo envelhecimento da população, desenvolvimento econômico, urbanização, hábitos alimentares pouco saudáveis e estilos de vida sedentários (ZHENG *et al.*, 2018). DM não é uma doença única, mas um grupo de doenças multifatoriais complexas do sistema endócrino, amplamente categorizadas por um único critério de diagnóstico: hiperglicemia, a via final comum em que convergem desequilíbrios metabólicos díspares (COLE e FLOREZ, 2020). A perda da massa funcional das células  $\beta$  é o mecanismo principal que leva ao DM (EIZIRIK *et al.*, 2020). O DM é uma doença heterogênea. Seus subtipos, conforme categorizados atualmente, no entanto, não se encaixam na compreensão contemporânea dos fenótipos do diabetes e estão sujeitos a muitas discussões e críticas (BASILE *et al.*, 2014; GRANT *et al.*, 2010; REDONDO, 2013; ROLANDSSON e PALMER, 2010; THOMAS e PHILIPSON, 2015). Evidências sugerem que mesmo o DMT2, representando 90-95% dos casos de DM, é heterogêneo (UDLER *et al.*, 2018). As abordagens que utilizam biomarcadores clínicos ou genéticos identificaram subtipos de DMT2 clinicamente distintos e associados diferencialmente a complicações diabéticas (AHLQVIST *et al.*, 2018; UDLER *et al.*, 2018). O atual sistema de classificação apresenta desafios para o diagnóstico e tratamento de pacientes com DM, em parte devido às definições conflitantes e confusas dos subtipos de DM (SCHWARTZ *et al.*, 2016). Novas formas de agrupar pacientes com DM em subgrupos, que preveem a progressão da doença e o risco de complicações, estão sendo investigadas (AHLQVIST *et al.*, 2018; PEARSON, 2019). Embora o DM seja classicamente dividido em diabetes mellitus tipo 1 (DMT1, uma forma autoimune de início precoce), e DMT2 (uma forma não autoimune de início tardio), existem subtipos adicionais clinicamente reconhecíveis, como diabetes monogênico (por exemplo, *MODY*, *maturity-onset diabetes of the young*), diabetes gestacional e uma forma auto-imune de início tardio (*LADA*, *latent autoimmune diabetes in the adult*) (COLE e FLOREZ, 2020).

O DMT1 representa 5 a 10% de todos os casos de diabetes (ADA, 2011). Ele é causado pela disfunção e apoptose das células  $\beta$ , devido a um processo autoimune, levando à necessidade ao longo da vida de terapia com insulina exógena (EIZIRIK *et al.*, 2020). A doença é consequência de um diálogo complexo entre macrófagos invasores ou residentes e células T, que liberam quimiocinas e citocinas no microambiente das ilhotas pancreáticas e emitem sinais pró-apoptóticos (EIZIRIK *et al.*, 2009; GONZALEZ-DUQUE *et al.*, 2018; THOMAIDOU *et al.*, 2018). Esse diálogo é determinado pelo histórico genético e pela idade do paciente, bem como por fatores ambientais, como infecções virais e dieta, entre outros

(DIMEGLIO *et al.*, 2018; ILONEN *et al.*, 2019; OP DE BEECK e EIZIRIK, 2016). Pacientes com DMT1 geralmente apresentam cetoacidose diabética (PUNTHAKEE *et al.*, 2018). A cetoacidose diabética é a consequência de uma falta absoluta ou relativa de insulina e um aumento concomitante de hormônios contrarreguladores, que resulta geralmente na tríade de hiperglicemia, acidose metabólica e cetose (DHATARIYA *et al.*, 2020).

O DMT2, caracterizado por hiperglicemia permanente, é uma doença multifatorial envolvendo fatores genéticos e ambientais. A fisiopatologia do DMT2 é complexa. Sua principal causa é uma secreção prejudicada, progressiva, de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas, geralmente em um contexto pré-existente de resistência à insulina no músculo esquelético, fígado e tecido adiposo (DeFRONZO *et al.*, 2015). A falha progressiva das células  $\beta$  é uma característica importante da doença. Atualmente, existe um esquema proposto, chamado de “The  $\beta$  Cell-Centric Model: The Egregious Eleven” (**Figura 1**), que apresenta diferentes órgãos além do pâncreas, bem como onze problemas, que desempenham um papel fundamental na insuficiência progressiva das células  $\beta$  e na patogênese do DM, incluindo o DMT2 (SCHWARTZ *et al.*, 2016).



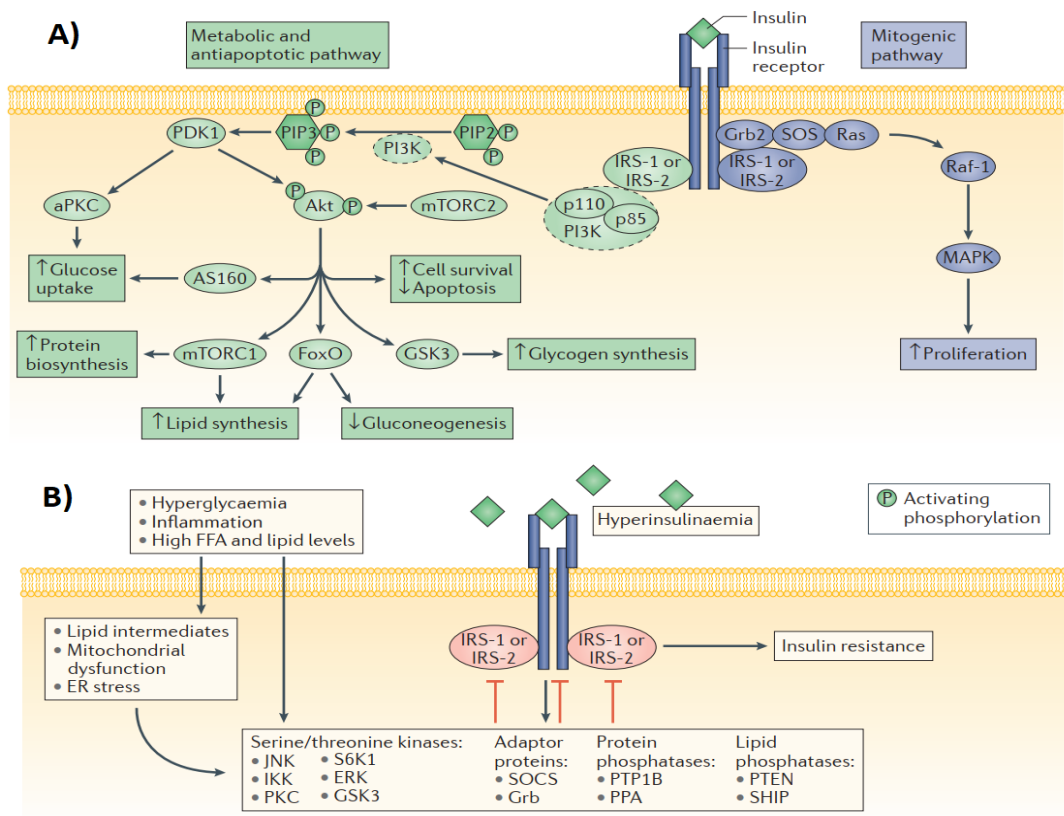
**Figura 1: The  $\beta$  Cell-Centric Model: The Egregious Eleven.** A disfunção das células  $\beta$  é o denominador comum final em DM. São mostradas onze vias mediadoras conhecidas de hiperglicemia. Muitas delas contribuem para a disfunção das células  $\beta$ . Fígado, músculo, tecido adiposo (mostrado em marrom para representar uma associação adicional com a resistência à insulina (RI)), cérebro, cólon / bioma e inflamação (todas mostradas em azul). Os outros resultam da disfunção das células  $\beta$  através de efeitos a jusante [insulina reduzida, efeito de incretina diminuído, defeito celular, estômago / intestino delgado por meio de amilina reduzida, rim (mostrado em verde)]. SGLT-2: Sodium-glucose cotransporter-2 (SCHWARTZ *et al.* 2016).

Quando os ciclos de feedback entre a ação e a secreção de insulina não funcionam adequadamente, a sua ação em tecidos sensíveis à insulina e a sua secreção pelas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas são afetadas, o que resulta em níveis anormais de insulina e glicose no sangue (STUMVOLL *et al.*, 2005). A hiperglicemia evidente é precedida por pré-diabetes (ABDUL-GHANI *et al.*, 2006; DEFRONZO, 2009), uma condição de alto risco que predispõe os indivíduos ao desenvolvimento de DM2 (DEFRONZO *et al.*, 2015; TABÁK *et al.*, 2012). Pré-diabetes é tipicamente definido como concentrações de glicose no sangue maiores que o normal, mas menores que os limiares de diabetes (TABÁK *et al.*, 2012). O pré-

diabetes é caracterizado por qualquer um dos seguintes: glicose em jejum prejudicada (GJP), tolerância à glicose prejudicada (TGP) ou níveis aumentados de hemoglobina glicada (HbA1c); indivíduos com pré-diabetes têm níveis de HbA1c entre 5,7-6,4 % (DeFronzo et al., 2015). A GJP é definida como concentrações plasmáticas de glicose em jejum entre 6,1-7,0 mmol / L, sem TGP (ADA, 2014; WHO, 2006). Indivíduos com GJP manifestam resistência hepática à insulina e diminuição da secreção precoce de insulina (primeira fase) (ABDUL-GHANI *et al.*, 2006). Enquanto a TGP é definida como concentrações plasmáticas de glicose em jejum inferiores a <7,0 mmol / L, mas 2 horas após a carga de 75 g de glicose durante um teste de tolerância à glicose (TTG), as concentrações de glicose no plasma se encaixam entre 7,8-11,1 mmol / L (ADA, 2014; WHO, 2006). A TGP é caracterizada pela RI no músculo e secreção diminuída de insulina (segunda fase) após uma refeição, (ABDUL-GHANI *et al.*, 2006). Assim, a secreção diminuída de insulina e a RI também caracterizam indivíduos com pré-diabetes.

A insulina é o hormônio central envolvido no controle do metabolismo de glicose e lipídios. Os efeitos biológicos da insulina são mediados pela ligação ao receptor de insulina, que consiste em duas subunidades  $\alpha$  de ligação extracelulares e duas subunidades  $\beta$  tirosina quinase intracelulares (KELLERER *et al.*, 1992). A insulina também pode se ligar ao receptor do fator de crescimento semelhante à insulina 1 (IGF-1R) ou seus heterodímeros, embora com afinidade reduzida em comparação à ligação ao receptor de insulina (BELFIORE *et al.*, 2009). A ativação do receptor de insulina leva à ativação e autofosforilação do receptor tirosina quinase, que inicia várias cascatas de fosforilação (KASUGA *et al.*, 1982). Após essa ativação, a modulação de uma rede de reguladores metabólitos, controlados no nível da atividade enzimática ou da expressão gênica, levam ao aumento da captação de glicose, armazenamento de glicose, síntese lipídica, síntese proteica e supressão da gliconeogênese e lipólise, conforme ilustrado na **Figura 2** (ARTUNC *et al.*, 2016).





**Figura 2: A via de sinalização da insulina.** A) Ativação das vias de sinalização da insulina. A ligação à insulina leva ao recrutamento de isoformas do substrato do receptor de insulina (IRS) e subsequente ativação da via fosfatidilinositol 3-quinase (PI3K) – Akt, que regula o metabolismo da glicose e lipídios, biossíntese de proteínas e apoptose celular. A ativação induzida por insulina da via da proteína quinase ativada por mitógenos (MAPK) aumenta a proliferação celular. B) Regulação negativa das vias de sinalização da insulina: Hiperglicemia, hiperinsulinemia, níveis elevados de ácidos graxos livres (AGL) e inflamação ativam serina/treonina-quinases, proteínas adaptadoras e fosfatases, diretamente ou via intermediários lipídicos, disfunção mitocondrial ou indução do estresse do retículo endoplasmático (ER). aPKC, proteína quinase C atípica ; AS160, substrato do Akt 160kDa; FoxO, forkhead box O; Grb, growth factor receptor-bound protein; GSK3, glycogen synthase kinase 3; IKK, IκB kinase; JNK, c-Jun N-terminal kinase; mTORC, mTOR complex; PDK1, phosphatidylinositidependent protein kinase 1; PIP2, phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate; PIP3, phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate; PKC, protein kinase C; PPA, protein phosphatase A; PTEN, phosphatase and tensin homologue; PTP1B, proteína-tirosina fosfatase 1B; p85, PI3K 85kDa regulatory subunit  $\alpha$ ; p110, PI3K 110kDa catalytic subunit  $\alpha$ ; Raf-1, RAF proto-oncogene serine/threonine-protein kinase; SHIP, SH2 domain-containing inositol phosphatase; SOCS, suppressor of cytokine signalling; SOS, son of sevenless homologue 1; S6K1, ribosomal protein S6 kinase  $\beta$ 1 (ARTUNC *et al.*, 2016).

A transdução do sinal de insulina deve ser rigorosamente controlada para evitar perturbações metabólicas e proliferativas graves. Reguladores negativos dessa transdução de sinal são frequentemente ativados pela insulina. Esse mecanismo de feedback inibe a via de sinalização nos pontos críticos, tanto no receptor de insulina, no IRS ou no Akt (ARTUNC *et al.*, 2016). Esses reguladores negativos incluem proteínas tirosina e serina/treonina fosfatases (BRADY e SALTIEL, 2001; ELCHEBLY *et al.*, 1999), que controlam os níveis de fosfatidilinositol-3,4,5-trifosfato (PI3), como a fosfatase e homólogo de tensina (PTEN) (LAZAR e SALTIEL, 2006; VINCIGUERRA e FOTI, 2006). Outro mecanismo inibidor bem estudado da via de sinalização da insulina é a fosforilação de serina/treonina do receptor de insulina e do IRS, através da ativação de serina/treonina-quinases, predominantemente c-Jun N-terminal quinase (JNK), proteína quinase C (PKC) e MAPK (COPPS e WHITE, 2012; FRITSCHÉ *et al.*, 2011; WEIGERT *et al.*, 2005).

No estado de RI, a resposta celular à insulina é reduzida; portanto, a ativação da via de sinalização da insulina requer concentrações aumentadas de insulina. Contribuintes importantes para a RI são hiperinsulinemia, hiperglicemia, inflamação, excesso lipídico, disfunção mitocondrial e estresse no retículo endoplasmático (BOUCHER *et al.*, 2014). As serina/treonina-quinases são ativadas por níveis plasmáticos elevados de insulina, glicose ou ácidos graxos livres; por lipídios ou intermediários do metabolismo lipídico (como ceramidas e diacilglicerol); ou por concentrações aumentadas de citocinas e níveis aumentados de espécies reativas de oxigênio (ARTUNC *et al.*, 2016). A desregulação da cascata de sinalização da insulina, levando à RI, é bem descrita em tecidos-alvo clássicos da insulina, que têm papéis importantes na regulação do metabolismo de glicose e lipídios. O receptor de insulina, no entanto, é onipresente, e a sinalização funcional da insulina é encontrada em outros tecidos alvo periféricos não clássicos da insulina, incluindo a vasculatura e o rim (HALE e COWARD, 2013; POTENZA *et al.*, 2009). No rim, por exemplo, a insulina se liga a receptores em células epiteliais e endoteliais ao longo do néfron (CONTI *et al.*, 1989; COWARD *et al.*, 2005; HALE e COWARD, 2013).

As alterações fisiopatológicas envolvidas no DMT2 dificultam o controle dos níveis de glicose no sangue (DEFRONZO *et al.*, 2015), resultando em hiperglicemia e hiperlipidemia, que desencadeiam várias outras condições fisiopatológicas (ARTUNC *et al.*, 2016), aumentando assim o risco de mortalidade associado ao diabetes. O DMT2 é um distúrbio progressivo e complexo, difícil de tratar efetivamente a longo prazo. O DMT2 requer cuidados médicos contínuos, autogestão do paciente e estratégias para controle de

níveis anormais de glicose, para normalizar o perfil lipídico e a pressão arterial, a fim de prevenir ou minimizar complicações microvasculares (retinopatia, nefropatia e neuropatia) e macrovasculares (doença cardíaca coronária, cardiomiopatia, doença cerebrovascular, doença arterial periférica) (HANDELSMAN *et al.*, 2015; INZUCCHI *et al.*, 2012; POZZILLI *et al.*, 2010; VIIGIMAA *et al.*, 2020), que são as causas mais comuns de mortalidade em pacientes com DMT2 ou obesidade (CALCUTT *et al.*, 2009). Por fim, uma verdadeira "cura" para o DMT2 exigirá a elucidação de sua etiologia molecular e intervenções eficazes para combater a epidemia da obesidade (DEFRONZO *et al.*, 2015). A modificação da dieta e do estilo de vida representa um aspecto importante da prevenção do DMT2. Ensaios clínicos mostraram que intervenções intensivas no estilo de vida podem reduzir a incidência de DMT2 até 58%, em comparação com os grupos controle (KNOWLER *et al.*, 2002).

Uma dieta com lipídios e carboidratos de alta qualidade (ou seja, baixo em ácidos graxos trans, alto em ácidos graxos poliinsaturados e com baixo índice glicêmico e carga glicêmica) em vez de lipídios e carboidratos de baixa qualidade, é muito importante para a prevenção de DMT2 (BHUPATHIRAJU *et al.*, 2014; LEY *et al.*, 2014; SCHULZE e HU, 2005). As recomendações alimentares para prevenir o DMT2 geralmente promovem dietas ricas em grãos integrais, frutas, nozes e legumes; e com baixo teor de grãos refinados, carne vermelha ou processada e bebidas açucaradas (LEY *et al.*, 2014). Além disso, a desnutrição (por exemplo, exposição à fome) durante o início da vida pode aumentar o risco de DMT2 mais tarde na vida (LI *et al.*, 2010).

O aumento da atividade física é um componente essencial de todos os ensaios eficazes baseados no estilo de vida para a prevenção de DMT2. Evidências prospectivas mostraram que tanto o exercício aeróbico quanto o treinamento de resistência têm efeitos benéficos na prevenção de DMT2 (GRØNTVED *et al.*, 2012). No entanto, EKELUND e colaboradores (2009) mostraram que gastar mais tempo em atividade física de intensidade moderada a vigorosa, é benéfico para prevenir a resistência à insulina, independente do tempo que o indivíduo passou sedentário (EKELUND *et al.*, 2009). Por outro lado, outro estudo mostrou que o tempo de sedentarismo estava associado a um risco aumentado de DMT2, independentemente da atividade física (ROCKETTE-WAGNER *et al.*, 2015), sugerindo que as intervenções no estilo de vida, por si só, nem sempre são funcionais. A intervenção no estilo de vida, por si só, embora inicialmente eficaz, está associada à recuperação da massa corporal em alguns indivíduos (ALI; *et al.*, 2012; DANSINGER *et al.*, 2007; PURCELL *et al.*, 2014). No entanto, pode-se esperar que indivíduos com pré-diabetes, que perdem peso e

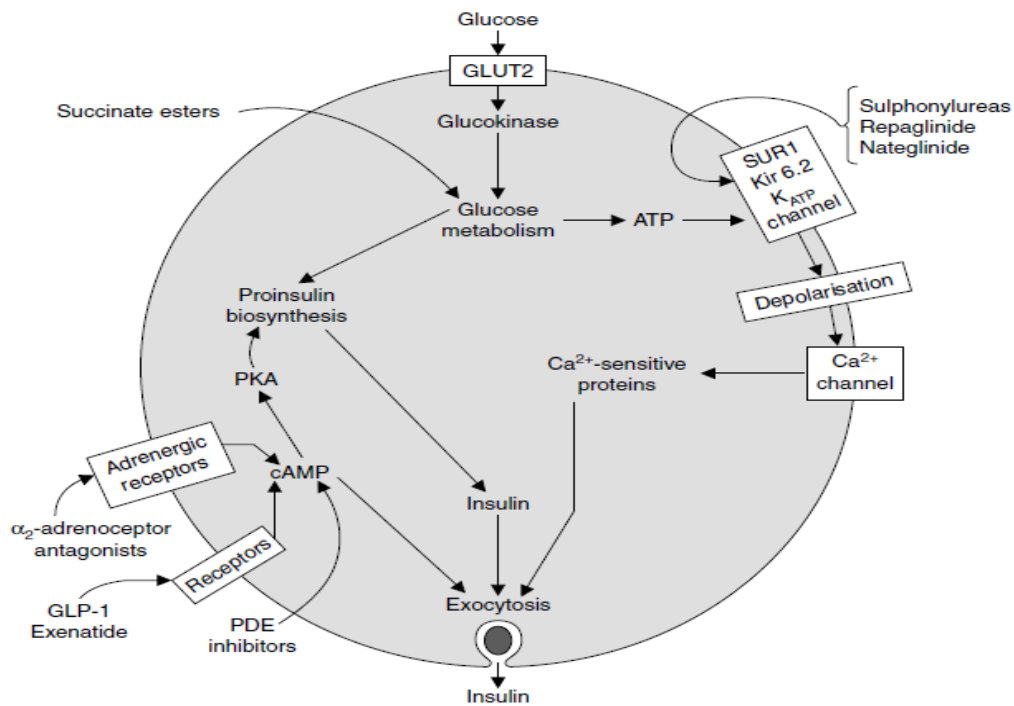
mantenham um programa de atividade física, beneficiem de um perfil lipídico melhorado, risco cardiovascular reduzido e conversão reduzida de pré-diabetes em diabetes (TUOMILEHTO *et al.*, 2001).

A prevenção mais eficaz do diabetes exigiria, portanto, a identificação de indivíduos com pré-diabetes e intervenção com modificações no estilo de vida, além de medicamentos antidiabéticos e anti-obesidade (DEFRONZO e ABDUL-GHANI, 2011; FERRANNINI *et al.*, 2011; GARVEY *et al.*, 2014). Vários agentes farmacológicos foram efetivos em diminuir a incidência de DM2, quando administrados a pacientes com pré-diabetes, sendo a maior redução obtida com as glitazonas (DEFRONZO *et al.*, 2011). Outros agentes, como acarbose e agonistas dos receptores do peptídeo semelhante ao glucagon 1 (*glucagon-like peptide-1*, GLP-1), retardam/previnem a evolução de pré-diabetes para diabetes (CHIASSON, 2006; ROUX, LE *et al.*, 2017). A Associação Americana de Diabetes (AAD) recomenda que indivíduos de alto risco (HbA1c > 6,5 %; IMC  $\geq$  30 kg/m<sup>2</sup>; idade  $\leq$  60 anos) com GJP ou TGP, sejam tratados com metformina (NATHAN *et al.*, 2007; ZINMAN *et al.*, 2010). Pioglitazona, combinações de baixas doses de rosiglitazona e metformina também são eficazes na prevenção da conversão de pré-diabetes em diabetes (DEFRONZO *et al.*, 2011; ZINMAN *et al.*, 2010). No entanto, uso clínico das glitazonas (pioglitazona, rosiglitazona) é limitado pelo alto risco de efeitos adversos, incluindo ganho de peso, insuficiência cardíaca congestiva, fraturas ósseas, edema macular e possivelmente câncer de bexiga (SCHERNTHANER *et al.*, 2013; SINGH e CORREA, 2020).

A gestão do T2DM é complicada por múltiplos distúrbios fisiopatológicos. O controle glicêmico durável requer medicamentos antidiabéticos que revertem os defeitos fisiopatológicos presentes no DM2 (ABDUL-GHANI *et al.*, 2015; DEFRONZO, 2009). Como nenhum medicamento inverte as múltiplas anormalidades, a terapia combinada (polifarmácia) ganhou ampla aceitação e continuará a crescer (DEFRONZO *et al.*, 2015; GRAM *et al.*, 2011; HARRISON *et al.*, 2012). Os medicamentos antidiabéticos orais atualmente disponíveis incluem: secretagogos de insulina (sulfonilureias, liberadores prandiais de insulina de ação rápida); inibidores de  $\alpha$ -glicosidase (acarbose, voglibose e miglitol); sensibilizadores de insulina (biguanidas e tiazolidinedionas); inibidores do co-transportador 2 de sódio/glicose (SGLT2, dapagliflozina, canagliflozina, empagliflozina).

As sulfonilureias têm efeitos diretos nas células  $\beta$  das ilhotas. Os fármacos se ligam ao receptor de sulfonilureia das células  $\beta$  (SUR) -1, parte de um complexo transmembranar com canais de potássio Kir 6.2 sensíveis à adenosina 5'-trifosfato (canais KATP) (ASHCROFT e

GRIBBLE, 1999). A ligação da sulfonilureia fecha esses canais KATP; isso reduz o efluxo de potássio celular favorecendo a despolarização da membrana. Por sua vez, a despolarização abre canais de cálcio dependentes da voltagem, resultando em um influxo de cálcio e na liberação de insulina (**Figura 3**) (KRENTZ e BAILEY, 2001).

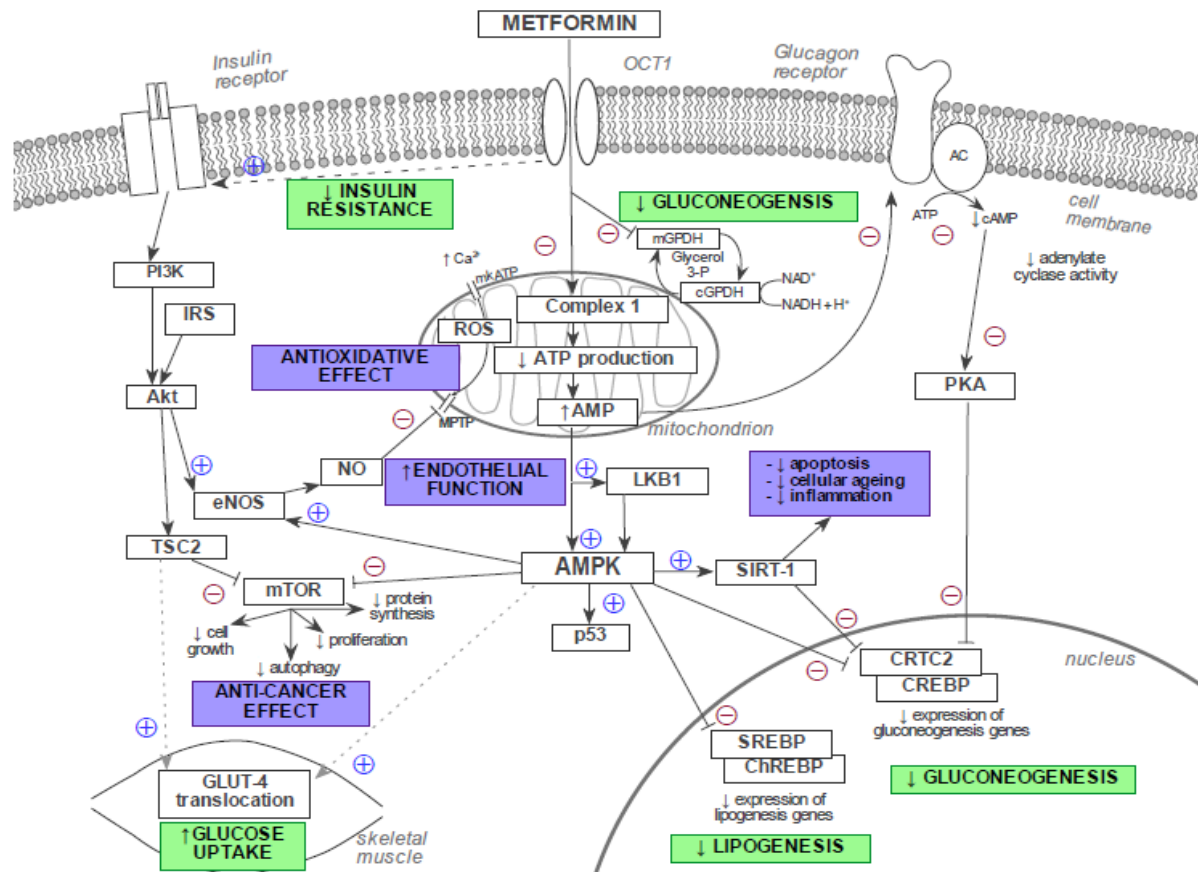


**Figura 3: Efeito das sulfonilureias e outros agentes na liberação de insulina pelas células  $\beta$  das ilhotas pancreáticas.** Outros secretagogos, repaglinida, nateglinida, também estimulam a secreção de insulina através do complexo SUR-Kir 6.2. Inibidores da fosfodiesterase (PDE), peptídeo semelhante ao glucagon (GLP) -1, agem via adenosina monofosfato cíclica (cAMP) e proteína quinase A (PKA) para promover a síntese de proinsulina. Transportador de glicose-2, GLUT2. (KRENTZ e BAILE, 2005).

Quando as sulfonilureias interagem com SUR1 na membrana plasmática das células  $\beta$ , elas causam liberação imediata de grânulos de insulina pré-formados adjacentes à membrana plasmática: "primeira fase" da liberação de insulina (RORSMAN; RENSTRÖM, 2003). As sulfonilureias também aumentam a extensão ("segunda fase") da liberação de insulina que começa aproximadamente 10 minutos depois, à medida que os grânulos de insulina são translocados na célula  $\beta$  (GROOP, 1992). A estimulação prolongada da 'segunda fase' de liberação de insulina envolve a secreção de grânulos de insulina recém-formados. As

sulfonilureias podem causar hipoglicemia, uma vez que a liberação de insulina é iniciada mesmo quando as concentrações de glicose estão abaixo do limiar normal da liberação de insulina estimulada pela glicose (aproximadamente 5 mmol / L) (KRENTZ e BAILEY, 2005).

A metformina (1,1-dimetil-biguanida), agente anti-hiperglicêmico oral administrado isoladamente ou como parte da terapia combinada (ZINMAN *et al.*, 2010), é de longe o fármaco mais usado para o tratamento do DM2, particularmente em pessoas com sobrepeso e obesas (VIOLETT *et al.*, 2012). Sua principal ação é diminuir os níveis de glicose no sangue, inibindo a gliconeogênese hepática, bem como aumentando a sensibilidade à insulina no fígado e nos músculos esqueléticos (GRISOUARD *et al.*, 2010; HUNDAL *et al.*, 2000; JANIĆ *et al.*, 2017; SONG, 2016; VIOLETT *et al.*, 2012). No entanto, alguns de seus mecanismos de ação no trato gastrointestinal, envolvendo o aumento do metabolismo anaeróbico de glicose antes de sua absorção no fluxo sanguíneo, não devem ser negligenciados (SONG, 2016). Os mecanismos de ação da metformina a nível molecular são complexos e ainda não são totalmente compreendidos; um resumo esquemático de sua ação é mostrado na **Figura 4**.



**Figura 4: Representação esquemática dos mecanismos de ação molecular da metformina.**

(c)AMP adenina monofosfato (cíclica); AC – adenilato ciclase; Akt- proteína quinase B, AMPK - proteína quinase ativada por monofosfatofosfato de 5-adenosina, ATP - adenosina trifosfato, CRTC 2 - coativador de transcrição regulado por CREB 2, eNOS - óxido nítrico sintetase endotelial, GLUT 4 - transportador de glicose tipo 4, IRS - substrato do receptor de insulina, LKB1 - fígado quinase B1, m/cGPDd (h) - difosfato de guanosina, ChREBP - elemento de ligação a carboidratos, mPTP - poro de transição da permeabilidade mitocondrial, NAD (H) - nicotinamida adenina dinucleotídeo, NO - óxido nítrico, OCT1 - transportador de cátions orgânicos 1, PI3K - fosfatidilinositol-4,5- bifosfato 3-quinase, PKA - proteína quinase A, ROS - espécies reativas de oxigênio, SIRT-1 - sirtuina 1, SREBP - proteína de ligação a elementos reguladores de esterol, TSC2 - complexo de esclerose tuberosa 2. (JANIĆ *et al.*, 2017).

Sabe-se que a metformina atua através da via da proteína quinase ativada por AMP (via AMPK) ou por mecanismo de ação independente da AMPK (JANIĆ *et al.*, 2017). Ao entrar na célula hepática, a metformina inibe a gliconeogênese, principalmente por sua ação nas mitocôndrias, onde inibe o complexo 1 na cadeia respiratória mitocondrial. Isso evita a formação de ATP (adenosina-5'-trifosfato), rico em energia. Como resultado, as



concentrações de ambos, ADP (adenosina difosfato) e AMP (adenosina monofosfato) aumentam. Níveis aumentados de ADP e AMP em comparação com ATP, levam à falta de energia necessária para processos enzimáticos de gliconeogênese que consomem muita energia (HARDIE, 2006). Níveis elevados de ADP e AMP na via de sinalização da metformina têm dois efeitos: a ativação de AMPK e quinase do fígado- B1 (*liver kinase B1*, *LKB1*), que regula a AMPK (HARDIE, 2006). AMPK é a enzima mais importante na regulação do balanço energético celular; uma vez ativada, ela inibe a gliconeogênese por meio de ações direcionadas a várias proteínas-chave envolvidas na gliconeogênese (HARDIE, 2006; PRYOR; CABREIRO, 2015; VIOLLET *et al.*, 2012). Os efeitos independentes da AMPK da metformina são gerados por várias vias diferentes, como:

- ✓ A metformina aumenta a atividade do receptor de insulina e seu substrato, o que aumenta a captação de glicose na célula hepática (PERNICOVA e KORBONITS, 2014);
- ✓ A metformina se opõe ao efeito do glucagon, diminuindo assim a glicemia em jejum; indiretamente, através do aumento da formação de AMP, que se liga diretamente à enzima AC e inibe sua função. A metformina também inibe a formação de (c)AMP mediada por glucagon, o que inibe a glicogenólise (MILLER *et al.*, 2013);
- ✓ A metformina inibe a glicerofosfato desidrogenase mitocondrial (mGDP). A inibição de mGDP impede que o glicerol entre no processo de gliconeogênese e altera o estado redox da célula. Isso reduz a conversão de lactato em piruvato e, portanto, a entrada de lactato na gliconeogênese (MADIRAJU *et al.*, 2014).

No trato gastrointestinal, a metformina diminui a absorção de glicose. Também aumenta a produção de hormônios e peptídeos intestinais. Ela desempenha um papel particularmente importante no eixo da incretina: aumenta a ação do peptídeo semelhante ao glucagon 1 (GLP-1), que estimula a secreção de insulina dependente de glicose e inibe a secreção de glucagon (MULHERIN *et al.*, 2011).

A metformina é o medicamento mais utilizado no tratamento da hiperglicemia em pacientes com DMT2. Embora os efeitos adversos graves sejam raros, até 30% dos pacientes relatam sintomas gastrointestinais, incluindo diarreia, câimbras, náuseas e vômitos, o que pode causar desconforto grave e levar à interrupção do uso do fármaco (OKAYASU *et al.*, 2012).

Os estudos epidemiológicos têm melhorado nossa compreensão dos fatores de risco para o DMT2. A RI desempenha um papel importante na patogênese do DMT2. O aumento da adiposidade e a obesidade são fatores de risco mais importantes para o desenvolvimento de



RI e DMT2 ( DEFRONZO *et al.*, 2015; TAHRANI, 2017). Embora a genética desempenhe um papel importante no desenvolvimento do DMT2 (BARNETT *et al.*, 1981; MAMBIYA *et al.*, 2019), a epidemia crescente de DMT2 não pode ser explicada apenas por novas mutações genéticas, mas é amplamente explicada pela epidemia da obesidade (AL-GOBLAN *et al.*, 2014; BERUMEN *et al.*, 2019).

## 1.2 OBESIDADE

A obesidade está se tornando uma epidemia global e quase triplicou em todo o mundo desde a década de 1970. Em 2016, mais de 1,9 bilhão de adultos (39% da população adulta do mundo) estavam acima do peso, dos quais mais de 650 milhões eram obesos. Destaca-se que 340 milhões de crianças e adolescentes de 5 a 19 anos e 41 milhões de crianças com menos de 5 anos estavam com sobrepeso ou obesidade em todo o mundo (OMS, 2020). A incidência global de sobrepeso e obesidade aumentou na medida em que quase um terço da população mundial agora é considerada com sobrepeso ou obesa (CHOOI *et al.*, 2019).

A obesidade é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura no tecido adiposo e em outros órgãos. Clinicamente a obesidade pode ser definida por um índice de massa corporal ( $IMC = [\text{peso (kg)}] / [\text{altura (m}^2\text{)}]$ ) acima de 30 (PANZHINSKIY *et al.*, 2013). Estilo de vida sedentário e o aumento da ingestão de calorias são os principais contribuintes para o ganho de peso. Mutações nos genes da leptina ou seus receptores, interrupção da via de sinalização da melanocortina e mutações nas moléculas a jusante do receptor de melanocortina 4 (MC4R), também foram atribuídas ao desenvolvimento da obesidade (RAMACHANDRAPPA e FAROOQI, 2011). Assim, a obesidade é uma condição heterogênea decorrente de interações genéticas e de estilo de vida (MACLEAN *et al.*, 2017; SCHWARTZ *et al.*, 2017) e está correlacionada com várias disfunções patológicas com repercussões importantes para a saúde individual e comunitária (KYROU *et al.*, 2018).

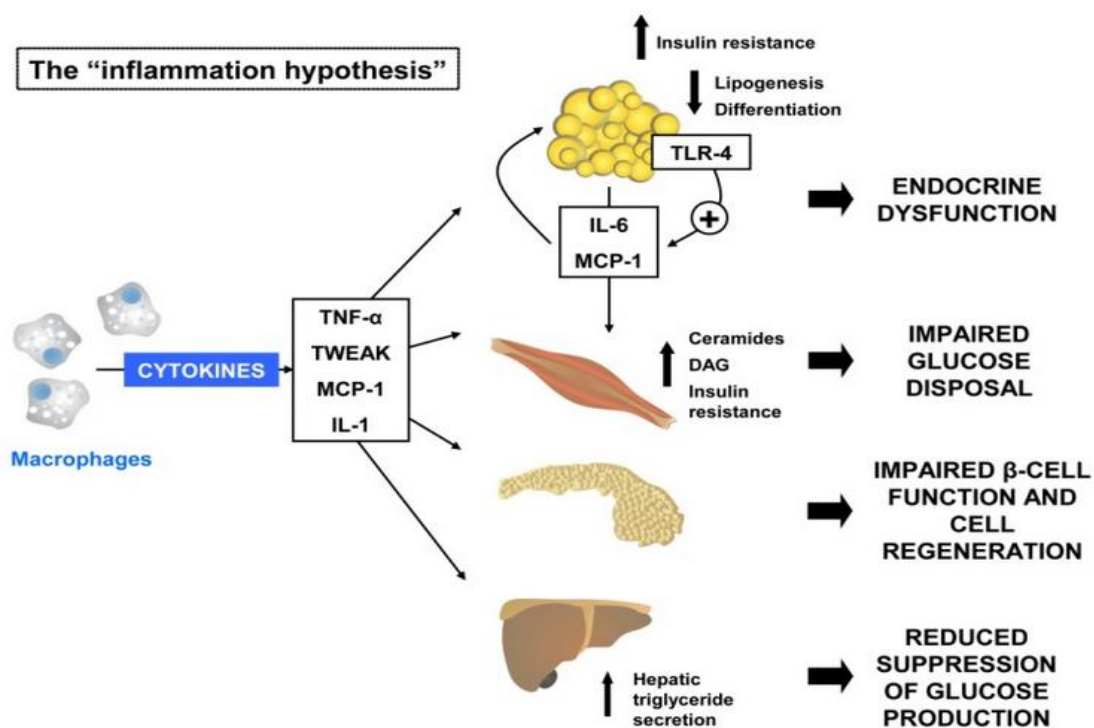
A obesidade é intimamente associada à RI, embora os mecanismos moleculares exatos desta ligação não sejam completamente compreendidos. Várias hipóteses foram propostas, incluindo, entre outras, inflamação metabólica crônica de baixo grau, alterações nos níveis de adipocinas (leptina, resistina, adiponectina), e a lipotoxicidade devido ao aumento dos níveis circulantes de ácidos graxos livres (BEALE, 2013; CALDWELL *et al.*, 2006; HOTAMISLIGIL, 2005, 2008; ROMEO *et al.*, 2012; SHOELSON *et al.*, 2006). A inflamação metabólica crônica de baixo grau, denominada "metaflamação", é considerada

uma das características de doenças metabólicas, como obesidade e diabetes, e ocorre em vários tecidos metabólicos, incluindo tecido adiposo, fígado, músculo, cérebro e intestino (ERTUNC e HOTAMISLIGIL, 2016). A inflamação metabólica crônica de baixo grau está consistentemente associada a excesso da massa gorda corporal e é caracterizada por infiltração e ativação de macrófagos pró-inflamatórios e outras células imunes que produzem e secretam citocinas pró-inflamatórias (BURHANS *et al.*, 2018; CHAWLA *et al.*, 2011).

A obesidade é agora considerada como uma condição médica, que não contribui apenas para o risco de desenvolver DMT2 e DCV, mas também afeta negativamente a longevidade e a qualidade de vida (MARTEL *et al.*, 2017). A obesidade é o principal fator que impulsiona o aumento da incidência de DMT2, uma vez que 70% do risco associado à DMT2 está relacionado ao ganho de peso (NGUYEN *et al.*, 2011). Oitenta por cento dos indivíduos com DMT2 são obesos, destacando o papel central do aumento da adiposidade como fator de risco para o diabetes (CHADT *et al.*, 2018). No entanto, em alguns casos, a obesidade não é necessária nem suficiente para causar DMT2 (NGUYEN *et al.*, 2011). De fato, alguns indivíduos obesos e resistentes à insulina não desenvolvem hiperglicemia, indicando que suas células  $\beta$  pancreáticas ainda produzem e secretam quantidades suficientes de insulina para compensar a eficiência reduzida da ação da insulina na periferia (ABBASI *et al.*, 2002; KAHN e FLIER, 2000; KAHN, 2001). Assim, além do aumento da massa adiposa, é provável que fatores adicionais determinem o risco de disfunção das células beta e a suscetibilidade ao DMT2 (CHADT *et al.*, 2018).

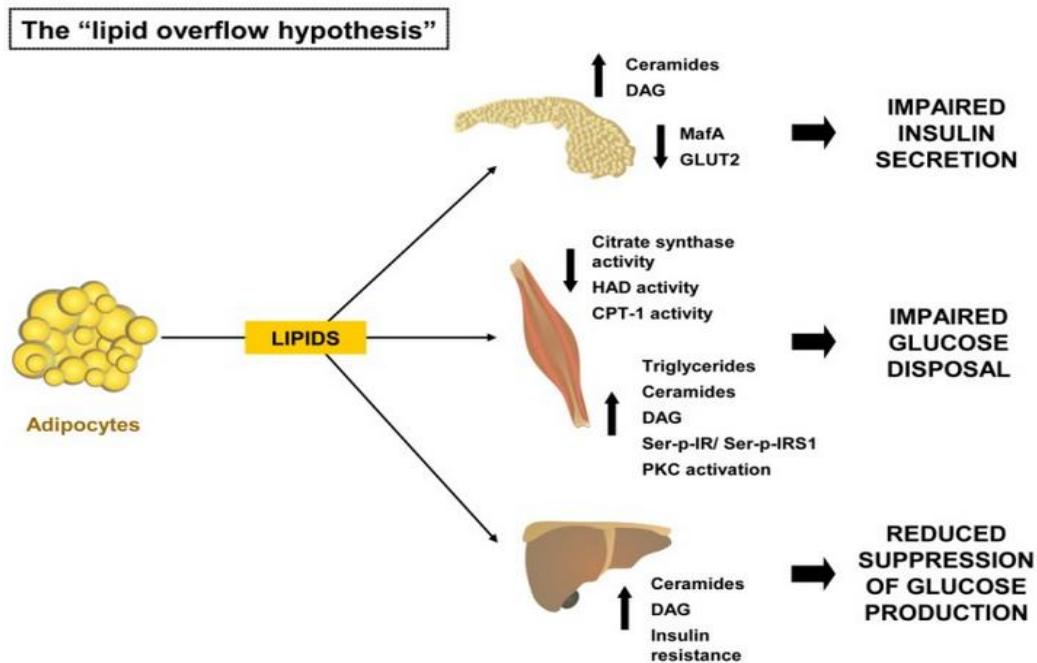
Três hipóteses principais foram desenvolvidas nos últimos anos para explicar os mecanismos celulares e moleculares que ligam a obesidade ao DMT2: A "hipótese da inflamação"; A "hipótese de transbordamento lipídico"; A "hipótese de adipocina".

(1) A "**hipótese da inflamação**", afirma que a obesidade representa um estado de inflamação crônica em que as moléculas inflamatórias produzidas pela infiltração de macrófagos no tecido adiposo exercem alterações patológicas nos tecidos sensíveis à insulina e nas células  $\beta$  (**Figura 5**; CHADT *et al.*, 2018).



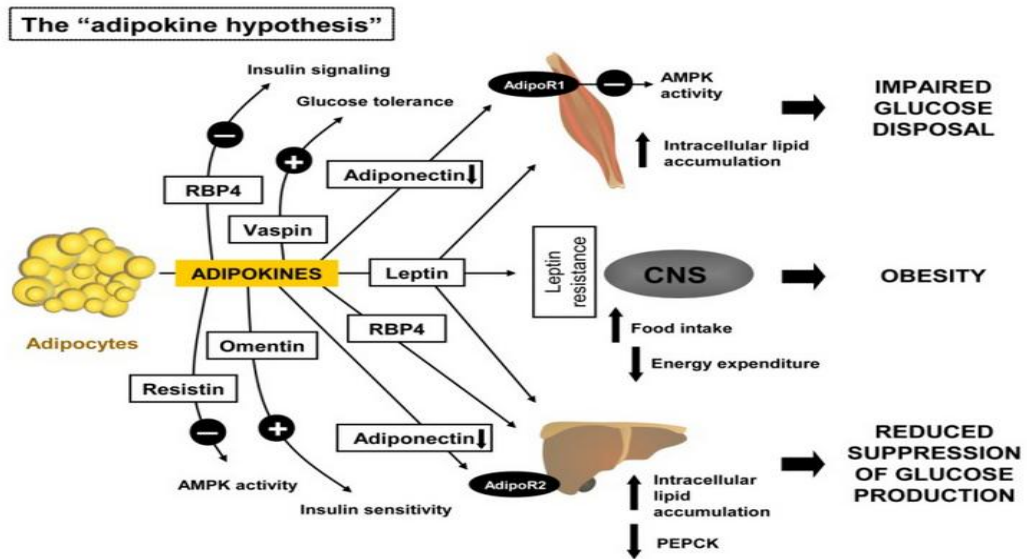
**Figura 5: The “inflammation hypothesis.”** Fisiopatologia da resistência periférica à insulina associada à inflamação crônica induzida pela obesidade. DAG, diacilglicerol; IL-1, interleucina-1; MCP-1, proteína quimiotática de monócitos; TNF, fator de necrose tumoral; TLR-4, receptor Toll-like 4. (CHADT *et al.*, 2018).

(2) A "**hipótese de transbordamento lipídico**", também conhecida como "hipótese de expansibilidade do tecido adiposo", prevê que, componentes e metabólitos lipídicos potencialmente prejudiciais, devido ao aumento dos estoques lipídicos ectópicos na obesidade, podem exercer efeitos citotóxicos nas células periféricas, incluindo células hepáticas e  $\beta$ - pancreáticas, prejudicando a função, a sobrevivência e a regeneração (**Figura 6**; CHADT *et al.*, 2018).



**Figura 6: The "lipid overflow hypothesis."** Fisiopatologia dos estoques lipídicos ectópicos induzidos pela obesidade que causam resistência periférica à insulina e função prejudicada das células  $\beta$ . CPT-1, carnitine palmitoyl transferase 1; DAG, diacylglycerol; GLUT2, glucose transporter 2; HAD,  $\beta$ -hydroxyacyl dehydrogenase; IRS1, insulin receptor substrate 1; MafA, pancreatic beta-cell-specific transcriptional activator MafA; PKC, Protein kinase C (CHADT *et al*, 2018).

(3) A "**hipótese de adipocina**" Foi proposto que a expansão dos estoques de gordura na obesidade causa secreção disfuncional de fatores endócrinos produzidos pelas células adiposas brancas, resultando em comprometimento metabólico dos tecidos alvo da insulina e, eventualmente, falha nas células  $\beta$  produtoras de insulina (**Figura 7**) (CHADT *et al.*, 2018).



**Figura 7: The “adipokine hypothesis.”** Fisiopatologia da disfunção de adipocinas, induzida pela obesidade em células adiposas, contribuindo para a resistência periférica à insulina. AdipoR2, adiponectin receptor 2; AMPK, AMP-activated protein kinase; PEPCK, phosphoenolpyruvate carboxykinase; RBP4, retinol binding protein 4 (CHADT *et al*, 2018).

Assim, a resistência à insulina, vista no contexto do diabetes e da obesidade, não está presente apenas no músculo e no fígado, mas também no tecido adiposo, no rim, no trato gastrointestinal, na vasculatura, no cérebro e nas células  $\beta$ -pancreáticas (GERICH *et al.*, 2001; HONKA *et al.*, 2013; KLEINRIDDERS *et al.*, 2014; SAMUEL e SHULMAN, 2012). Estas características destacam o importante papel destes órgãos na homeostase da glicose, tornando-os grandes alvos terapêuticos. O acúmulo de gordura ectópica é um dos principais mecanismos pelos quais a obesidade impacta a sensibilidade à insulina. Portanto, existem atualmente várias intervenções terapêuticas em desenvolvimento que visam melhorar a gordura ectópica. Com uma melhor compreensão das vias de sinalização da insulina, vários agentes estão em desenvolvimento visando diferentes componentes dessa via (TAHRANI, 2017).

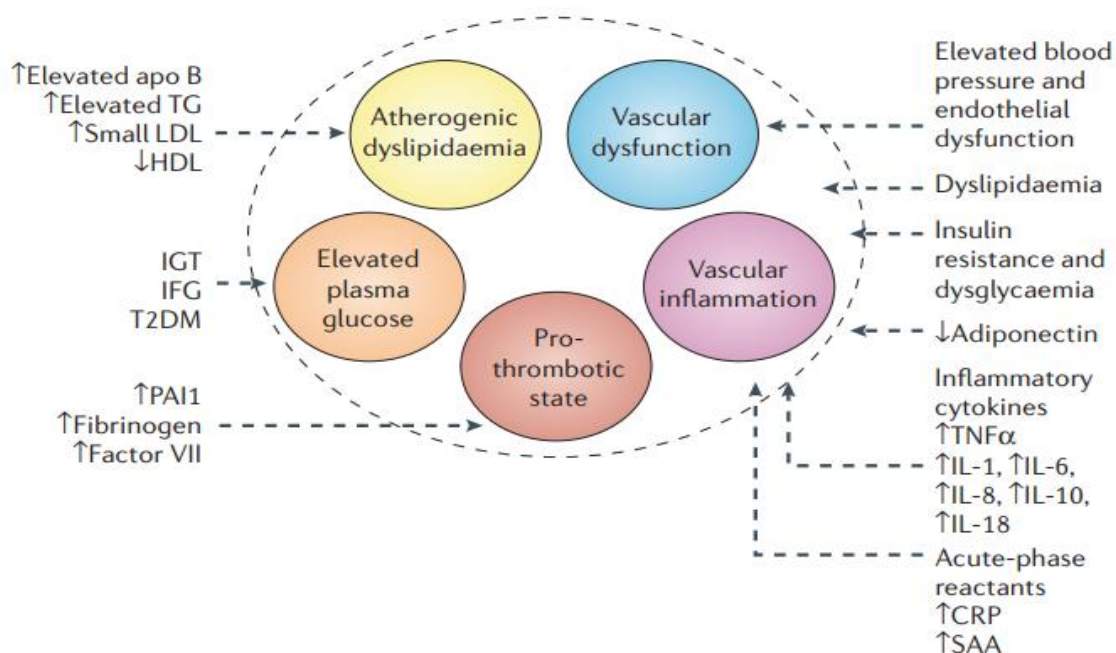
Vários fármacos também fazem parte do arsenal terapêutico no tratamento da obesidade. Orlistat, inibidor da lipase pancreática e principal medicamento para o tratamento da obesidade a longo prazo, leva a uma redução média do peso corporal de 3% ao longo de um período de 1 ano (YANOVSKI e YANOVSKI, 2014). No entanto, o orlistat também pode produzir efeitos adversos incluindo, insuficiência hepática subaguda e lesão renal aguda (FILIPPATOS *et al.*, 2008), dor abdominal, inchaço, flatulência, fezes oleosas, diarreia, diminuição da absorção de vitaminas lipossolúveis (LI *et al.*, 2005). Outros medicamentos

anti-obesogênicos, como fenfluramina, sibutramina e rimonabant, foram retirados do mercado em alguns países devido a seus efeitos adversos graves, incluindo problemas cardiovasculares, aumento na pressão arterial, distúrbios de humor e até tendências suicidas (DIETRICH e HORVATH, 2012). Comparado aos medicamentos anti-obesogênicos, a cirurgia para perda de peso por bypass gástrico ou bandagem gástrica é mais eficaz (BULT *et al.*, 2008), mas é relativamente caro, fisicamente invasivo e inaplicável à maioria das pessoas com sobrepeso (MARTEL *et al.*, 2017). Tratamentos anti-obesogênicos alternativos eficazes, seguros e amplamente disponíveis seriam benéficos. Assim, fármacos que atenuam o diabetes, a obesidade e induzam benefícios metabólicos em pacientes obesos, sem afetar negativamente outras funções do corpo, são extremamente necessários.

A obesidade é uma doença multifatorial, considerada como uma condição que não contribui apenas para o risco de desenvolver DM2, mas também para o risco de desenvolver vários outros problemas de saúde, incluindo DHGNA, osteoartrite e vários tipos de câncer (GUH *et al.*, 2009; PI-SUNYER, 2009; VISSCHER e SEIDELL, 2001), que são umas das complicações da SM. A maioria das pessoas com obesidade mostra sinais de inflamação crônica, hipertensão e RI (HASLAM e JAMES, 2005; MCARDLE *et al.*, 2013); que juntas são conhecidas como mecanismos subjacentes predominantes para a SM.

### 1.3 SÍNDROME METABÓLICA

A SM, também conhecido como síndrome de RI, refere-se a um conjunto de distúrbios metabólicos que são causas ou consequências da RI e que coexistem particularmente em pacientes obesos e sedentários (GRUNDY *et al.*, 2005; SIMMONS *et al.*, 2010). A SM é uma questão global séria, com relevância clínica substancial. Ela representa uma epidemia mundial crescente que afeta aproximadamente 20% dos adultos (O'NEILL e O'DRISCOLL, 2015). Geralmente é aceito que os principais "fatores de risco metabólico" que caracterizam a SM incluem RI, obesidade central, dislipidemia aterogênica, TGP, estado pró-trombótico, estado pró-inflamatório e hipertensão (**Figura 8**) (GRUNDY, 2006a; O'NEILL e O'DRISCOLL, 2015).



**Figura 8: Os principais fatores de risco da síndrome metabólica. Cada fator de risco possui vários componentes.** PAI1, plasminogenactivator inhibitor 1; CRP, C-reactive protein; IFG, impaired fasting glucose; IGT, impaired glucose tolerance; IL, interleukin; SAA, serum amyloid A protein; T2DM, type 2 diabetes mellitus; TNF $\alpha$ , tumour-necrosis factor- $\alpha$  (GRUNDY, 2006a).

Existem vários critérios estabelecidos por diferentes associações para definição e diagnóstico da SM. Como ilustrado na **Tabela 1**, os detalhes específicos utilizados para a definição precisa da SM diferem entre várias entidades, tais como, a Organização Mundial da Saúde (OMS), o Grupo Europeu de Pesquisa em Insulina (EGIR), o Programa Nacional de Educação em Colesterol - Painel de Tratamento para Terceiros Adultos (NCEP: ATPIII), a Associação Americana de Endocrinologia Clínica (AACE) e a Federação Internacional de Diabetes (IDF) (O'NEILL *et al.*, 2016). A definição mais aceita consiste em três ou mais dos seguintes indicadores: pressão arterial (PA) > 135/85 mmHg, glicemia em jejum (GJ) > 6,1 mmol/L, colesterol lipoproteico de alta densidade (HDL) < 1,0 mmol/L (masculino) ou < 1,3 mmol/L (feminino), triglicerídeos (TG) > 1,7 mmol/L e circunferência da cintura > 102 cm (masculino) ou > 88 cm (feminino) (GRUNDY *et al.*, 2005).

**Tabela 1: Critérios para definir e diagnosticar SM, conforme estabelecido por diferentes entidades (Adaptado de O'NEILL et al, 2016).**

Definição SM	OMS	EGIR	NCEP: ATPIII	AACE	IDF
<b>Fundamental</b>	Alto nível de insulina	Resistência à insulina		Tolerância à glicose diminuída	CC (especificidade étnica e de gênero)
<b>Componente</b>	+ 2 dos seguintes:	+ 2 dos seguintes:	Qualquer 3 dos seguintes:	+ 2 dos seguintes:	+ 2 dos seguintes:
<b>Obesidade abdominal</b>	CC > 37 polegadas IMC > 30 kg/m <sup>2</sup>	CC ≥94 cm (M) ≥80 cm (F)	CC > 40 polegadas (M) >35 polegadas (F)		
<b>Triglicérides</b>	>150 mg.dL <sup>-1</sup> C-HDL <35 mg.dL <sup>-1</sup> (M) <39 mg.dL <sup>-1</sup> (F)	>2 mmol.l <sup>-1</sup> C-HDL <1mg.dL <sup>-1</sup>	>150 mg.dL <sup>-1</sup> C-HDL <40 mg.dL <sup>-1</sup> (M) <50 mg.dL <sup>-1</sup> (F)	>150 mg.dL <sup>-1</sup> C-HDL <40 mg.dL <sup>-1</sup> (M) <50 mg.dL <sup>-1</sup> (F)	>150 mg.dL <sup>-1</sup> C-HDL <40 mg.dL <sup>-1</sup> (M) <50 mg.dL <sup>-1</sup> (F)
<b>Pressão arterial</b>	≥140/90 mm Hg	≥140/90 mm Hg ou medicação PA	≥130/85 mm Hg	≥130/85 mm Hg	≥130/85 mm Hg
<b>Microalbuminúria</b>	>30 mg.g <sup>-1</sup>				
<b>Glicemia de jejum</b>		≥6,1 mmol.l <sup>-1</sup>	>110 mmol.l <sup>-1</sup>		≥5,6 mmol.l <sup>-1</sup> ou DMT2

Abreviaturas: HDL, lipoproteína de alta densidade; CC, circunferência da cintura; PA, pressão arterial; IMC, índice de massa corporal; F, fêmea; M, machos; DMT2, diabetes mellitus tipo 2.

De acordo com as opiniões atuais, existem duas principais causas subjacentes da SM: obesidade (especialmente obesidade abdominal) e resistência à insulina; esses dois parâmetros estão intimamente e reciprocamente interrelacionados (GRUNDY, 2006b). A prevalência da SM está aumentando com o número de obesos (Ford *et al.*, 2004); de fato, como esperado, a SM aumenta com o índice de massa corporal (IMC) (O'NEILL e O'DRISCOLL, 2015). A SM é conhecidamente associada a um risco aumentado de doenças cardiovasculares (DCV), diabetes mellitus (DM) e câncer (GIRMAN *et al.*, 2004; GRUNDY *et al.*, 2004; O'NEILL *et al.*, 2016). De fato, a SM contribui para um risco 3 vezes maior para as DCV e 5 vezes maior para o DMT2 (ESPOSITO *et al.*, 2012). A SM também tem sido associada a várias outras condições incluindo doenças renais (AGRAWAL *et al.*, 2009; LEE *et al.*, 2018; PRASAD, 2014), cálculos biliares e doenças hepáticas gordurosas não alcoólica (DHGNA) (GRUNDY *et al.*, 2005).

O DHGNA abrange um espectro de doenças hepáticas, variando de fígado gorduroso não alcoólico (FGNA, também conhecido como esteatose simples) ao esteato-hepatite não alcoólica (EHNE) e pode levar a fibrose ou cirrose avançada e carcinoma hepatocelular (CHC) (BRUNT, 2010; KLEINER e BRUNT, 2012; MATTEONI *et al.*, 1999;

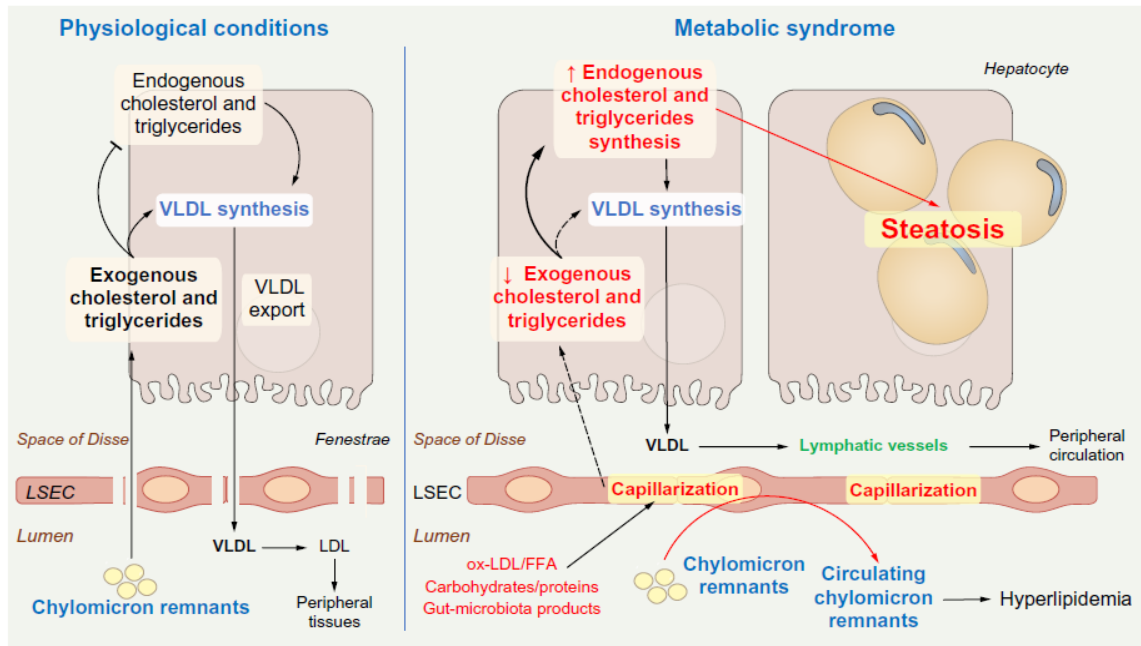


NASCIMBENI *et al.*, 2013). A prevalência de DHGNA é estimada entre 17 a 33 % na população em geral, enquanto atinge 75 % em pacientes obesos e ainda mais em pacientes com DMT2 (MASARONE *et al.*, 2014, 2018). A DHGNA é caracterizada pelo acúmulo excessivo de gordura nos hepatócitos (esteatose). Quando a esteatose é acompanhada por degeneração por balão hepatocelular e inflamação lobular, a doença hepática é diagnosticada como EHNE (KLEINER e BRUNT, 2012). O excesso de gordura no fígado é extremamente comum e a prevalência de DHGNA tem aumentado rapidamente, paralelamente à epidemia de DMT2 e obesidade, levando a DCV. RI, lipotoxicidade e disfunção endotelial são entre os principais fatores fisiopatológicos implicados na DHGNA, obesidade e DCV associadas à SM (FRIEDMAN *et al.*, 2018; LAKKA *et al.*, 2002). Dessa forma, a DHGNA tem sido considerada a expressão hepática da SM, não apenas como um fator de risco cardiovascular, mas também como responsável por doença renal progressiva (Targher e Byrne, 2013 Petta *et al.*, 2016). Embora a esteatose simples seja geralmente benigna, EHNE pode progredir para cirrose e doença hepática terminal (HAMMOUTENE e RAUTOU, 2019). Pacientes com SM e EHNE também desenvolvem CHC na ausência de cirrose (KANWAL *et al.*, 2018; PARADIS *et al.*, 2009). Compreender os mecanismos da DHGNA e, em particular, como a esteatose simples progride para o EHNE e depois para a cirrose e / ou câncer de fígado, é da maior importância. A visão atual da patogênese do EHNE centra-se na resposta dos hepatócitos à RI, à lipotoxicidade e também na disfunção endotelial, enquanto que o sistema imunológico e a ativação das células estreladas hepáticas são considerados eventos secundários (Hammoutene et Rautou, 2019).

O endotélio vascular desempenha um papel fundamental na patogênese e nas complicações da DHGNA. O endotélio vascular, representando a interface entre o sangue e outros tecidos do corpo, não é apenas uma barreira física, mas está envolvido em diferentes processos fisiológicos, como hemostasia, transporte de metabólitos, inflamação, trombose, angiogênese e tônus vascular (ZAPOTOCZNY *et al.*, 2019). O endotélio hepático é formado principalmente de células endoteliais sinusoidais hepáticas (LSECs, *liver sinusoidal endothelial cells*). As LSECs são células endoteliais altamente especializadas na interface entre o sangue derivado do tecido adiposo visceral e o intestino, por um lado, e as células estreladas hepáticas e os hepatócitos, por outro lado (ZAPOTOCZNY *et al.*, 2019).

Os lipídios da dieta presentes na circulação devem ser transportados através do endotélio vascular para serem metabolizados pelos tecidos. Em condições fisiológicas, os LSECs são os principais reguladores da troca lipídica bidirecional entre o sangue e o

parênquima hepático; a fenestra de LSEC forma uma barreira seletiva para lipídios (HAMMOUTENE e RAUTOU, 2019). As LSECs sofrem alterações morfológicas e funcionais durante a esteatose hepática. Uma das mudanças fenotípicas mais notáveis é a perda de fenestra, também chamada de defenestração ou capilarização sinusoidal (**Figura 9**), associada à formação de uma membrana basal na superfície abluminal dos LSECs (COGGER *et al.*, 2016; MIYAO *et al.*, 2015; ZHANG *et al.*, 2014).



**Figura 9: A capilarização do LSEC promove esteatose.** Em condições fisiológicas, o quilomícron cruza a fenestra de LSEC e fornece colesterol e triglicerídeos para a síntese de VLDL. Os VLDL são então liberados pelos hepatócitos e atingem o fluxo sanguíneo através das fenestras. Nas condições da SM, a capilarização do LSEC surge cedo no curso da DHGNA, possivelmente devido à exposição dos LSECs aos macronutrientes da dieta. FFA, ácidos graxos livres; LDL, lipoproteína de baixa densidade; LSECs, células endoteliais sinusoidais do fígado; NAFLD, doença hepática gordurosa não alcoólica; ox-LDL, lipoproteína oxidada de baixa densidade; VLDL; lipoproteína de muito baixa densidade (HAMMOUTENE e RAUTOU, 2019).

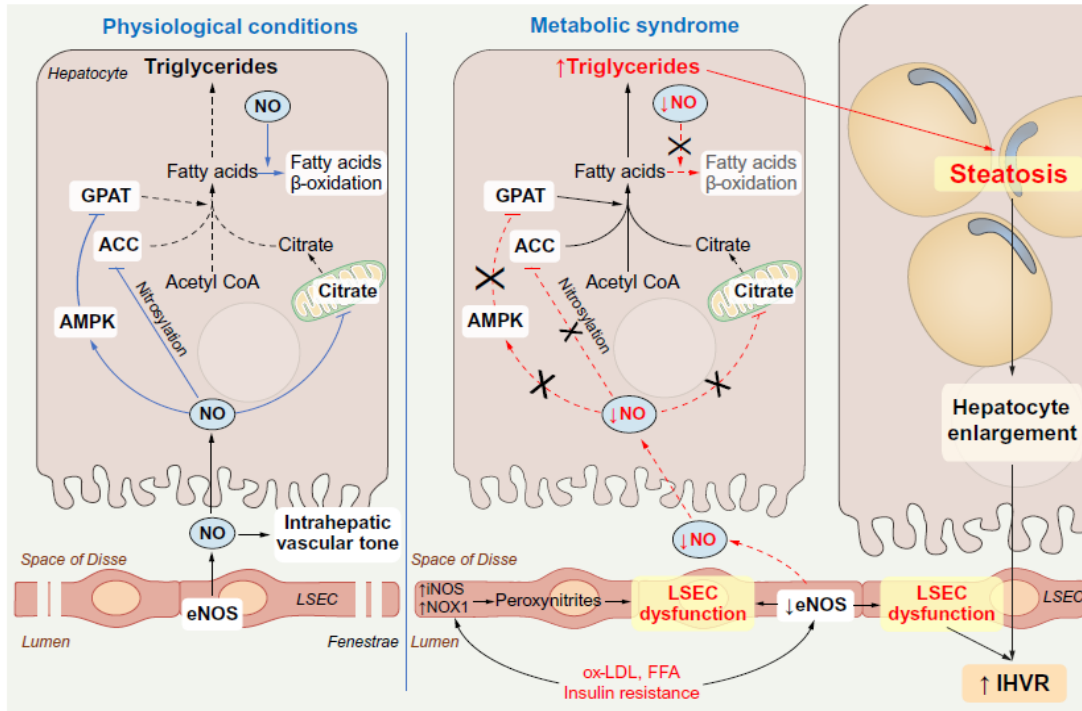
Os mecanismos iniciais por trás da capilarização sinusoidal não são totalmente identificados, mas especula-se que os macronutrientes dietéticos excessivos, incluindo lipídios, carboidratos e produtos derivados da microbiota intestinal, desempenhem um papel (COGGER *et al.*, 2016). Uma primeira hipótese que explica essa consequência da capilarização na esteatose pode ser a redução da permeabilidade ao LSEC, prejudica a

passagem da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL, lipoproteína de muito baixa densidade) derivada de hepatócitos em direção ao lúmen sinusoidal, induzindo assim a retenção de colesterol e triglicerídeos no fígado. No entanto, essas lipoproteínas podem escapar do fígado através do sistema linfático (TANAKA e IWAKIRI, 2016). Como explicação alternativa, HERRNBERGER e colaboradores (2014) propuseram que os quilomícrons originários do sangue e necessários para a síntese de VLDL por hepatócitos não pudessem atingir hepatócitos devido à capilarização do LSEC. A sua ausência nos hepatócitos pode então estimular a síntese lipídica hepática (lipogênese de novo) e induzir a esteatose como mecanismo compensatório (HERRNBERGER *et al.*, 2014). Além disso, após a capilarização do LSEC, o quilomícron e o colesterol dietético não atravessam mais as fenestras para inibir a HMGCoA redutase (enzima chave da biossíntese de colesterol hepatócito), conseqüentemente ativando a síntese endógena de colesterol em hepatócitos (FRASER *et al.*, 2012). Juntos, esses dados sugerem que as características da SM estão associadas à capilarização do LSEC, que promove a esteatose (HAMMOUTENE e RAUTOU, 2019).

A esteatose hepática está associada ao aumento da pressão arterial portal e aumento da resistência vascular intra-hepática, que tem um componente mecânico e dinâmico (BAFFY, 2018; FRANCQUE *et al.*, 2010, 2012; MENDES *et al.*, 2012). A parte mecânica é devida à compressão do lúmen sinusoidal por hepatócitos com carga de gordura aumentada. A parte dinâmica é devida à disfunção endotelial do fígado. A disfunção das LSECs ocorre no início da DHGNA e promove a esteatose (CALDWELL e LACKNER, 2017; FARRELL *et al.*, 2008; FRANCQUE *et al.*, 2010; IJAZ *et al.*, 2003).

A disfunção endotelial é uma condição patológica, comum a todos os leitos vasculares, definida como a incapacidade para os vasos sanguíneos de se dilatar em resposta ao aumento do fluxo sanguíneo. A disfunção endotelial é geralmente indicada pela perda de biodisponibilidade do NO devido à inibição da eNOS (NOS3) (FLAMMER *et al.*, 2012). Várias linhas de evidência mostram que a disfunção do LSEC ocorre em fígados gordurosos e está envolvida no aumento da resistência vascular intra-hepática associada à esteatose (GARCÍA-LEZANA *et al.*, 2018; GONZALEZ-PAREDES *et al.*, 2016; PASARÍN *et al.*, 2012; TATEYA *et al.*, 2011). Vários mecanismos podem explicar essa disfunção endotelial no fígado, associada à esteatose (**Figura 10**). A disfunção dos LSECs pode ser induzida pela superabundância de lipídios durante a esteatose. Além disso, a esteatose induz RI nos LSECs,

levando ao comprometimento da vasodilatação dependente de insulina (GUNNETT *et al.*, 2001; PASARÍN *et al.*, 2012, 2017).

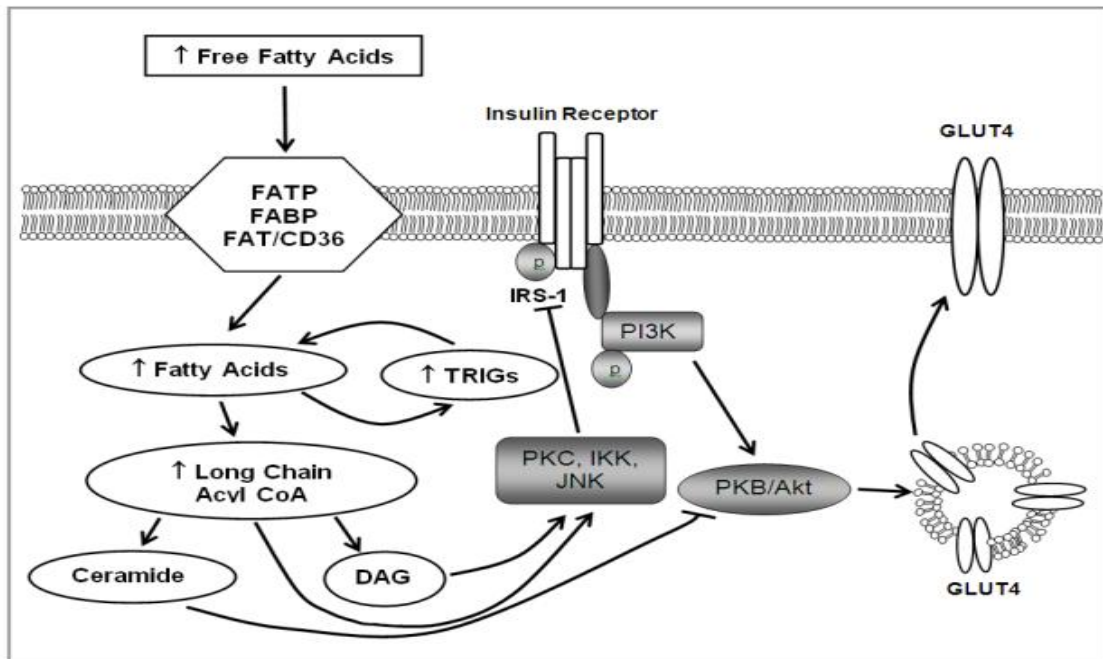


**Figura 10: A disfunção do LSEC promove a esteatose.** Em condições fisiológicas, os LSECs liberam NO, que regula o tônus vascular intra-hepático, por um lado, e o metabolismo lipídico hepático, por outro. O NO limita o conteúdo lipídico hepático inibindo a lipogênese hepática de novo, através de uma limitação da síntese de citrato nas mitocôndrias, uma inibição do ACC e do GPAT e promovendo a β-oxidação dos ácidos graxos. Nas condições da SM, uma superabundância de lipídios e RI leva à regulação negativa da atividade da eNOS e à regulação positiva da iNOS, causando estresse nitro-oxidativo através da produção de peroxinitrito e, eventualmente, disfunção endotelial. A disponibilidade reduzida de NO promove esteatose. ACC, acetil-CoA carboxilase; AMPK, proteína quinase ativada por AMP; eNOS, óxido nítrico sintetase endotelial; GPAT, glicerol-3-fosfato aciltransferase; LSECs, células endoteliais sinusoidais do fígado; IHRV; resistência vascular intra-hepática; iNOS, óxido nítrico sintase induzível; NO, óxido nítrico; NOX1, NADPH oxidase 1 (HAMMOUTENE e RAUTOU, 2019).

Em resumo, a disfunção dos LSECs ocorre no início da DHGNA e promove a esteatose. A disfunção do LSEC contribui para o estresse oxidativo, angiogênese e resposta inflamatória na EHNE (COULON *et al.*, 2011, 2012, 2013; IWAKIRI *et al.*, 2014). Em

resposta à lipotoxicidade, os hepatócitos geram espécies reativas de oxigênio (ERO) e iniciam uma resposta inflamatória robusta que acentua a lesão hepática (FRIEDMAN *et al.*, 2018; MARRA e SVEGLIATI-BARONI, 2018).

A lipotoxicidade associada à DHGNA não se restringe aos hepatócitos, mas envolve dislipidemia sistêmica, que por sua vez pode resultar no acúmulo de lipídios em outros tecidos, como o coração, levando à lipotoxicidade dos cardiomiócitos, sua disfunção e morte (GOLDBERG *et al.*, 2012). A cardiomiopatia lipotóxica é o principal mecanismo pelo qual pacientes com RI, diabetes e obesidade desenvolvem hipertrofia e disfunção cardíaca (SCHILLING e MANN, 2012). Em seres humanos, o aumento da massa cardíaca foi postulado como resultado da deposição epicárdica e infiltração no miocárdio de gordurosa (FITZGIBBONS e CZECH, 2014). De fato, o conteúdo de triglicerídeos no tecido cardíaco humano é aumentado em obesos em comparação com indivíduos com peso normal (WENDE e ABEL, 2010). A presença ectópica de triglicerídeos e metabólitos lipídicos, como as ceramidas, tem sido relacionada a RI, lipotoxicidade e apoptose em cardiomiócitos (HODSON *et al.*, 2015; TRAN *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2000). A **Figura 11** apresenta um dos mecanismos pelos quais a dislipidemia induz a RI nos cardiomiócitos.



**Figura 11: Mecanismos propostos pelos quais a dislipidemia induz a RI nos cardiomiócitos.** O aumento de ácidos graxos livres circulantes, como ocorre durante a obesidade e ou dieta rica em frutose, aumentará a absorção de ácidos graxos e a produção de acetil CoA de cadeia longa. A acetil CoA de cadeia longa não oxidada pode ser usada em vias não oxidativas, com a geração de triglicerídeos, diacilglicerol (DAG) e ceramida. DAG e ceramida foram implicados na etiologia da RI através da ativação de PKC, IKK (inibidor do fator-kappa quinase nuclear) e JNK (Jun N-terminal quinase) (TOIT e DONNER, 2012).

Os lipídios são importantes reguladores da função cardíaca por seu papel na estrutura da membrana, transporte celular, sinalização e como substrato da  $\beta$ -oxidação para obtenção de energia nas mitocôndrias (CEDARS *et al.*, 2009; LIM e BODMER, 2011). A lipotoxicidade cardíaca não envolve apenas acúmulo excessivo de triglicerídeos intramiocelulares no coração, mas também alterações nas classes lipídicas, bem como em seu perfil de ácidos graxos; consequentemente, existe uma regulação da formação de mediadores lipídicos ativos, que afetam o metabolismo e a função cardíaca, em parte facilitando o desenvolvimento de fibrose cardíaca, um importante contribuinte para a disfunção do miocárdio (LUCAS *et al.*, 2016; MARÍN-ROYO *et al.*, 2018, 2019; SCHULZE *et al.*, 2016; ZHOU *et al.*, 2000).

Embora seja geralmente aceito que a intervenção clínica de primeira linha para a SM seja a mudança de estilo de vida (comportamento alimentar e atividade física), isso é

insuficiente para normalizar os fatores de risco em muitos pacientes, assim, o risco residual poderia ser alto e suficiente para justificar a farmacoterapia (GRUNDY, 2006; SRIVASTAVA e APOVIAN, 2018). No entanto, atualmente não existem medicamentos aprovados que possam reduzir de forma confiável todos os fatores de risco metabólico a longo prazo (GRUNDY, 2006). Portanto, há um interesse crescente em estratégias terapêuticas que possam ter alvos múltiplos que reduzam os fatores de risco de maneira mais eficaz e minimizem problemas com polifarmácia. As opções terapêuticas estão relacionadas com o tratamento individual de cada problema, como DMT2, hipertensão, hiperlipidemia, obesidade. Isso pode gerar uma série de problemas, devido aos efeitos colaterais, custo e baixa aderência relacionada com a polifarmácia.

#### **1.4 PLANTAS MEDICINAIS E MEDICINA TRADICIONAL**

DMT2, obesidade e SM são doenças crônicas, complexas, interconectadas e que têm em comum diversos mecanismos fisiopatológicos. Como resultado, elas poderiam ser objeto de estratégias terapêuticas comuns. É geralmente aceito que modificações de estilo de vida e hábitos alimentares são os pilares do controle dessas doenças (BHUPATHIRAJU *et al.*, 2014; KNOWLER *et al.*, 2002; LEY *et al.*, 2014; ROCKETTE-WAGNER *et al.*, 2015); no entanto, muitas vezes não conseguem alcançar ou sustentar benefícios a longo prazo (PILITSI *et al.*, 2019; ROCKETTE-WAGNER *et al.*, 2015). A farmacoterapia adicionada às modificações do estilo de vida resulta em benefícios metabólicos adicionais, embora limitados (PILITSI *et al.*, 2019). Devido aos problemas associados aos tratamentos atuais e à polifarmácia, uma grande porcentagem de pacientes recorre a medicina alternativa para o controle de DMT2, obesidade e SM. Como alternativa, muitas populações no mundo recorrem à medicina tradicional, utilizando substâncias naturais de origem vegetal.

A medicina tradicional tem uma longa história. Ela é a forma mais antiga de assistência à saúde no mundo (YUAN *et al.*, 2016); ela inclui sistema de medicina como medicina tradicional chinesa, ayurveda indiana, unani árabe e a várias formas de medicina indígena (WHO, 2019). A medicina tradicional é a soma de conhecimentos, habilidades e práticas baseadas nas teorias, crenças e experiências das populações tradicionais, explicáveis ou não, utilizadas na manutenção da saúde, bem como na prevenção, diagnóstico, melhoria ou tratamento de doenças físicas e mentais (AMALRAJ e GOPI, 2016; WHO, 2019). A OMS estimou que aproximadamente 90% da população mundial dependem principalmente de

plantas medicinais e da medicina tradicional para o atendimento das necessidades de saúde primária da população (WHO, 2014).

A OMS não incentiva apenas o uso de plantas medicinais, mas também recomenda uma avaliação científica das propriedades farmacológicas dos extratos vegetais (DIRKS, 2004). A triagem de plantas medicinais para novos compostos bioativos é, portanto, um objetivo importante para muitos cientistas. As plantas medicinais desempenham um papel essencial nos cuidados de saúde e são as principais matérias-primas para os medicamentos tradicionais e convencionais (WHO, 2002). Muitos pesquisadores têm se concentrado em produtos naturais derivados de plantas medicinais devido à ampla gama de efeitos farmacológicos (SHUKLA *et al.*, 2010). De fato, devido à complexidade de sua composição, os produtos naturais têm a vantagem de reduzir a ativação de múltiplos mecanismos patogênicos (CHANG *et al.*, 2013; TELAPOLU *et al.*, 2018); com a vantagem de apresentarem efeitos adversos reduzidos (MEDAGAMA *et al.*, 2014). Além disso, os produtos naturais de origem vegetal representam uma importante fonte no processo de desenvolvimento de novos compostos farmacologicamente ativos (VIEIRA *et al.*, 2014).

Produtos a base de plantas, na forma de extratos vegetais ou compostos isolados, são rotineiramente consumidos como suplementos de saúde (MARTEL *et al.*, 2017). De fato, compostos derivados plantas medicinais têm sido usados para tratar doenças humanas desde tempos imemoriais (KOEHN e CARTER, 2005; NEWMAN; CRAGG; SNADER, 2003).

As estratégias na descoberta de fármacos para controlar a SM, obesidade e diabetes envolvem a busca de compostos alternativos. Compostos que sejam potentes inibidores de  $\alpha$ -glicosidase,  $\alpha$ -amilase e lipase; que melhoram o fluxo de glicose no fígado (RINES *et al.*, 2016); bem como compostos que sejam capazes de estimular a termogênese, diminuir a lipogênese, aumentar a lipólise, reduzir o apetite e alterar a microbiota intestinal (DE FREITAS JUNIOR e DE ALMEIDA, 2017; LIU *et al.*, 2017; MARTEL *et al.*, 2017). Abordagens direcionadas ao fígado incluem estratégias terapêuticas visando enzimas específicas para gliconeogênese e glicogenólise, tais como ativadores da glicoquinase (SHARMA *et al.*, 2015), inibidores da glicogênio fosforilase (FURUKAWA *et al.*, 2005), bem como inibidores da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1-B) (RONDINONE *et al.*, 2002). As espécies do gênero *Terminalia* são amplamente utilizadas e conhecidas por suas propriedades terapêuticas.



#### 1.4.1 ESPÉCIES DO GÊNERO *TERMINALIA* Linn

*Terminalia* Linn é o segundo maior gênero da família Combretaceae, com cerca de 250 espécies amplamente distribuídas no sul da Ásia, Himalaia, Madagascar, Austrália e nas regiões tropicais e subtropicais da África (ZHANG *et al.*, 2019). No Brasil, as espécies de *Terminalia* ocorrem preferencialmente em floresta ombrófila densa no domínio da mata Atlântica (RIBEIRO *et al.*, 2018). As espécies de *Terminalia* variam de arbustos a grandes árvores de floresta decídua, podendo atingir até 75 m de altura (STACE, 2007). As *Terminalias* são conhecidas como uma rica fonte de metabólitos secundários e são amplamente utilizados na medicina tradicional em vários países do mundo para o tratamento de várias doenças e distúrbios (ANAND *et al.*, 1997; ELOFF *et al.*, 2008). Cerca de trinta e nove espécies de *Terminalia* foram investigadas fitoquimicamente, o que levou à identificação de 368 compostos, incluindo terpenóides, taninos, flavonóides, fenilpropanóides, fenólicos simples, entre outros. Estudos farmacológicos sugerem que alguns dos compostos isolados mostraram várias atividades biológicas, incluindo atividade antitumoral, anti-HIV-1, antifúngica, antimicrobiana, antioxidante, e apresentaram efeito positivo no fígado, rim, DCV, diabetes e obesidade (ZHANG *et al.*, 2019).

Espécies do gênero *Terminalia* são utilizadas na Ásia e em vários países Africanos, separadamente ou em combinação com espécies de gênero diferente, para o tratamento de diversas doenças. Um desses produtos tradicionais, Itrifal Saghir (etrefel saqir) ou atrifal arabizado de Triphala, é uma preparação comercializada no Irã há vários anos. Ela é composta pelos frutos de três plantas medicinais, *Phyllanthus emblica* L. ou *Emblica officinalis* Gaertn. (Euphorbiaceae), *Terminalia chebula* Retz. (Combretaceae) e *Terminalia bellerica* Retz. (Combretaceae), e formulada para o tratamento e controle da obesidade (KAMALI *et al.*, 2012). As espécies indianas *Terminalia chebula* e *Terminalia bellerica* são conhecidas por seus efeitos pleiotrópicos e descritas na medicina Ayurvedica para o tratamento da obesidade e diabetes (KAMALI *et al.*, 2012; YANG *et al.*, 2013). Na Índia, *Terminalia arjuna* (Combretaceae) e *Terminalia paniculata* Roth. (Combretaceae) são utilizadas tradicionalmente para o tratamento de doenças cardíacas, hepatites e diabetes (DIXIT *et al.*, 2013; EESHA *et al.*, 2011; RAMACHANDRAN *et al.*, 2012). A prática de medicina tradicional de algumas partes da região central de Camarões considera a *Terminalia superba* (Combretaceae) um remédio útil contra a hipertensão. Ela também é utilizada localmente para

o tratamento de várias doenças, incluindo diabetes, gastroenterite, infertilidade feminina e dores abdominais (ADJANOHOUN *et al.*, 1996).

Apesar da grande descrição da utilização de várias espécies de *Terminalia* de origem Asiática e Africana para o tratamento do DM, obesidade e SM, não existem relatos do uso na medicina tradicional de espécies brasileiras para o tratamento destas patologias. Estudos preliminares recentes do nosso grupo de pesquisa, em colaboração com a Universidade Jadavpur (Calcutá, Índia), demonstraram que as espécies brasileiras e indianas apresentam perfis fitoquímicos semelhantes. Estes resultados nos conduziram à investigação do potencial uso de espécies brasileiras de *Terminalia* para o tratamento do DM2, obesidade e/ou SM.

#### **1.4.1.1 *Terminalia glabrescens* Mart.**

*Terminalia glabrescens* Mart. (Combretaceae; **Figura 12**), popularmente conhecida como capitão, cerne amarelo, garrote, maria preta e pau-sangue, encontra-se amplamente distribuída no território brasileiro (GARCEZ *et al.*, 2003). *T. glabrescens* é utilizada popularmente para tratamento de vários distúrbios, incluindo infecção intestinal, úlcera no estômago e cólica intestinal (BAPTISTEL *et al.*, 2014). Das folhas de *Terminalia glabrescens* foram descritos os compostos tais como: triterpenos do tipo oleanano (3 $\beta$ ,6 $\beta$ ,23,28-tetraidroxiolean-12-eno), triterpenos pentacíclicos ursólicos (ácido 2 $\alpha$ -hidroxiursólico, ácido sumaresinólico, ácido arjunólico, sitosterol-3-*O*- $\beta$ -D-glicopiranosídeo e hidrocarbonetos) (GARCEZ *et al.*, 2003). Sabe-se que vários triterpenos possuem atividades antidiabéticas e cardioprotetoras, e atualmente são apontados como novas ferramentas para combater a SM (SANGWENI *et al.*, 2019; SHARMA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2016). Triterpenos de lanosteril (por exemplo, metil-3 $\beta$ -hidroxilanosta-9,24-dien-21-oato), isolados de *Protorhus longifolia* (Benrh.) Engl., uma espécie vegetal endêmica da África Austral, exibem efeitos cardioprotetores (SANGWENI *et al.*, 2019), e melhoram a sinalização da insulina em ratos diabéticos (MABHIDA *et al.*, 2018).



**Figura 12:** Planta *Terminalia glabrescens* Mart. Foto ilustrativa da espécie e em destaque suas inflorescências e folhas. Fonte:

<https://www.flickr.com/search/?text=Terminalia%20glabrescens%20mart>

#### 1.4.1.2 *Terminalia phaeocarpa* Eichler

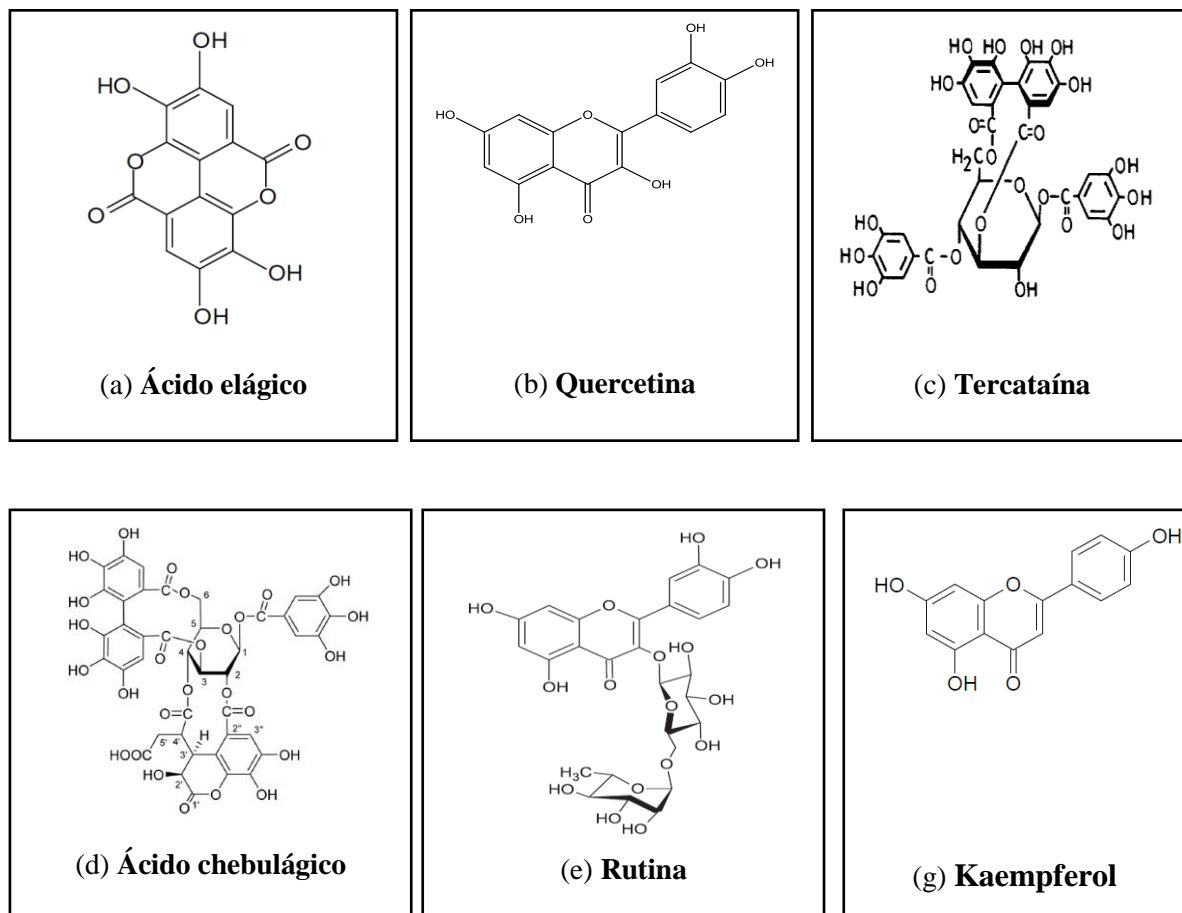
*Terminalia phaeocarpa* Eichler (sinônimos: *Terminalia hylobates* Eichler, *Myrobalanus phaeocarpa* (Eichler) Kuntze; **Figura 13**) é uma árvore amplamente distribuída no Brasil, ocorrendo na Mata Atlântica, no Cerrado e na Caatinga. Com relação à química da espécie, dados não publicados do nosso grupo de pesquisa identificaram, pela primeira vez, nas folhas de *T. phaeocarpa*, tanto no extrato etanólico, quanto na sua fração acetato de etila, nove substâncias de natureza fenólica (**Figura 14**): rutina, ácido elágico, quercetina, quercetina *O*-desoxi-hexose, 2''-*O*-galoil-quercetina-*O*-desoxiexose, canferol-*O*-desoxiexose, 2''-*O*-galoil-canferol-*O*-desoxiexose, tercataína e ácido chebulágico (Dados não publicados. Tese de doutorado em andamento na Faculdade de Farmácia, UFMG). Sabe-se que vários compostos polifenólicos exibem atividades antidiabéticas, anti-oxidantes, vasodilatatórias, anti-inflamatórias, anti-hipertensivas e anti-obesidade, através vários mecanismos em diferentes tecidos (ALKHALIDY *et al.*, 2015; DHANYA *et al.*, 2017). Crescente número de evidências sugere que a ingestão de ácido elágico é eficaz para atenuar a obesidade e melhorar as complicações metabólicas mediadas pela obesidade, como RI, DMT2 e doenças hepáticas. A quercetina (aglicona da rutina; **Figura 14b**) melhora as funções cardiovasculares, hepáticas e metabólicas em ratos com SM, reduz a pressão arterial sistólica em humanos hipertensos e em modelos animais de hipertensão (EGERT *et al.*, 2009; PEREZ-VIZCAINO *et al.*, 2009; YAMAMOTO e OUE, 2006), reduz as concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol em coelhos obesos após 12 semanas de tratamento (JUŻWIĄK *et al.*, 2005). O ácido chebulágico

(Figura 14d), exerce atividade antidiabética em vários tecidos através diferentes mecanismos, incluindo o aumento da sensibilidade à insulina através da via de sinalização do PPAR $\gamma$  (SHYNI *et al.*, 2014) e a inibição de enzimas digestivas (HUANG *et al.*, 2012).



**Figura 13: Planta *Terminalia phaeocarpa* Eichler. Foto ilustrativa da espécie e em destaque suas inflorescências e folhas. Fonte:**

<http://www.theplantlist.org/tpl1.1/record/tro-8200093>



**Figura 14:** Estruturas químicas dos principais constituintes presentes no extrato etanólico e sua fração acetato de etila das folhas de *Terminalia phaeocarpa*. Fontes das estruturas químicas: (COSTANZO *et al.*, 2013; GAIKWAD *et al.*, 2014; SRIVASTAVA *et al.*, 2007; TANAKA *et al.*, 1986).

# **OBJETIVOS**

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral:

Investigar os efeitos de extratos de *Terminalia glabrescens* e *Terminalia phaeocarpa* em modelo de DMT2 e na SM induzida por dieta hiperlipídica.

### 2.2 Objetivos específicos:

- Avaliar, os efeitos inibitórios dos extratos brutos (EB) e frações de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* sobre a atividade das enzimas  $\alpha$ -glicosidase intestinal,  $\alpha$ -amilase e lipase pancreática;
- Avaliar a atividade dos EB e frações de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* no teste de tolerância oral ao amido (TTA) e à sacarose (TTS) ;
- Avaliar em modelo murino de DMT2, sob tratamento subcrônico com os EB e frações, os seguintes parâmetros:
  - A glicemia e o peso corporal
  - Os parâmetros lipídeos do soro (colesterol total e triglicerídeos);
  - Parâmetros hepáticos (transaminases, FAL, proteína total e albumina);
  - A atividade da PTP1-B no fígado;
  - Os níveis de malondialdeído (MDA) e glutathiona reduzida (GSH) no fígado;
  - Parâmetros renais (balanço hídrico; a excreção urinária de glicose, do ácido úrico e da creatinina);
- Avaliar em modelo murino de SM, induzida por dieta hiperlipídica, sob tratamento crônico com a fração acetato de etila de *T. phaeocarpa*, os seguintes parâmetros:
  - Glicemia, o peso corporal, a ingestão de alimentos e a excreção das fezes;
  - Perfil lipídico (colesterol total e triglicerídeos) sérico, hepático fecal e cardíaco;
  - Tolerância à glicose, ao piruvato e a sensibilidade à insulina;
  - Parâmetros hepáticos (transaminases, FAL, proteína total e albumina);
  - A atividade da PTP1-B no fígado;
  - A atividade de certas enzimas hepáticas envolvidas no metabolismo de glicose: glicogênio fosforilase (GP) e a fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCK);
  - A pressão arterial sistólica (PAS) e a função endotelial nas artérias mesentéricas.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

#### **3.1 Investigações de efeitos dos extratos sobre atividade das enzimas digestivas**

##### **3.1.1 Reagentes**

A frutose (labsynth; Brasil) grau analítico, o amido de milho (Maizena; fabricante) obtida em mercado local, o cloridrato de metformina (Prati Donaduzzi; Brasil) obtido em farmácia, e os kits de dosagem foram obtidos da Bioclin (Brasil) e da Interkit (Brasil). Salvo indicação contrário, todos os outros reagentes foram adquiridos à Sigma-Aldrich (Brasil).

##### **3.1.2 Animais.**

Neste estudo foram utilizados camundongos machos Swiss, com idade entre 5 a 8 semanas, obtidos do centro de Bioterismo do Instituto de Ciências Biológicas (CEBIO) – ICB/UFMG. Eles foram mantidos no biotério do laboratório do Departamento de Farmacologia, em sala controlada: temperatura ambiente (23-24 ° C) e umidade (55%) com ciclo claro / escuro de 12 horas. Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFMG sob o número de protocolo: 77/2019.

##### **3.1.3 Material vegetal: *Terminalias***

Os materiais vegetais testados foram fornecidos pelo laboratório de Fitoquímica da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais, em colaboração com o Prof. Dr. Fernão Castro Braga. As folhas de *Terminalia glabrescens* e *Terminalia phaeocarpa* foram coletadas no Campus da UFMG, no município de Belo Horizonte. As espécies foram identificadas pelo Dr. João Renato Stehmann e as exsicatas depositadas no Herbário do Departamento de Botânica (BHCB) da UFMG, sob os respectivos números BHCB 201961 e BHCB 201083. Neste trabalho, foram testados os extratos etanólicos brutos (EB) de *Terminalia glabrescens*, de *Terminalia phaeocarpa* e suas frações hidrometanólica (FHM), acetato de etila (FAE), n-hexano (Hx) e diclorometano (DCM).



### 3.1.4 Ensaio *in vitro* de inibição de alfa-glicosidase

A atividade inibitória sobre a enzima  $\alpha$ -glicosidase foi avaliada conforme protocolo descrito por Pereira e colaboradores (PEREIRA *et al.*, 2012). Foram misturados, em placa de 96 poços, 20  $\mu$ L de materiais teste (3, 10, 30, 100 e 300  $\mu$ g/ mL solubilizados em tampão fosfato 0,1 mM, pH 6,8), 20  $\mu$ L de glutatona reduzida (0,1 mM) e 20  $\mu$ L da solução da enzima  $\alpha$ -glicosidase (0,16 U/mL). A mistura foi inicialmente incubada por 10 min a 37 °C. Após este período, a reação foi iniciada pela adição de 20  $\mu$ L de *p*-nitrofenil- $\alpha$ -D-glicopiranosídeo (p-NPG, substrato).

As placas foram incubadas por 25 min a 37 °C. A reação foi interrompida pela adição de 80  $\mu$ L de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 0,2 M). A absorbância foi medida a 405 nm em leitor de microplaca. Como controle positivo, utilizou-se acarbose (0,01-100  $\mu$ g/mL). A atividade inibitória sobre a  $\alpha$ -glicosidase está expressa como porcentagem de inibição e foi calculada de acordo com a equação (1) abaixo:

$$\% \text{ Inibição} = [1 - (\mathbf{B-b}) / (\mathbf{A-a})] \times 100 \quad (1)$$

Onde A é a atividade na ausência do inibidor; a é o controle negativo na ausência do inibidor; B é a atividade na presença do inibidor; e b é o controle negativo na presença do inibidor.

### 3.1.5 Ensaio *in vitro* de inibição da lipase pancreática

A atividade da Lipase (lipase pancreática porcina, LPP) foi medida usando o palmitato de *p*-nitrofenilo (PNP) como substrato, seguindo o protocolo usado anteriormente por Hongqiang e colaboradores (FEI *et al.*, 2016), com pequenas modificações. No dia do experimento, as soluções de LPP (5  $\mu$ g / mL) e PNP (0,5 mM) foram preparadas em tampão Tris-HCl 50 mM, pH 8,0 (combinado com 0,2% de desoxicolato de sódio e 0,1% de Goma arábica). Os extratos / frações foram dissolvidos no mesmo tampão, enquanto o orlistat foi dissolvido em DMSO a 20% em água, em seguida, dissolvido no tampão. Para determinar a atividade inibitória, em placas de 96 poços, 50  $\mu$ L de extratos ou frações (em concentrações variando de 3 a 300  $\mu$ g / mL) foram pré-incubados com 50  $\mu$ L da solução enzimática, a 37 °C, por 30 min. A reação foi iniciada pela adição de 25  $\mu$ L de PNP, e as placas incubadas por 60 min, a 37° C. A reação foi terminada pela adição de 100  $\mu$ L de tampão Tris-HCl 50 mM, pH 8,0, e as placas colocadas no gelo. O Orlistat (em concentrações variando de 0,003 a 0,3  $\mu$ g /

mL) foi o controle positivo. As absorvências foram medidas a 410 nm utilizando um leitor de microplacas. As porcentagens de inibição foram calculadas utilizando a equação (1) descrita no item 3.1.4.

### **3.1.6 Ensaio in vitro de inibição da $\alpha$ -amilase pancreática**

O ensaio de inibição da  $\alpha$ -amilase foi realizado utilizando o ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNSA), seguindo o protocolo anteriormente descrito por MOHAMMED e colaboradores (MOHAMMED *et al.*, 2017), com pequenas modificações. A solução enzimática e todas as substâncias teste foram preparadas com tampão fosfato de sódio 20 mM ((Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> / NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (0,02 M), NaCl (0,006 M), pH 6,9). Para determinar a atividade inibidora, em placa de 96 poços, a mistura de 50  $\mu$ l de tampão, 25  $\mu$ l de amostras (em concentrações variando de 3 a 300  $\mu$ g / mL) e 25  $\mu$ l de solução da enzima (amilase pancreática porcina, 0,5 mg / ml) foi incubada a 37 °C, durante 10 min. Posteriormente, para iniciar a reação, foram adicionados 50  $\mu$ l de uma solução de amido (1%), e a mistura foi novamente incubada durante 30 min, a 37 °C. A reação foi parada pela adição, no meio, de 100  $\mu$ l de reagente DNSA (ácido 3,5-dinitrosalicílico 96 mM, tartarato de sódio e de potássio 5,3 M e NaOH 2 M) e as placas foram colocadas em banho-maria por 10 min a 90° C. As absorvências foram medidas a 540 nm, utilizando um leitor de microplacas. A Acarbose (0,01, 0,1, 1, 10 e 100  $\mu$ g / mL) foi usada como controle positivo. As porcentagens de inibição foram calculadas utilizando a equação (1) descrita no item 3.1.4.

### **3.1.7 Teste de tolerância oral ao amido (TTA) e à sacarose (TTS) em animais euglicêmicos**

Camundongos Swiss machos, com idade de 8 semanas, foram utilizados. Para realizar os ensaios, após 12 h de jejum, os valores da glicemia foram obtidos (glicemia do tempo zero). Em seguida, os camundongos receberam as amostras (extratos e frações das *Terminalias*, 100 mg/kg), por via oral. O grupo controle neutro recebeu água destilada (Veículo, 0,1 ml/10 g da massa corporal). O grupo controle positivo (Padrão) recebeu a acarbose (10 mg/kg). Após vinte e cinco minutos, os camundongos receberam por via oral uma solução de amido (2 g/kg), para o TTA, ou sacarose (3 g/kg), para o TTS. Os níveis de glicose no sangue, coletado da veia caudal 15, 30, 60, 90 e 120 min após a administração de

amido ou sacarose, foram medidos usando um glicosímetro (ACCU-CHEK Active, Roche Mannheim-Germany).

### 3.2 Investigação de efeitos dos extratos em um modelo de diabetes

#### 3.2.1 Indução do diabetes

O diabetes foi induzido em camundongos machos (Swiss, 5-6 semanas) por um método modificado (BADOLE e BODHANKAR, 2010; CHUKWUMA *et al.*, 2018; WILSON e ISLAM, 2012). Os camundongos foram inicialmente divididos em 2 grupos: controle euglicêmico (CE) e controle diabético (CD). Os camundongos do grupo CE foram mantidos com água potável normal, enquanto os camundongos do grupo CD receberam uma solução de frutose 10%, *ad libitum*, durante 2 semanas. Após 2 semanas, a água contendo frutose 10 % foi trocada por água potável regular. Em seguida, todos os camundongos foram jejuados por 16 horas. Os camundongos do grupo CD foram injetados com estreptozotocina (STZ, 150 mg / kg, i.p.), dissolvida em tampão citrato de sódio 0,1 M, pH 4,5. 15 minutos após a injeção de nicotinamida (NA, 130 mg / kg, i.p., dissolvida em salina). Os camundongos do grupo CE receberam solução salina e tampão citrato através da mesma via. 4 semanas após a injeção de NA/STZ, os camundongos com glicemia em jejum entre 200 e 350 mg/dL foram considerados diabéticos e selecionados para o estudo posterior.

#### 3.2.2 Desenho experimental e tratamento

Na quarta semana após a injeção de NA/STZ, os camundongos foram divididos aleatoriamente em grupos, conforme mostrado abaixo, e tratados por gavagem, entre 08 e 09 horas da manhã, uma vez por dia, durante 28 dias:

- Euglicêmico (n= 8), camundongos sem diabetes tratados com água destilada (0,1 ml/10g m.c),
- Diabético (n= 8), camundongos diabéticos tratados com água destilada (0,1 ml/10g m.c),
- Diabético Met (n= 8), camundongos diabéticos tratados com Metformina (200 mg/kg m.c)
- Diabético EB Tg 100, camundongos diabéticos tratados com extrato etanólico de *T. glabrescens* (100 mg/kg m.c),
- Diabético FMH Tg 100, camundongos diabéticos tratados com a fração hidro-metanólica de *T. glabrescens* (100 mg/kg m.c),

- Diabético EB Tp 100, camundongos diabéticos tratados com extrato etanólico de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg m.c),
- Diabético EB Tp 30, camundongos diabéticos tratados com extrato etanólico de *T. phaeocarpa* (30 mg/kg m.c),
- Diabético FAE Tp 100, camundongos diabéticos tratados com a fração acetato de etila de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg m.c),
- Diabético FAE Tp 30, camundongos diabéticos tratados com a fração acetato de etila de *T. phaeocarpa* (30 mg/kg m.c).

### **3.2.3 Massa corporal e glicemia semanal**

Durante o período experimental, o peso corporal e a glicemia foram monitorados semanalmente em camundongos jejuados por 12 horas. As doses das drogas foram ajustadas a cada três dias, de acordo com qualquer alteração no peso corporal, para manter uma dose semelhante por kg de camundongo durante o estudo. Os níveis de glicose no sangue, coletados da veia caudal, foram monitorados usando um glicosímetro (ACCU-CHEK Active, Roche Mannheim-Germany).

### **3.2.4 Determinação dos parâmetros renais**

Foi observado um período de adaptação às gaiolas metabólicas. Os camundongos foram colocados em gaiolas metabólicas por 24 horas, uma vez por semana, por 2 semanas. Antes de iniciar e após o tratamento, os camundongos foram colocados nas gaiolas metabólicas para a medição da ingestão de água e do fluxo urinário de 24 horas. A excreção urinária, por 24 horas, de glicose, de ácido úrico e de creatinina foi avaliada usando kits específicos para o teste e seguindo as instruções do fabricante (Bioclin, Brasil).

### **3.2.5 Eutanásia, coleta de sangue e tecidos**

No final do tratamento, os animais foram jejuados durante a noite e sacrificados por decapitação. Uma parte do sangue foi coletada em tubos contendo EDTA, e outra parte foi coletada em tubos secos e centrifugada (3000 rpm, 15 min, 4 ° C), o soro obtido foi armazenado a -80 °C até uso posterior. O fígado foi dissecado, lavado com soro fisiológico frio, pesado, cortado e armazenado a -80 °C para análises bioquímicas.

### **3.2.6 Determinação dos parâmetros bioquímicos do sangue**

A parte do sangue que foi coletada em tubos com EDTA foi utilizada para avaliar a porcentagem de hemoglobina glicada (HbA1c) usando o kit correspondente e seguindo as instruções do fabricante (Interkit, Brasil). Os níveis séricos de glicose, creatinina, ácido úrico, colesterol total (CT), triglicérides (TG), alanina transferase (ALT), aspartato transferase (AST), fosfatase alcalina (ALP), proteínas totais (PT) e albumina foram determinados usando kits específicos para o teste, seguindo as instruções do fabricante (Bioclin, Brasil).

### **3.2.7 Determinação da peroxidação lipídica e do perfil de defesa antioxidante no fígado**

Foram medidos os teores de proteínas totais (PT), glutathiona reduzida (GSH) e malondialdeído (MDA). 0,2 mg de tecido hepático foi homogeneizado em 1 mL de uma solução gelada de tampão Tris-HCl 0,01 M (pH 7,4) e centrifugado a 12 000 x g por 15 min, como descrito anteriormente por KAVUTCU colaboradores (KAVUTCU *et al.*, 1996). O sobrenadante foi coletado individualmente para a determinação dos parâmetros listados acima. A concentração de PT no fígado foi medida com o reagente de Bradford, usando albumina de soro bovino como padrão.

A peroxidação lipídica no fígado foi determinada medindo a quantidade de MDA nas amostras, seguindo o protocolo descrito por Wilbur e colaboradores (1949). Aldeídos, como o aldeído malônico (MDA), formados durante a peroxidação lipídica, reagem com o ácido tiobarbitúrico para formar um complexo de cor rosa detectável no comprimento de onda de 530 nm. Para a dosagem foram adicionados 500 µL sobrenadante de fígado, 250 µL de ácido tricloroacético (ATC; 20%) e 500 µL de ácido tiobarbitúrico (ATB; 0,67%). A mistura foi incubada por 10 minutos a 90 ° C em banho-maria. Os tubos foram resfriados à temperatura ambiente e centrifugados (3 000 rpm por 15 min, à temperatura ambiente), subsequentemente o sobrenadante pipetado e a absorvância detectada, contra o branco, a 530 nm utilizando um espectrofotômetro (WILBUR *et al.*, 1949). A quantidade de MDA foi determinada usando a seguinte fórmula:

$$[\text{MDA}](\text{mmol/g de fígado}) = \frac{\text{DO} \times \text{Vt}}{\varepsilon \times \text{L} \times \text{Vi} \times \text{m}} \quad (2)$$

Onde: DO é a densidade óptica (nm); Vt é o volume total de sobrenadante (mL); Vi é o volume usado para o ensaio (mL); m é a massa do fígado (g); L é o caminho óptico (cm) = 1 cm;  $\varepsilon$  é o coeficiente de extinção molar =  $1,56 \times 10^5 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

O método desenvolvido por ELLMAN (1959) foi utilizado para determinar a quantidade de GSH. O princípio é baseado na reação do ácido dinitro-2,2'-ditio-5,5'-dibenzoico (DTNB) com grupos tiol para formar um complexo de coloração amarela detectada a 412 nm. 100  $\mu\text{L}$  de sobrenadante e 1500  $\mu\text{L}$  do reagente de Ellman (DTNB, diluído em tampão fosfato 0,1 M pH 6,5) foram introduzidos em tubo de ensaio, e incubado por 1 hora à temperatura ambiente (ELLMAN, 1959). A absorvância foi detectada a 412 nm contra o branco. A quantidade de GSH na amostra foi determinada usando a seguinte fórmula:

$$[\text{GSH}](\text{mol/g de fígado}) = \frac{\text{DO} \times \text{Vt}}{\varepsilon \times \text{L} \times \text{Vi} \times \text{m}} \quad (3)$$

Onde: DO é a densidade óptica (nm); Vt é o volume total de sobrenadante (mL); Vi é o volume usado para o ensaio (mL); m é a massa do fígado (g); L é o caminho óptico (cm) = 1 cm;  $\varepsilon$  é o coeficiente de extinção molar =  $13600 \text{ mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ .

### 3.2.8 Avaliação da atividade da proteína tirosina fosfatase 1B (PTP1-B) do fígado

A atividade da PTP1-B no fígado foi avaliada de acordo com o protocolo descrito por Wang e colaboradores (WANG *et al.*, 2012). 100 mg da amostra de fígado congelada foram homogeneizados em 1 ml de tampão gelado, contendo 50 mM-Tris e 150 mM NaCl, e o homogenato foi centrifugado (12 000 g, 15 min) a 4 ° C. O sobrenadante foi coletado individualmente e a concentração de proteína foi medida com o reagente de Bradford, usando albumina de soro bovino como padrão. A atividade de PTP1-B no sobrenadante foi medida pela adição de 50  $\mu\text{L}$  de solução tampão de p-nitrofenil fosfato 1mM (como substrato; pH 8,0, contendo 50mM-Tris e 150mM-NaCl) em 50  $\mu\text{L}$  de sobrenadante de tecido, contendo 20 mg de proteína. Após incubação durante 30 min, a 37 ° C, a reação da enzima PTP1-B foi terminada pela adição de 200  $\mu\text{L}$  de 3M-NaOH. A quantidade de p-nitrofenol produzido foi medida a 405 nm com um leitor de microplacas (WANG *et al.*, 2012).

### **3.3 Investigação de efeitos da fração acetato de etila da *Terminalia phaeocarpa* em modelo de síndrome metabólica**

#### **3.3.1 Indução da síndrome metabólica (SM)**

A SM foi induzida alimentando camundongos machos (Swiss, 5-6 semanas), durante um período inicial de 8 semanas, com uma dieta hiperlipídica (DHL, 60% de gordura, RHOSTER-Brasil) mais frutose (10%) adicionada na água de beber. Os camundongos de grupo controle receberam a dieta regular (DR, Nuvilab-Brazil) e água de beber livre de frutose. No final da oitava semana, os camundongos cujo peso corporal era 20% maior que o peso médio de animais em DR foram considerados obesos e selecionados para o estudo.

#### **3.3.2 Desenho experimental e tratamento**

Os camundongos foram divididos aleatoriamente em grupos, conforme mostrado abaixo, e tratados por gavagem uma vez por dia, entre 08 e 09 horas da manhã, por 8 semanas, durante as quais, a frutose foi removida:

- DR (n= 8), camundongos sob a dieta regular tratados com água destilada (0,1 ml/10g m.c);
- DHL (n=8), camundongos obesos tratados com água destilada (0,1 ml/10g m.c);
- DHL Tp100 (n=8), camundongos obesos tratados com a fração acetato de etila de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg m.c);
- DHL Tp 30 (n=8), camundongos obesos tratados com a fração acetato de etila de *T. phaeocarpa* (30 mg/kg m.c);
- DHL Orlistate 10 (n=6), camundongos obesos tratados com orlistate (10 mg/kg m.c).

#### **3.3.3 Massa corporal, glicemia, ingestão alimentar, excreção de fezes e pressão arterial sistólica (PAS) ao longo do tratamento**

Durante o período de tratamento, os camundongos obesos foram mantidos sob a DHL. As doses das amostras foram ajustadas a cada três dias, de acordo com qualquer alteração na massa corporal. A massa corporal, a glicemia, a ingestão de alimento, a excreção de fezes e a pressão arterial sistólica (PAS) foram monitorados. Os níveis de glicose no sangue, coletados da veia caudal, foram monitorados usando um glicosímetro (ACCU-CHEK Active, Roche

Mannheim-Germany). A PAS foi monitorada por pletismografia de cauda (Tail-Cuff Blood Pressure System, MRBP, IITC Life Science; EUA).

### **3.3.4 Teste de Tolerância à Glicose, ao piruvato (TTP) e de sensibilidade à insulina (TSI)**

Os testes de tolerância à glicose (TTG), ao piruvato (TTP) e de sensibilidade à insulina (TSI) foram realizados 6 semanas após o início do tratamento, com 3 dias de recuperação entre cada teste. O sangue foi obtido da veia caudal e as medições da glicemia foram feitas usando um glicosímetro (ACCU-CHEK Active, Roche Mannheim-Germany).

Para o TTG, os camundongos foram jejuados por 16 horas conforme descrito por NAKAGAWA e colaboradores (2006) com pequena modificação, seguido de administração oral de glicose (2,0 g/kg). As concentrações de glicose no sangue foram subsequentemente medidas em 0 (antes da carga oral de glicose), 30, 60, 90, e 120 min após a carga oral de glicose (NAKAGAWA *et al.*, 2006).

Para o TSI, os camundongos foram jejuados por 6 h, seguido de injeção intraperitoneal de insulina humana recombinada (Humulin-Eli Lilly Compagny ) (0,75 U/kg), conforme descrito por RAMAKRISHNAN e colaboradores (2016). O sangue foi obtido nos tempos 0 (antes da injeção da insulina), 15, 30, 45 e 60 min para a medição da glicose (RAMAKRISHNAN *et al.*, 2016). A “área sob a curva” (AUC, em unidades arbitrárias, u.u.) foi calculada para avaliar a insensibilidade à insulina.

Para o TTP, os camundongos foram jejuados por 16 h, seguido de injeção intraperitoneal de piruvato (2 g/kg), conforme descrito por Foretz e colaboradores (FORETZ *et al.*, 2010). As concentrações de glicose no sangue foram subsequentemente medidas em 0 (antes da injeção de piruvato), 30, 60, 90, e 120 min após injeção de piruvato. A “área sob a curva” (AUC, em unidades arbitrárias, u.u.) foi calculada para avaliar a intolerância ao piruvato.



### 3.3.5 Eutanásia e coleta de tecidos dos animais com a SM

No final do tratamento os camundongos, jejuados a noite (12h), foram sacrificados por decapitação, sob anestesia com uretano (1,2 g/kg). Uma parte do sangue foi coletada em tubos com EDTA e outra parte em tubos secos. O sangue coletada em tubos secos foi centrifugado (3000 rpm, 15 min, 4°C), o soro obtido foi armazenado a -80 °C até o uso posterior. O fígado e o coração foram dissecados, lavados com soro fisiológico frio, pesados e armazenados a -80 °C para análises bioquímicas. Os tecidos adiposos epididimal (TA Epi), retroperitoneal e perirenal (TA RPPR) foram dissecados e pesados. O tecido adiposo total (TAT) foi calculado somando: TA Epi + TA PRRP. Enquanto a adiposidade foi calculada utilizando a fórmula:  $(TAT) \cdot 100 / (\text{massa corporal})$ . O leito vascular mesentérico foi dissecado e colocado em uma solução fisiológica (PSS) com a seguinte composição em mM: NaCl, 119; KCl, 4,7; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,4; NaHCO<sub>3</sub>, 14,9; MgSO<sub>4</sub>, 1,17; CaCl<sub>2</sub>, 2,5; glicose, 5,5; e aerada com carbogênio (95 % O<sub>2</sub> e 5% CO<sub>2</sub>). A resposta à fenilefrina e acetilcolina foi observada nas artérias mesentéricas.

### 3.3.6 Determinação dos parâmetros bioquímicos do sangue

O sangue que foi coletada em tubos com EDTA foi utilizada para avaliar níveis de hemoglobina total usando o kit correspondente e seguindo as instruções do fabricante (Bioclin, Brasil). Os níveis séricos de glicose, creatinina, ácido úrico, albumina, bilirubina total, CT, TG, ALT, AST, PT, ALP, foram determinados usando kits específicos para o teste e seguindo as instruções do fabricante (Bioclin, Brasil). O nível da insulina foi determinado no soro usando o “*Mouse Insulin ELISA kit*” (Ivitrogen, Thermo Fisher Scientific). Os Índices QUICKI (*quantitative insulin sensitivity check index*) e HOMA-IR (*Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance*) foram calculados, para avaliar sensibilidade à insulina usando as seguintes equações:

$$\text{HOMA-IR} = \text{FSI} \cdot \text{FSG} / 22,4 \quad (4) \text{ (SHAWKY } et al., 2019),$$

$$\text{QUICKI} = 1 / (\text{Log (FSG)} + \text{Log (FSI)}) \quad (5) \text{ (KATZ } et al., 2000),$$

Onde FSI é a concentração da insulina sérica em jejum ( $\mu\text{UI} / \text{mL}$ ) e FSG é a glicose sérica em jejum em mmol/L para a equação (4), ou em mg/dL para a equação (5).

### **3.3.7 Estudos de reatividade vascular em animais com SM.**

Após serem removidas, anéis de artérias mesentéricas (2ª ramificação) foram cortados em segmentos de 2 mm de comprimento. Em seguida, os anéis de artérias foram montados em miógrafos para medidas de tensão isométrica (DMT; Dinamarca). Os parâmetros de contração e relaxamento foram obtidos através de sistema de aquisição de dados (PowerLab/8S, ADInstruments Pty Ltd., Austrália). Após a montagem, as artérias estabilizaram durante 45 minutos, mantidas em PSS, a 37 °C e aeradas com carbogênio. Durante o período de estabilização e após a realização das curvas concentra-resposta, o PSS de cada cuba foi trocado a cada 15 minutos.

A presença de endotélio funcional foi avaliada em artérias mesentéricas pré-contraídos com fenilefrina (0,7 µM) e posteriormente estimuladas com acetilcolina (10 µM). Os vasos com resposta vasodilatadora induzida a acetilcolina igual ou superior a 80% foram considerados com endotélio funcional. Para avaliar a função vascular de camundongos tratados cronicamente, foram realizadas curvas concentração-resposta com acetilcolina ou fenilefrina, para avaliar a resposta vasorelaxante ou vasoconstritora dos animais, respectivamente.

### **3.3.8 Análise de TG hepáticos, fecais e cardíacos**

Os TG hepáticos, fecais e cardíacos foram avaliados de acordo com o protocolo descrito por TAHARA e colaboradores (2011), com pequenas modificações. Os tecidos hepático e cardíaco, e as fezes (aproximadamente 100 mg) foram transferidos para um tubo, imerso em 400 µl de metanol e homogeneizados. Após adição de clorofórmio (800 µl) e agitação por 10 min, água purificada (200 µl) foi adicionada. Esta mistura foi agitada por 10 min e depois centrifugada (2500 rpm por 5 min em temperatura ambiente) e a camada superior removida. Uma alíquota de 50 µl da camada inferior (clorofórmio) foi transferida para tubos novos (TAHARA *et al.*, 2011). Os tubos foram deixados em repouso, à temperatura ambiente, por 2 h em capela, para evaporação do clorofórmio. O resíduo de cada tubo foi dissolvido em 50 µl de etanol e as concentrações de TG foram medidas usando kits específicos para o teste e seguindo as instruções do fabricante (Bioclin, Brasil).

### 3.3.9 Quantificação do glicogênio hepático

O teor de glicogênio hepático foi avaliado de acordo com o protocolo descrito por Gray e colaboradores (2007). Vinte (20) mg de tecido hepático congelado foram dissolvidos a 95°C durante 30 min em 300 µl de KOH 0,5 M. Foram adicionadas 25 µl de Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 6% e 750 µl de MeOH 100% às amostras resfriadas. As amostras foram incubadas por 1 hora a 80 ° C e centrifugadas (14.000 rpm a 4°C, 5 min). Duzentos (200) µl de amiloglucosidase (2 mg / ml, em tampão acetato de sódio 0,2 M pH 4,9) foram adicionados aos sedimentos, a mistura foi incubada por 60 min a 37° C (GRAY *et al.*, 2007). A concentração de glicose nas amostras foi avaliada usando kit para determinação de glicose, seguindo as instruções do fabricante (Bioclin, Brasil).

### 3.3.10 Medição de atividade hepática das enzimas PEPCK e GP.

Para a atividade da PEPCK, a fonte de enzima hepática foi preparada conforme ao método descrito por HULCHER e OLESON (1973). 100 mg do tecido hepático foram homogeneizados em 1 mL de solução tampão (TRIS-HCl 0,1M, pH 7,4, 0,2 M EDTA e 0,002 M DTT). As amostras foram centrifugadas a 1000 ×g, a 4°C, por 15 min. Os sobrenadantes foram coletados e centrifugados novamente (10 000 g, a 4°C, por 15 min). Os sobrenadantes desta segunda centrifugação foram utilizados como fonte de PEPCK (HULCHER e OLESON, 1973). A atividade da PEPCK foi avaliada conforme o protocolo descrito por BENTLE e LARDY (1976), com pequenas modificações. Uma mistura composta de HEPES-Na (50 mM, pH 6,5), inosine 5'-diphosphate (1 mM), MnCl<sub>2</sub> (1 mM), DTT (1 mM), NADH (0,25 mM), PEP (2 mM) , NaHCO<sub>3</sub> (50 mM) e 10 µl de solução da enzima hepática (sobrenadante de fígado) foi inicialmente estabilizada a 25 °C. A reação foi iniciada pela adição de 7,2 U de Malic desidrogenase (volume final 1 mL). A atividade enzimática foi determinada por 2 min (340 nm, 25 ° C) (BENTLE e LARDY, 1976).

Para a atividade da GP, a fonte de enzima hepática foi preparada conforme ao método descrito por WU SY e colaboradores (2009). 100 mg do tecido hepático foram homogeneizados em 2 mL de solução de sacarose (0,25 mol/L). As amostras foram centrifugadas a 12000 ×g, a 4°C, por 30 min. Os sobrenadantes desta segunda centrifugação foram utilizados como fonte de GP (WU SY *et al.*, 2009). A atividade da GP total foi determinada usando uma reação acoplada a glicose-6-fosfatase (G6PD) conforme o protocolo anterior (FREEMAN *et al.*, 2006). O ensaio mede a formação de nicotinamida adenina

dinucleotídeo reduzida (NADH) durante a conversão de glicogênio em glicose-1-fosfato por GP. A glicose-1-fosfato é então convertida em glicose-6-fosfato e depois em p-D-gluconolactona por fosfoglucomutase e G6PD, respectivamente. Uma mistura composta de glicogênio (1 mg / mL), fosfoglucomutase (1 U / mL), G6PD (3 U / mL), fosfato de potássio (100 mmol / L), AMP (1 mmol / L), MgCl<sub>2</sub> (mmol / L) e NAD<sup>+</sup> (5 mmol / L), foi inicialmente estabilizada a 25 °C. A reação foi iniciada com a adição de 50 µL de preparação de enzima hepática. Após 2 minutos de incubação, as mudanças de absorbâncias, a 340 nm, foram monitoradas por 7 min.

### 3.4 Análises estatísticas

Os cálculos e análises estatísticas foram realizados utilizando o programa Graph Pad Prism 8.1.1. Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média (EPM). A percentagem de inibição da atividade das enzimas foi avaliada usando o -log da concentração inibitória de 50 % da resposta (pCI<sub>50</sub>), que foi calculado usando curva de regressão não linear. As respostas vasodilatadoras para a acetilcolina foram expressas como uma diminuição percentual da resposta contrátil máxima induzida por fenilefrina. A resposta contrátil para a fenilefrina foi expressa como mN de tensão. As sensibilidades das artérias à fenilefrina e acetilcolina foram calculadas como a concentração efetiva que induz 50% da resposta máxima (CE<sub>50</sub>) usando curva de regressão não linear e expressas como -log da CE<sub>50</sub> (pCE<sub>50</sub>). Análise de variância (ANOVA) de duas vias ou uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. A análise estatística de coluna, seguida do teste t (*One sample t test*), foram utilizados para avaliar a variação intragrupo. Valores de p < 0,05 foram considerados estatisticamente significantes.

# **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Avaliação *in vitro* e *in vivo* da atividade antidiabética potencial de *Terminalia phaeocarpa* e *Terminalia glabrescens*

#### 4.1.1 Efeito inibitório *in vitro* dos extratos e frações de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* sobre as atividades enzimáticas da $\alpha$ -glicosidase, $\alpha$ -amilase e lipase.

No presente trabalho, o EB e as frações FHM e FAE de *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* foram avaliados *in vitro* sobre a atividade das enzimas  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase. Os resultados ilustrados na **Figura 15** demonstram que EB, FHM e FAE de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* inibiram, de maneira concentração-dependente, as enzimas  $\alpha$ -glicosidase (**Figura 15 A e B**) e  $\alpha$ -amilase (**Figura 15 C e D**). FHM e FAE de *T. phaeocarpa* foram inibidores significativamente mais potentes da atividade da  $\alpha$ -glicosidase quando comparados ao EB (**Figura 15A e Tabela 2**). Os EB e FHM de *T. phaeocarpa* foram todos inibidores mais potentes sobre a atividade da enzima  $\alpha$ -glicosidase, quando comparados os valores de  $pIC_{50}$  àqueles para a  $\alpha$ -amilase (**Tabela 2**). Quando comparamos o efeito de EB e frações de *T. glabrescens*, percebemos que EB e FAE foram inibidores mais potentes da enzima  $\alpha$ -glicosidase quando comparado ao efeito sobre a  $\alpha$ -amilase (**Tabela 2**).

O DMT2 é caracterizado por um defeito na secreção de insulina e pela RI, produzindo uma alteração na regulação da glicemia pós-prandial (GPP). Esta disfunção na GPP, caracterizada por uma hiperglicemia pós-prandial (HGPP), é considerada como uma das primeiras anormalidades da homeostase de glicose nos diabéticos (BLAAK *et al.*, 2012). O perfil de GPP é determinado pela absorção de carboidratos, secreção de insulina e glucagon e seus efeitos no metabolismo de glicose no fígado e tecidos periféricos (BLAAK *et al.*, 2012). Os carboidratos da dieta representam uma fonte importante de glicose no sangue. Os enterócitos só podem absorver monossacarídeos, como glicose e frutose, cuja absorção intestinal, a partir de maltose, sacarose e outros polissacarídeos, é possível pela ação das  $\alpha$ -glicosidases e  $\alpha$ -amilase (BLAAK *et al.*, 2012). As enzimas  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase são consideradas alvos terapêuticos muito importantes, porque a inibição de sua atividade é capaz de diminuir significativamente o nível de GPP no sangue após uma dieta mista de carboidratos (JO *et al.*, 2011). Sabe-se que os inibidores de  $\alpha$ -glucosidase, como acarbose, miglitol e voglibose, reduzem a HGPP e retardam a absorção de glicose (BHANDARI *et al.*,

2008; THILAGAM *et al.*, 2013). Neste sentido, a inibição de HGPP através da inibição de  $\alpha$ -glicosidase tem se mostrado eficaz no tratamento do DMT2 (CHIASSON *et al.*, 2002; YANG *et al.*, 2014b).

Estudos de fitoquímica em andamento em nosso grupo de pesquisa (GOMES, 2020) descreveram a presença de compostos fenólicos, tais como rutina, ácido elágico, kampeferol, quercetina, tercataína e ácido chebulágico no EB, FHM e FAE das folhas de *T. phaeocarpa*. Estudos mostram que ácido chebulágico isolado de *Terminalia chebula* e *Terminalia macroptera* (GAO *et al.*, 2007; HUANG *et al.*, 2012; PHAM *et al.*, 2014), ácido elágico isolado de *Terminalia superba* (WANSI *et al.*, 2007), e quercetina isolada de *Matricaria recutita* (ICHIKI *et al.*, 2007), exibiram atividade antidiabética através diferentes mecanismos, incluindo a inibição de  $\alpha$ -glicosidase. Não houve investigação fitoquímica em nosso grupo de pesquisa para as folhas de *T. glabrescens*, no entanto, a presença de triterpenos pentacíclicos (ácido ursólico e ácido arjunólico) foram anteriormente descritos (GARCEZ *et al.*, 2003). O ácido ursólico foi previamente descrito como inibidor da atividade da  $\alpha$ -glicosidase e da  $\alpha$ -amilase (KALAYCIOĞLU *et al.*, 2018; ZHANG *et al.*, 2017). Assim, a inibição *in vitro* observada neste estudo poderia estar associada aos compostos como rutina, ácido elágico, kampeferol, quercetina, tercataína e ácido chebulágico, presentes em extratos e frações de *T. phaeocarpa*; ou do ácido ursólico descrito para *T. glabrescens*. Portanto, os resultados apresentados no presente trabalho sugerem que os extratos e frações de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens*, através da inibição *in vitro* das enzimas  $\alpha$ -glicosidase e a  $\alpha$ -amilase, apresentam uma atividade compatível com um potencial uso para o tratamento do DMT2.

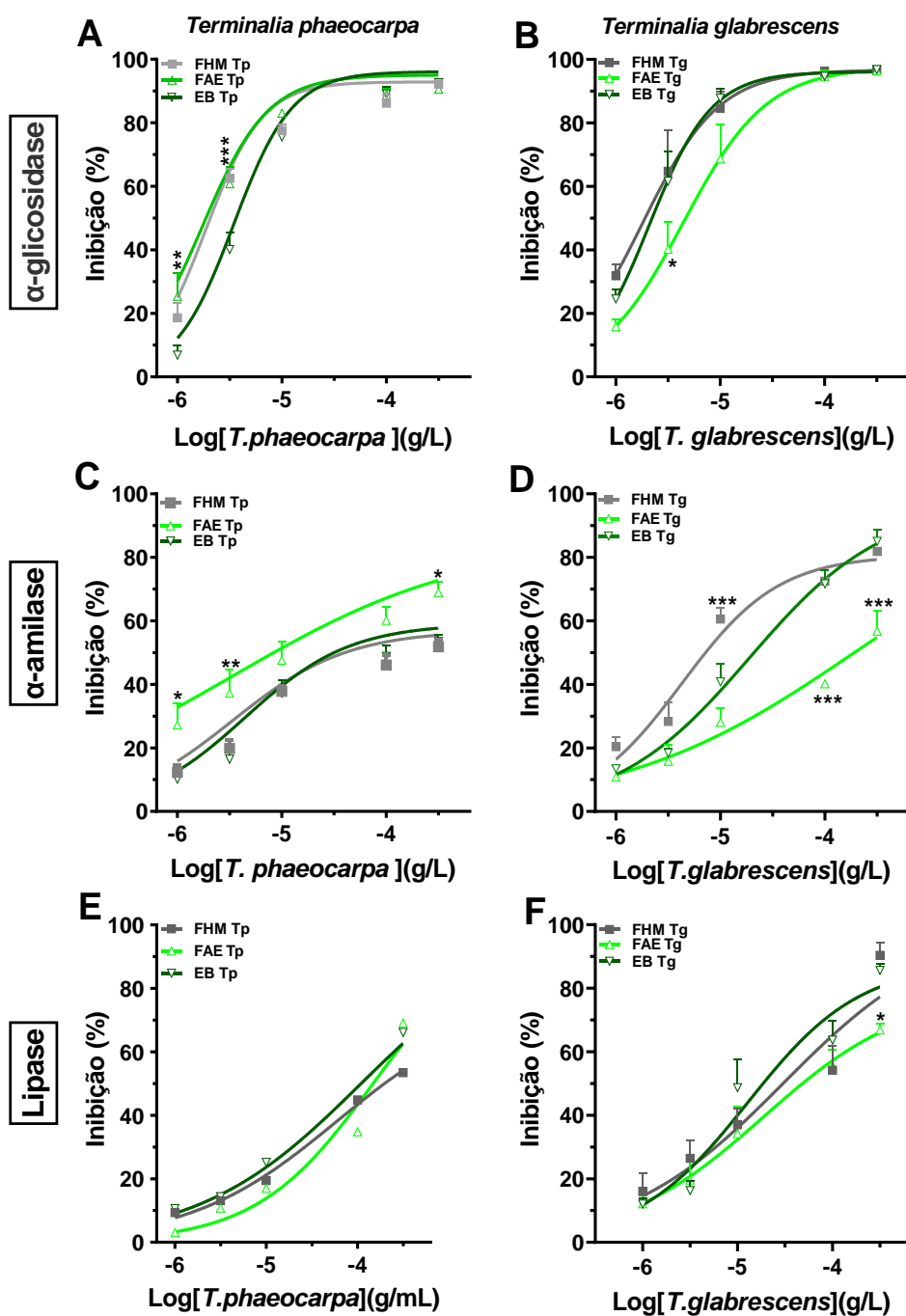
Além da hiperglicemia, o DMT2 é caracterizado por níveis elevados de triglicérides (TG). Os lipídios alimentares representam a principal fonte de calorias indesejadas que exacerbam a progressão do DMT2 (MCCLENDON *et al.*, 2009; VAN DE LAAR, 2008). Altas flutuações de glicose e TG pós-prandiais aumentam concentrações plasmáticas de algumas citocinas pró-inflamatórias, tais como IL-6, IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , podendo causar um estado metabólico e hormonal deletério (BLAAK *et al.*, 2012; SHIHABUDEEN *et al.*, 2011). A hipertrigliceridemia e a HGPP crônicas causam aumento do estresse oxidativo, juntamente com a ativação das vias de sinalização sensíveis ao estresse, vias de produtos finais de glicosilação avançada (AGE), PKC e sorbitol. A ativação dessas vias, por sua vez, piora a ação e a secreção de insulina, desempenhando um papel fundamental nas complicações tardias do DMT2 (EVANS, 2007; EVANS *et al.*, 2002; TUSHUIZEN *et al.*, 2005). A

supressão da liberação de TG da dieta é uma abordagem terapêutica, capaz de retardar a progressão do DMT2 e suas comorbidades (TUSHUIZEN *et al.*, 2007; YANG *et al.*, 2014a). Estudos clínicos demonstraram que o tratamento de indivíduos obesos e diabéticos com orlistate, um inibidor seletivo de lipase pancreática, resulta na melhora do controle da glicemia e na perda de massa corporal (ALDEKHAIL *et al.*, 2015). Por este motivo, a associação de inibidores de lipase pancreática com fármacos hipoglicemiantes tem sido recomendada como uma estratégia para melhorar o controle da glicemia e lipidemia em indivíduos obesos com DMT2 (CHUKIR *et al.*, 2018). Portanto, a busca de novos fármacos que reduzam simultaneamente a glicemia e lipidemia pode se tornar uma ferramenta importante no arsenal terapêutico para o tratamento de indivíduos com DMT2.

O EB e as frações FHM e FAE de *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* foram avaliadas *in vitro* sobre a atividade da lipase pancreática. EB, FAE e FHM de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* inibiram de maneira concentração-dependente a atividade enzimática da lipase pancreática (**Figura 15 E e F**). Não houve diferença significativa na potência da atividade inibitória, representada por valores de  $pIC_{50}$ , das frações FAE e FHM com relação ao EB, tanto para *T. phaeocarpa* quanto para *T. glabrescens* (**Tabela 2**).

A ação inibitória sobre a lipase pancreática de espécies asiáticas de *Terminalia* também já foram descritas na literatura. *T. arjuna*, *T. catappa*, *T. bellirica* e *T. chebula* apresentam atividade inibitória *in vitro* em concentrações semelhantes às observadas com *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* (ALISHA *et al.*, 2018; GOWADIA; VASUDEVAN, 2000; IRONDI *et al.*, 2018; MAKIHARA *et al.*, 2012). Destas plantas, somente *T. bellirica* teve um componente, ácido gálico, sugerido como responsável pelo efeito inibitório sobre a lipase pancreática (MAKIHARA *et al.*, 2012). Dos compostos identificados em *T. phaeocarpa*, descritos acima, somente rutina, quercetina e ácido ursólico foram identificados como inibidores de lipase pancreática (KIM *et al.*, 2009; LI *et al.*, 2011). Estes resultados, em associação com resultados obtidos sobre a atividade da  $\alpha$ -glucosidase e da  $\alpha$ -amilase, sugerem que os extratos e frações de *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* apresentam atividades compatíveis com um potencial efeito antidiabético em modelos de DMT2.





**Figura 15:** Efeito inibitório in vitro de *Terminalias* sobre as enzimas  $\alpha$ -glicosidase,  $\alpha$ -amilase e lipase. Curvas concentração-resposta para o efeito inibitório sobre as enzimas  $\alpha$ -glicosidase (A, B),  $\alpha$ -amilase (C, D) e lipase (E, F) dos extratos etanólico bruto (EB), das frações acetato de etila (FAE) e hidrometanólica (FHM) obtidas das folhas de *Terminalia phaeocarpa* (A, C, E) e *Terminalia glabrescens* (B, D, F). Análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  para FAE e \*\*\*  $P < 0,001$  versus EB. Os resultados estão representados como média  $\pm$  erro padrão da média de 5 experimentos.

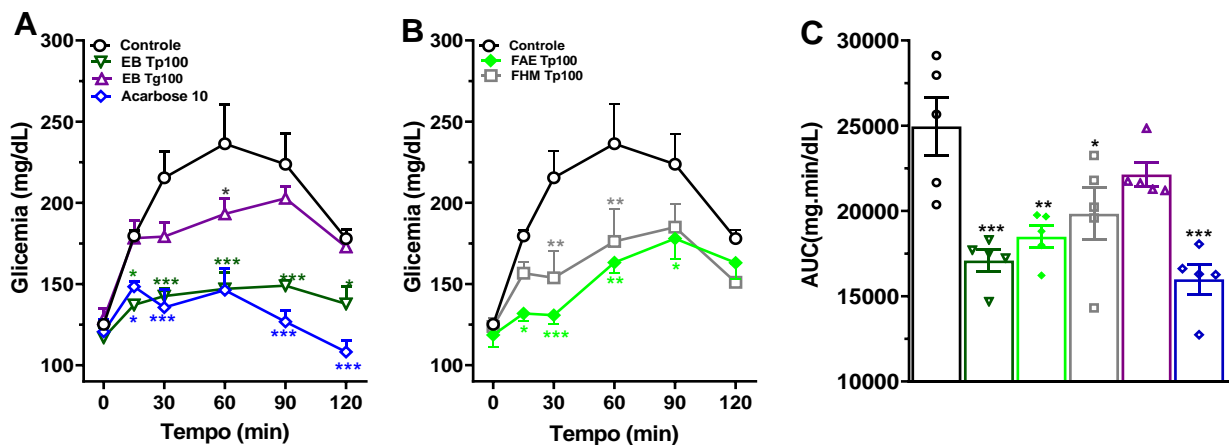
**Tabela 2: Valores de pIC<sub>50</sub> para o efeito inibitório de *Terminalia phaeocarpa* e *Terminalia glabrescens* sobre as atividades das enzimas  $\alpha$ -glicosidase,  $\alpha$ -amilase e lipase.**

	<i>Terminalia phaeocarpa</i>			<i>Terminalia glabrescens</i>		
	EB	FAE	FHM	EB	FAE	FHM
<b><math>\alpha</math>-glicosidase</b>	5,46±0,03 <sup>a,b</sup>	5,76±0,05 <sup>*b</sup>	5,73±0,03 <sup>*a,b</sup>	5,67±0,08 <sup>a,b</sup>	5,34±0,15 <sup>a</sup>	5,71±0,14 <sup>b</sup>
<b><math>\alpha</math>-amilase</b>	4,46±0,27	5,47±0,28 <sup>*</sup>	4,25±0,22	4,88±0,11	3,92±0,17 <sup>***</sup>	5,35±0,08 <sup>*</sup>
<b>lipase</b>	3,97±0,12	3,87±0,04	3,67±0,14	4,88±0,24	4,83±0,38	4,56±0,22

Os valores de pCI<sub>50</sub> são expressos como -log da concentração inibitória de 50 % da resposta (CI<sub>50</sub>). CI<sub>50</sub> foi calculada usando curva de regressão não linear. Análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de p < 0,05 foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média de 5 (para atividade das  $\alpha$ -glicosidase e  $\alpha$ -amilase) ou 4 (para atividade da lipase) experimentos. \* P < 0,05, \*\* P < 0,01 versus EB. <sup>a</sup> P < 0,05 versus  $\alpha$ -amilase. <sup>b</sup> P < 0,05 versus lipase.

#### **4.1.2 Efeitos dos extratos das *Terminalias* sobre o teste de tolerância ao amido (TTA) e à sacarose (TTS) em camundongos euglicêmicos.**

Os efeitos inibidores *in vitro* de enzimas nem sempre são reproduzíveis *in vivo*. Para confirmar a relevância *in vivo* dos achados *in vitro*, investigamos o efeito das *Terminalias* nos modelos de HGPP em camundongos euglicêmicos, realizando protocolos de TTA e TTS. Os resultados obtidos no TTA mostram que na dose de 100 mg/kg, o EB de *T. phaeocarpa* e as frações FAE e FHM são capazes de reduzir significativamente o aumento de glicemia induzida pela administração de amido por via oral (**Figura 16**). Vale a pena notar que a redução da glicemia induzida pelo EB de *T. phaeocarpa* foi semelhante ao observado com a acarbose, controle positivo (**Figura 16A**). Embora o tratamento com EB de *T. glabrescens* não demonstrou diminuição significativa da curva glicêmica geral (**Figura 16A**), notadamente, quando avaliada a relação de área sob a curva para a glicemia (**Figura 16C**), uma redução substancial da glicemia foi observada aos 60 minutos (**Figura 16A**). A discrepância entre os resultados *in vivo* e *in vitro* de *T. glabrescens* podem sugerir que os componentes desta planta não apresentam biodisponibilidade suficiente para reduzir de forma significativa a hiperplícemia aguda, induzida pelo amido.

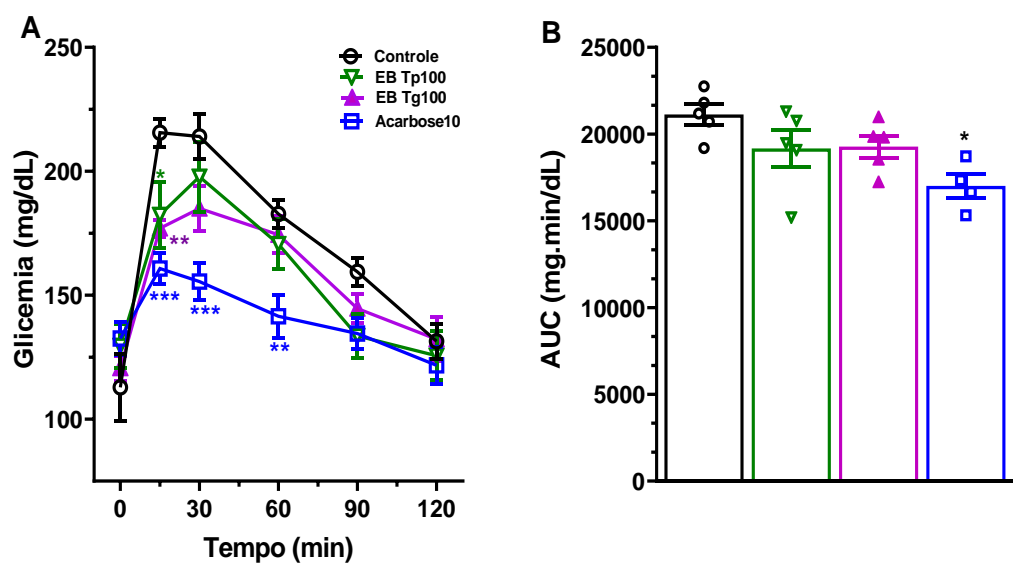


**Figura 16: Atividade de *Terminalias* no teste oral de tolerância ao amido (TTA) camundongos euglicêmicos.** (A) Glicemia durante TTA na presença do extrato etanólico bruto (EB) de *T. glabrescens* (Tg), *Terminalia phaeocarpa* (Tp) e acarbose. (B) TTA na presença da fração acetato de etila (FAE) e fração hidrometólica (FHM) de *T. phaeocarpa*. (C) área sob a curva (AUC) da glicemia durante TTA na presença dos extratos e frações. Todos os extratos e frações foram administrados na dose de 100 mg/kg pela via oral. Análise de variância (ANOVA) de duas vias ou uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  em relação ao controle.

Após ingestão, os polissacarídeos (por exemplo, amido) são degradados em oligossacarídeos (por exemplo, sacarose, maltose e lactose) pelas enzimas digestivas contidas na saliva, juntamente com a  $\alpha$ -amilase pancreática. Em seguida, esses oligossacarídeos são hidrolizados em monossacarídeos absorvíveis (glicose, frutose e galactose) pelas glicosidases (por exemplo sacarase, maltase, lactase) localizada na membrana dos enterócitos (YUSOFF *et al.*, 2015). Uma vez que a glicose esteja disponível, os enterócitos medeiam a expressão de um co-transportador de Na / glicose, SGLT1 (transportador de sódio / glicose 1) e a glicose é transportada ativamente para as células epiteliais. Para alcançar a circulação sanguínea, ela é liberada a partir dessas células epiteliais por um transportador de glicose, GLUT2 (transportador de glicose 2), localizado na membrana basolateral (HANHINEVA *et al.*, 2010). Existem dois mecanismos concebíveis para a supressão do aumento do nível de glicose no sangue após a carga de amido. O primeiro é suprimir ou retardar a absorção de glicose no intestino, e o segundo é acelerar o metabolismo de glicose uma vez no sangue (INA *et al.*, 2016). Pelos resultados obtidos durante o TTA com *T. phaeocarpa*, esses dois mecanismos

são possíveis. A supressão ou redução da taxa de absorção de glicose no intestino pode ser alcançada através da inibição da atividade de enzimas digestivas de carboidratos, como  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidases (maltase, sacarase). Sabe-se que o amido é hidrolisado pela  $\alpha$ -amilase para maltose, e por sua vez a maltose é hidrolizada pela maltase em glicose. Assim, a supressão do aumento da glicemia após a carga de amido observada neste estudo seria associada à inibição da atividade de  $\alpha$ -amilase e / ou maltase. Para saber com mais precisão qual das duas enzimas ( $\alpha$ -amilase ou maltase) seria principalmente inibida, e também para ter uma ideia sobre outro possível mecanismo (modulação de metabolismo da glicose uma vez no sangue) envolvido nessa redução dos níveis de glicose no sangue, o ideal seria realizar um teste de tolerância à maltose e / ou glicose.

Os resultados ilustrados na **Figura 17** mostraram que, quando o amido foi substituído por sacarose no teste de tolerância aguda, ambas *Terminalias* não demonstraram diminuição significativa da excursão glicêmica geral (**Figura 17A**), notadamente, quando avaliada a relação de área sob a curva para a glicemia (**Figura 17B**). No entanto, foram capazes de reduzir significativamente a HGPP apenas 15 minutos após a carga oral de sacarose (**Figura 17A**).



**Figura 17: Atividade de *Terminalias* no teste oral de tolerância à sacarose (TTS) em camundongos euglicêmicos.** (A) Glicemia durante TTS na presença do extrato etanólico bruto (EB) de *T. glabrescens* (Tg), *Terminalia phaeocarpa* (Tp) e acarbose. (B) área sob a curva (AUC) da glicemia durante TTS na presença dos extratos. Todos os extratos foram administrados na dose de 100 mg/kg pela via oral. Análise de variância (ANOVA) de duas vias ou uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  em relação ao controle.

Nos grupos tratados com *T. phaeocarpa*, a tolerância à glicose foi melhorada após administração de amido, apesar da falta de efeito anti-hiperglicêmico pós-prandial apreciável em camundongos após uma carga com sacarose. Juntos estes resultados sugerem que a redução dos picos de glicemia por *T. phaeocarpa* seria mais associada a um efeito extrapancreático de liberação intestinal de glicose, em vez do efeito insulínico pancreático. Resultados semelhantes foram indicados em outros trabalhos com outras espécies vegetais (KASABRI *et al.*, 2011). Resultados dos TTA e TTS, juntos com os resultados obtidos *in vitro* sugerem que *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* realmente teriam efeito inibitório sobre as atividades de  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glucosidases.

Os resultados do TTS, sugerem que *T. phaeocarpa* apresentaria efeito inibitório menor sobre a sacarase. Resultados dos TTA e TTS, juntos sugerem também que *T. phaeocarpa* inibiria *in vivo* a atividade da  $\alpha$ -amilase e / ou da maltase. A hipótese de que *T. phaeocarpa* teria um efeito inibitório sobre a atividade da maltase pode ser sustentada aqui pela presença

nos EB e frações do ácido chebulágico, conhecido por ter um efeito inibitório sobre esta enzima. De fato, Gao e colaboradores mostram que taninos com o ácido chebulágico, isolados de frutas de *Terminalia chebula*, inibem a atividade enzimática da maltase intestinal de mamíferos (GAO *et al.*, 2007). Além disso, trabalhos mostram que rutina e quercetina isolados de plantas (RIYAPHAN *et al.*, 2017), quercetina e kampfferol presentes nos extratos de *Morus nigra* (SILVA *et al.*, 2020), melhoram a hiperglicemia aguda induzida em camundongos por amido, inibindo a atividade das enzimas  $\alpha$ -amilase e  $\alpha$ -glicosidase. Assim neste estudo, podemos associar a melhora da HGPP induzida pelo amido, à presença de compostos como rutina, quercetina, kaempferol e ácido chebulágico identificados no EB, FHM e FAE das folhas de *T. phaeocarpa* (GOMES, 2020).

Baseado nos resultados citados acima, concluímos que *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* apresentam efeitos compatíveis com uma atividade antidiabética. Por este motivo, a sequencia lógica do trabalho foi testar estes extratos e frações em um modelo murino de diabetes.

## 4.2 Avaliação do tratamento subcrônico com extratos e frações de *Terminalia phaeocarpa* e *Terminalia glabrescens* em um modelo murino de DMT2

Uma vez demonstrado que os extratos e frações de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* apresentaram atividades *in vitro* e *in vivo* compatíveis com uma potencial atividade antidiabética, o próximo passo do projeto foi investigar se um tratamento subcrônico (28 dias) com estas *Terminalias* reduziria as disfunções metabólicas observadas em um modelo murino de DMT2 não-obeso.

DMT2 é um distúrbio heterogêneo, com causas genéticas e ambientais, caracterizado por um declínio progressivo da ação da insulina (resistência à insulina - RI), seguido pela incapacidade das células- $\beta$  do pâncreas de compensar a RI (disfunção das células  $\beta$ ) (SRINIVASAN *et al.*, 2005). Portanto, o uso de modelo animal apropriado de DMT2 é altamente importante para a avaliação de candidatos a fármacos antidiabéticos.

O modelo nicotinamida-estreptozotocina (NA/STZ) é um dos modelos amplamente utilizados para DMT2 não-genético e não-obeso. Este modelo caracteriza-se pela redução dos estoques pancreáticos de insulina e por ser capaz de liberar insulina em resposta ao aumento de glicose plasmática e na presença de fármacos secretagogos (ISLAM, 2011; MASIELLO *et al.*, 1998). No entanto, esse modelo geralmente não imita toda a patogênese clínica do DMT2 humano. As principais desvantagens desses modelos de DMT2 incluem a grande semelhança com a patogênese do diabetes mellitus tipo 1 (DMT1) (ISLAM e WILSON, 2012). Além disso, apesar de ser amplamente utilizado no desenvolvimento de diabetes, a STZ é incapaz de induzir diretamente a RI, mas resulta em hiperglicemia causada por dano direto das células  $\beta$  do pâncreas (SRINIVASAN *et al.*, 2005). Portanto, uma maneira de resolver esta limitação, seria a adição no protocolo de um método capaz de induzir RI. A utilização de frutose em solução para a indução de RI em animais tem sido consistentemente relatada (CHUKWUMA *et al.*, 2018; HININGER-FAVIER *et al.*, 2009; KUNASEGARAN *et al.*, 2017; OYEDEMI *et al.*, 2020). Há relatos de que um aumento substancial no consumo de frutose estimule rapidamente a lipogênese e o acúmulo de triglicerídeos em vários tecidos, levando a uma sensibilidade reduzida à insulina (DEKKER *et al.*, 2010; KOLDERUP e SVIHUS, 2015; SAMUEL, 2010; TER HORST e SERLIE, 2017). Vários modelos animais para o estudo do DMT2 são, de fato, baseados nessas observações. A frutose fornecida *ad libitum* em água potável ou em dietas com concentrações de 10 a 15%, por um período curto ou mais longo, induz RI ou DMT2, respectivamente, em animais experimentais (CHUKWUMA *et al.*, 2018;

DAI *et al.*, 1994). O modelo de DMT2 escolhido para este estudo associa a RI induzida pela frutose e a redução na produção e liberação de insulina induzidas pela associação entre NA/STZ (ROSSINI *et al.*, 1977; MASIELLO *et al.*, 1998; ISLAM e WILSON, 2012). Este modelo se aproximaria, portanto, de um quadro típico de DMT2 em humanos.

#### **4.2.1 Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalias* na massa corporal de camundongos DMT2.**

Os resultados apresentados na **Tabela 3** demonstram que os valores de massa corporal dos camundongos diabéticos antes do tratamento com EB e FAE de *T. phaeocarpa*, com exceção de FAE (100 mg/kg) e metformina, não foram significativamente diferentes dos valores dos camundongos euglicêmicos. No entanto, os valores de massa corporal dos camundongos diabéticos antes do tratamento com EB e FHM de *T. glabrescens* (100 mg/kg), foram significativamente diferentes dos valores dos camundongos euglicêmicos. Vale a pena lembrar que estes valores de massa corporal foram obtidos quatro semanas após a administração de nicotinamida e estreptozotocina. Portanto, a ausência de queda na massa corporal, típica de modelos de diabetes induzidos por estreptozotocina, pode estar associada à proteção das células beta-pancreáticas promovida pela nicotinamida e pela ação da frutose previamente administrada aos camundongos.

Após o período de tratamento com as *Terminalias* ou com a metformina, o valor de massa corporal dos camundongos euglicêmicos foi significativamente maior do que todos os grupos de camundongos diabéticos, com exceção do grupo tratado com FAE (30 mg/kg). O tratamento com EB e FHM de *T. glabrescens* (100 mg/kg), ou com as diferentes doses de EB e FAE de *T. phaeocarpa*, com exceção de FAE (100 mg/kg), não alteraram significativamente os valores absolutos de massa corporal nos camundongos diabéticos, quando comparado com os valores antes do tratamento (**Tabela 3**).



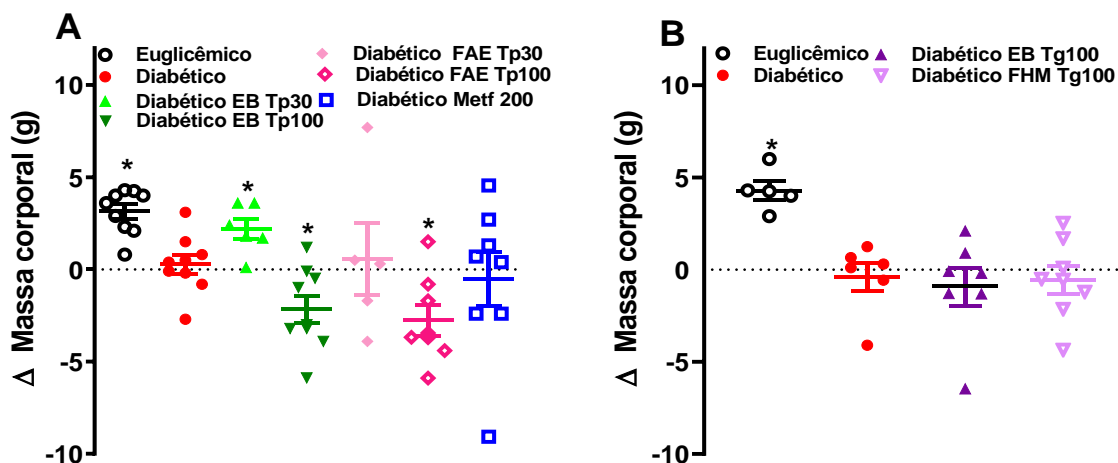
**Tabela 3: Tabela 3: Parâmetros corporais dos camundongos diabéticos tratados com as *Terminalias*.** Parâmetros corporais obtidos antes e depois do tratamento com duas doses (30 e 100 mg/kg) do extrato etanólico bruto (EB) e da fração acetato de etila (FAE) das folhas de *Terminalia phaeocarpa*, uma dose (100 mg/kg) do EB e da fração hidrometanólica (FHM) de *Terminalia glabrescens*, e metformina (200 mg/kg) em camundongos diabéticos.

		Euglicêmico		Diabético				
		Controle	EB	EB	FAE	FAE	Metformina	
			30	100	30	100	200	
		<i>Terminalia phaeocarpa</i>						
Massa Corporal	Antes	38,1±1,3	34,4±1,4	31,6±1,2	34,4±1,2	34,2±0,8	30,7±1,5 <sup>a</sup>	30,1±1,3 <sup>a</sup>
	Depois	41,2±1,1	34,6±1,6 <sup>a</sup>	33,8±1,6 <sup>a</sup>	32,3±1,2 <sup>a</sup>	34,8±1,6	28,0±1,2 <sup>ab</sup>	29,5±1,5 <sup>a</sup>
		<i>Terminalia glabrescens</i>						
		Controle	EB		FHM			
			100		100			
(g)	Antes	34,9±1,31	27,6±1,54 <sup>aaa</sup>		30,7±0,91 <sup>a</sup>			28,4±0,57 <sup>aaa</sup>
	Depois	39,2±1,42	27,2±1,13 <sup>aaa</sup>		29,7±0,76 <sup>aaa</sup>			27,9±0,75 <sup>aaa</sup>

Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores são expressos em média  $\pm$  EPM de pelo menos 5 animais. <sup>a</sup>  $P < 0,05$  e <sup>aaa</sup>  $P < 0,001$  versus os valores de camundongos euglicêmicos. <sup>b</sup>  $P < 0,05$  versus os valores do controle diabético. Estas análises estatísticas foram realizadas para comparar os dados obtidos durante a mesma fase do tratamento.

No entanto, quando avaliamos a variação ( $\Delta$ ) intragrupo da massa corporal dos camundongos tratados com *T. phaeocarpa* (**Figura 18A**), observamos uma variação positiva com a dose mais baixa de EB *T. phaeocarpa* e duas variações negativas relacionadas às doses mais altas de EB e FAE. Enquanto isso, quando avaliamos a variação ( $\Delta$ ) intragrupo da massa corporal dos camundongos tratados com *T. glabrescens*, não observamos diferença (**Figura 18B**). Esta análise não teve como objetivo a comparação entre diabéticos tratados e não tratados. O objetivo foi avaliar a alteração que um determinado tratamento pode provocar nos respectivos grupos. O significado deste tipo de efeito não é simples de ser explicado. A variação negativa na massa corporal pode ser atribuída a efeitos tóxicos ou a redução no aumento de colesterol e triglicerídeos observado neste modelo de DMT2. Estudos realizados

por GOMES (2020) demonstraram que o EB e FAE não apresentam efeitos tóxicos em monócitos (células THP-1) em cultura. Por este motivo, a hipótese que defendemos é que o efeito de *T. phaeocarpa* estaria associado à redução no teor de gordura corporal.



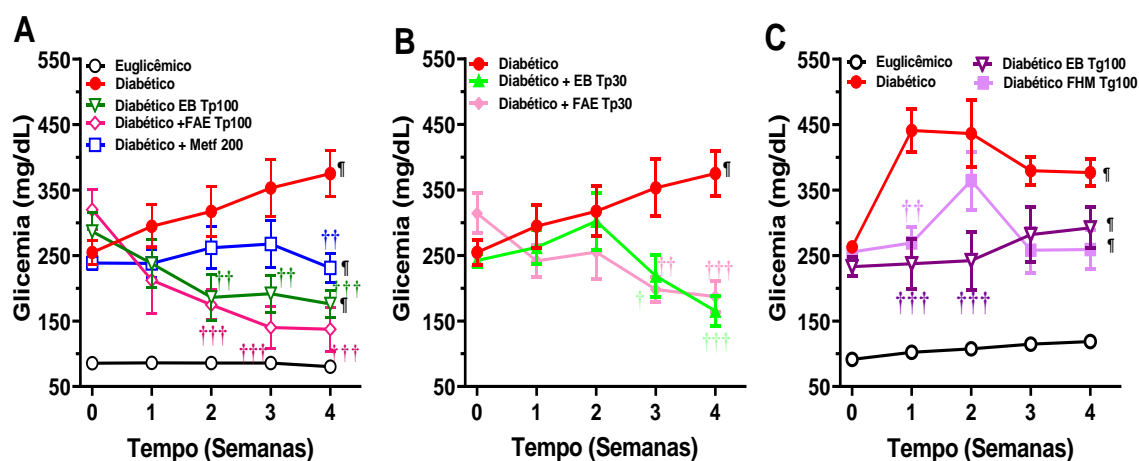
**Figura 18: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalias* na variação de massa corporal em camundongos diabéticos.** (A), efeito do extrato etanólico bruto (EB) e da fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa* (nas doses de 30 e 100 mg/kg), e da metformina (Metf, na dose de 200 mg/kg); (B), efeito do extrato etanólico bruto (EB) e da fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens*. Os extratos, as frações e a metformina foram administradas por via oral. A análise estatística de coluna, seguida do teste t (One sample t test), foram utilizados para avaliar a variação intragrupo. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores estão representados como média  $\pm$  EPM da diferença ( $\Delta$ ) de massa corporal antes e após o tratamento, observada em pelo menos cinco camundongos. \*  $P < 0,05$  versus zero, valor que representa a ausência de alteração de massa corporal.

Este modelo de DMT2 é caracterizado, particularmente, por RI e disfunção parcial das células  $\beta$ -pancreáticas, que levam em um tempo curto à hiperglicemia, hiperlipidemia, polidipsia e perda de peso, às vezes acompanhada de polifagia (WILSON e ISLAM, 2012). O diagnóstico de DMT2 e da sensibilidade à insulina reduzida pode ser estabelecido baseando nos níveis altos de : glicemia em jejum, glicemia após 2 horas de carga oral de glicose ( $\geq 200$  mg/dL), hemoglobina glicada ( $HbA1 \geq 6,5$  %), insulina, TG e ALT (BENADO *et al.*, 2004; CHO *et al.*, 2007; DEFRONZO *et al.*, 2015; HARRIS, 2005). Além disso, evidências

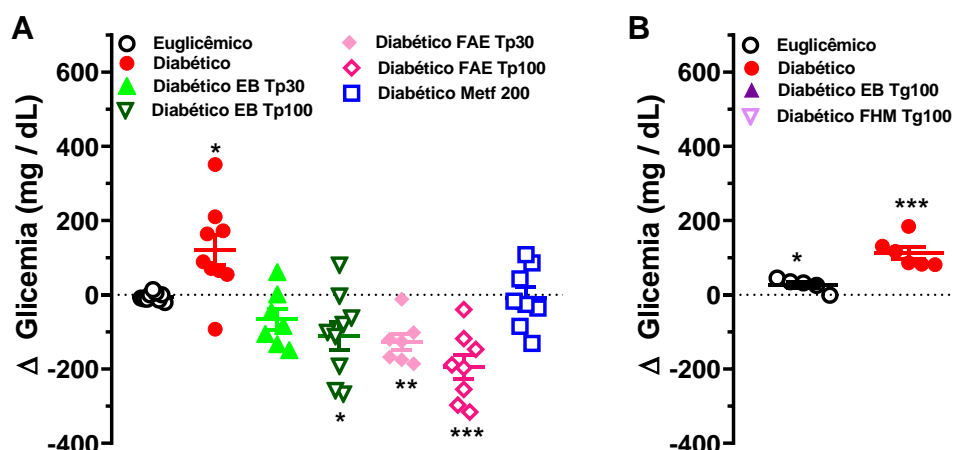
clínicas sugerem que a hiperuricemia está fortemente associada ao metabolismo anormal da glicose e à RI (ABREU *et al.*, 2011; JIAO *et al.*, 2013; KRISHNAN *et al.*, 2012). Assim, níveis séricos aumentados de TG, ALT, ácido úrico e de glicose em jejum, assim que altos níveis de MDA, observados em camundongos diabéticos, poderiam estar associados ao desenvolvimento da RI e do DMT2 em modelo experimental utilizado neste estudo. Esses resultados também são semelhantes às observações de trabalhos anteriores baseados nesses marcadores metabólicos para o DMT2 e a RI (HININGER-FAVIER *et al.*, 2009; OYEDEMI *et al.*, 2020; WILSON e ISLAM, 2012).

#### **4.2.2 Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalias* sobre a glicemia semanal de camundongos diabéticos**

Quando observamos o efeito do tratamento subcrônico com as *Terminalias* na glicemia semanal, percebemos que (nas doses testadas), o EB e a FAE de *T. phaeocarpa* são capazes de reduzir significativamente a glicemia nos camundongos DMT2 (**Figura 19 A e B**). No entanto, quando avaliamos a variação ( $\Delta$ ) intragrupo da glicemia semanal dos camundongos tratados com *T. phaeocarpa*, percebemos que tratamento de camundongos diabéticos com EB (30 mg/kg) não alterou significativamente a glicemia dos camundongos (**Figura 20A**). Vale a pena destacar que após 3 semanas de tratamento com a FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) a glicemia em camundongos DMT2 alcançou o mesmo nível dos camundongos euglicêmicos (**Figura 19A**). O perfil de decaimento da glicemia plasmática nos animais tratados com o EB de *T. phaeocarpa* sugere que o tratamento crônico dos camundongos DMT2 induziria um nível de glicemia similar ao observado nos animais euglicêmicos. Enquanto isso, o fármaco padrão metformina só induziu uma redução significativa após 4 semanas de tratamento (**Figura 19A**). Na **Figura 19C** podemos perceber que o tratamento com EB de *T. glabrescens* reduziu significativamente a glicemia em camundongos DMT2 nas duas primeiras semanas de tratamento, mas este efeito não persistiu até a quarta semana. O tratamento com FHM de *T. glabrescens* não reduziu de forma persistente a glicemia de camundongos DMT2 (**Figura 19C**). Além disso, o tratamento com *T. glabrescens* não alterou significativamente o nível de glicemia quando comparado àquele antes do tratamento (**Figura 20B**).



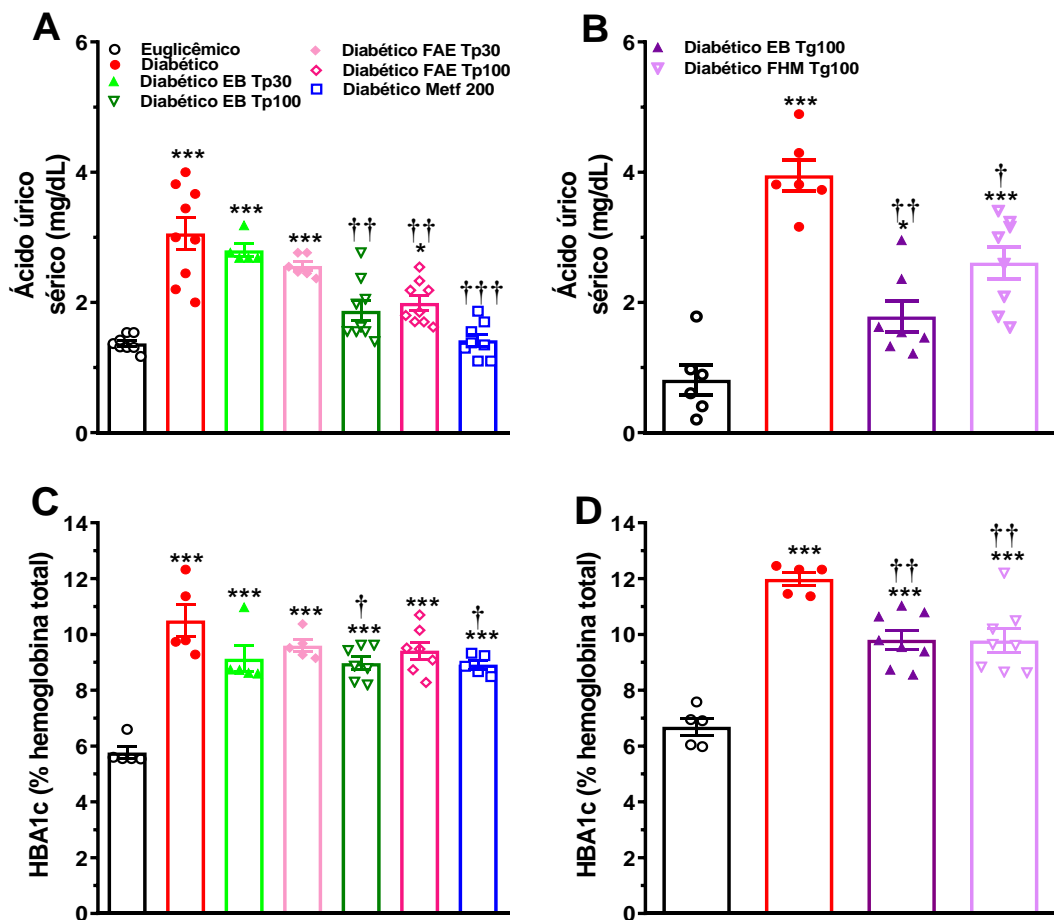
**Figura 19: Efeito do tratamento subcrônico com as *Terminalias* sobre a glicemia semanal em camundongos diabéticos.** (A) Efeito de extrato etanólico bruto (EB), fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, na dose 100 mg/kg, e da metformina (Metf, 200 mg/Kg); (B) Efeito de EB e FAE de *T. phaeocarpa*, na dose 30 mg/kg; (C) Efeito de EB e fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens*, na dose de 100 mg/kg. Análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média obtidos de 8 animais. ¶ representa que todos os pontos das curvas dos camundongos diabéticos não-tratados ou tratados são significativamente diferentes ( $P < 0.01$ ) em relação às curvas dos camundongos euglicêmicos. \*\*\*  $P < 0,001$  entre o camundongo diabético tratado com FAE e o camundongo euglicêmico. †  $P < 0,05$ , ††  $P < 0,01$  e †††  $P < 0,001$  em relação aos diabéticos não-tratados.



**Figura 20: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalias* na variação da glicemia em camundongos diabéticos.** (A), efeito do extrato etanólico bruto (EB) e da fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa* (nas doses de 30 e 100 mg/kg), ou da metformina (Metf) na dose de 200 mg/kg; (B), efeito do extrato etanólico bruto (EB) e da fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens*. Os extratos, as frações e a metformina foram administradas por via oral. A análise estatística de coluna, seguida do teste t (One sample t test), foram utilizados para avaliar a variação intragrupo. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores estão representados como média  $\pm$  EPM da diferença ( $\Delta$ ) de massa corporal antes e após o tratamento, observada em pelo menos cinco camundongos. \*  $P < 0,05$  \*\*,  $P < 0,01$  e \*\*\* $P < 0,001$  versus zero, valor que representa a ausência de alteração de massa corporal.

#### 4.2.3 Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalias* nos níveis séricos de ácido úrico, triglicerídeos, colesterol total e na porcentagem da hemoglobina glicada (HbA1c) em camundongos diabéticos.

Os camundongos com DMT2 apresentaram níveis significativamente altos de ácido úrico sérico e HbA1c em comparação aos camundongos euglicêmicos (**Figura 21 A-D**). O tratamento subcrônico com EB e FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg), EB e FHM *T. glabrescens* (100 mg/kg), ou com a metformina, reduziu de forma significativa níveis séricos de ácido úrico (**Figura 21 A e B**). O tratamento subcrônico com EB e FHM de *T. glabrescens* (100 mg/kg), ou com a metformina (200 mg/kg), reduziu de forma significativa os níveis HbA1c (**Figura 21 C e D**). Enquanto isso, somente o tratamento subcrônico com EB (100 mg/kg) de *T. phaeocarpa* reduziu significativamente os níveis de HbA1c, como ilustrado na **Figura 21C**.

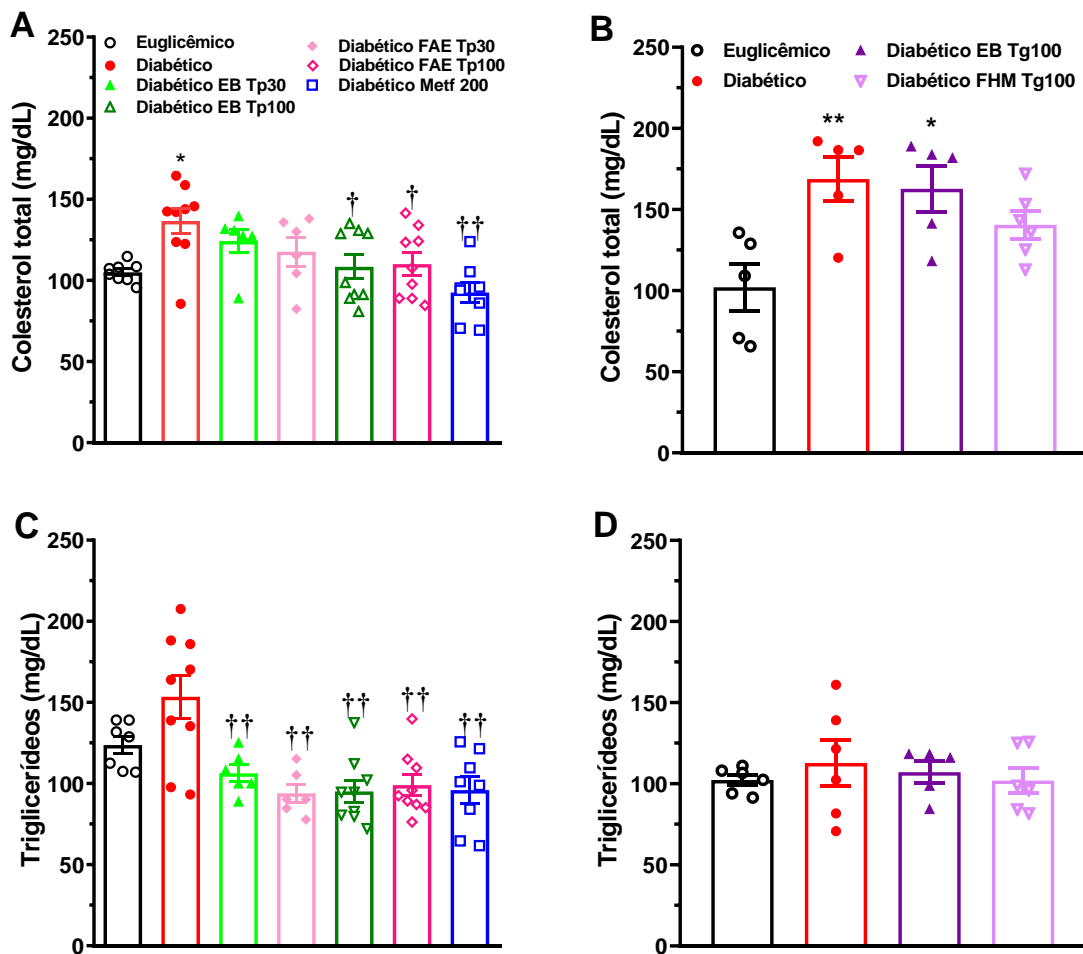


**Figura 21: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalias* nos níveis séricos de ácido úrico e hemoglobina glicada (HbA1c) em camundongos diabéticos.** Efeito de extrato etanólico bruto (EB), fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 e 100 mg/kg e metformina (Metf), na dose de 200 mg/kg, nos níveis séricos de ácido úrico (A) e HbA1c (C); Efeito de EB e fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens*, na dose de 100 mg/kg nos níveis séricos de ácido úrico (B) e HbA1c (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de 8 animais. \*  $P < 0,05$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos. †  $P < 0,05$  e ††  $P < 0,01$  versus camundongos diabéticos.

A HbA1c é um importante marcador clínico do diabetes que ajuda a determinar o grau de glicação protéica (DEGUCHI e MIYAZAKI, 2010). A sua quantidade é diretamente proporcional ao nível de glicose no sangue em jejum. O aumento da HbA1c e a diminuição

dos níveis de Hb foram considerados fatores importantes para o prognóstico de complicações do diabetes (DAISY e RAJATHI, 2009; SUNDARAM *et al.*, 2012). A redução nos níveis de Hb1Ac por fármacos hipoglicemiantes tem sido correlacionada com a redução na mortalidade por todas as causas (HOLMAN *et al.*, 2014). A redução significativa nos níveis de HbA1c em camundongos tratados com EB de *T. phaeocarpa* e *T. glabrescens* é compatível com o efeito hipoglicemiante destes extratos e reforça seu potencial como fármaco antidiabético. A ausência de redução significativa nos camundongos DMT2 tratados com FAE de *T. phaeocarpa* não diminui o potencial antidiabético desta fração, uma vez que a redução da glicemia no DMT2, independente dos níveis de HbA1c, também está associada a menor incidência de doenças microvasculares e infarto do miocárdio (HOLMAN *et al.*, 2008; LIPSKA e KRUMHOLZ, 2017).

Para avaliar o efeito do tratamento subcrônico com as *Terminalias* no perfil lipídico em camundongos diabéticos, os níveis séricos de CT e TG foram medidos. Os camundongos com DMT2 apresentaram níveis significativamente altos de CT (**Figura 22A e B**), em comparação com os camundongos euglicêmicos. O tratamento subcrônico com EB e FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg), ou com a metformina, reduziu de forma significativa níveis séricos de CT (**Figura 22A**); enquanto que o tratamento subcrônico com EB e FHM *T. glabrescens* (100 mg/kg) não reduziu de forma significativa níveis séricos de CT (**Figura 22B**). Não houve aumento significativo no nível sérico de TG em camundongos DMT2 não tratados, em comparação aos camundongos euglicêmicos (**Figura 22C**). No entanto, camundongos DMT2 tratados com EB e FAE de *T. phaeocarpa*, ou com a metformina, nas doses testadas, apresentaram níveis significativamente reduzidos de TG em comparação com os camundongos DMT2 não tratados (**Figura 22C**). Não houve diferença significativo no nível sérico de TG entre os camundongos euglicêmicos e os camundongos DMT2 não tratados ou tratados com EB e FHM *T. glabrescens* (100 mg/kg) (**Figura 22D**).



**Figura 22: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalias* nos níveis séricos de lipídios em camundongos diabéticos.** Efeito de extrato etanólico bruto (EB), fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 e 100 mg/kg, e da metformina (Metf), na dose de 200mg/Kg, nos níveis séricos de colesterol total (A) e triglicerídeos (C). Efeito de EB e fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens*, na dose de 100 mg/kg nos níveis séricos de colesterol total (B) e triglicerídeos (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de 8 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos. †  $P < 0,05$ , ††  $P < 0,01$  e †††  $P < 0,001$  versus camundongos diabéticos.

No presente estudo, camundongos diabéticos apresentaram níveis séricos altos de ácido úrico e a alteração do perfil lipídico, destacada pelos níveis altos de CT em comparação com os camundongos euglicêmicos. A hiperuricemia resulta da superprodução de ácido úrico pelo fígado, bem como da excreção reduzida de ácido úrico nos rins (ISHIKAWA e



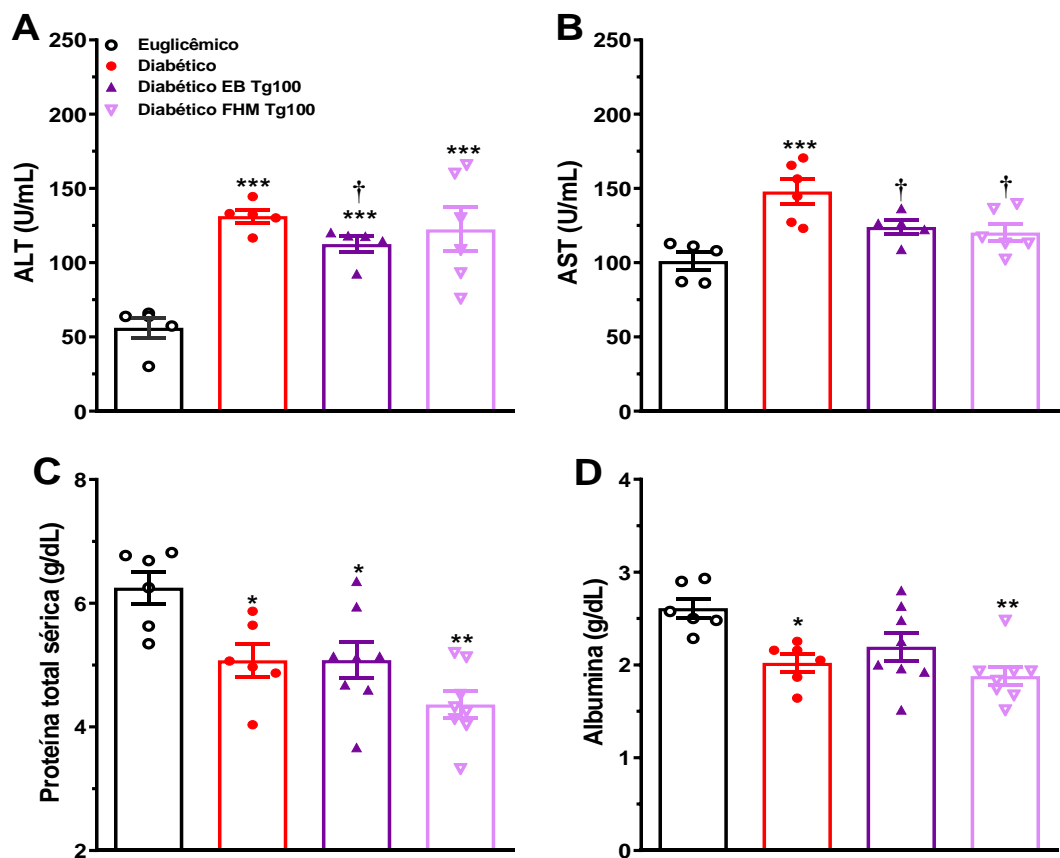
KANEKO, 2013). Em indivíduos com DMT2, níveis elevados de ácido úrico é considerado um fator de risco para DCV, doença renal crônica e mortalidade em geral (SHAO *et al.*, 2019; WANG *et al.*, 2016; ZHAO *et al.*, 2013; ZOPPINI *et al.*, 2012). Com relação a lipidemia, a RI tem um papel central na patogênese da dislipidemia diabética. Esta dislipidemia causa aumento da liberação de ácidos graxos livres das células adiposas resistentes à insulina e promove mais produção de TG. A presença de hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e redução do colesterol-HDL são as anormalidades lipídicas mais comuns relatadas em condições diabéticas (LEE *et al.*, 2017; UTTRA *et al.*, 2011). A dislipidemia é um fator de risco isolado para o desenvolvimento de DCV e mortalidade em geral. Quando associada ao DMT2 o risco de mortalidade aumenta em 3 vezes (LEE *et al.*, 2017). Em vista de todas essas informações, entendemos a importância de controlar esses parâmetros em indivíduos diabéticos.

Os resultados deste estudo demonstram que, o tratamento subcrônico com *T. phaeocarpa* foi capaz de reverter a hiperglicemia, hiperuricemia e a dislipidemia. Esta melhora do perfil lipídico pode ser associada a inibição da lipase pancreática, estabilização adequada do nível de glicose plasmática, devido a inibição das enzimas intestinais já testadas, e também a um provável aumento no nível de insulina e/ou a melhora da sensibilidade à insulina após a administração de *T. phaeocarpa*. Portanto, esses efeitos hipolipidêmico, hipoglicêmico e hipouricêmico da *T. phaeocarpa* em camundongos diabéticos sugerem sua capacidade de prevenir DCV associadas ao diabetes.

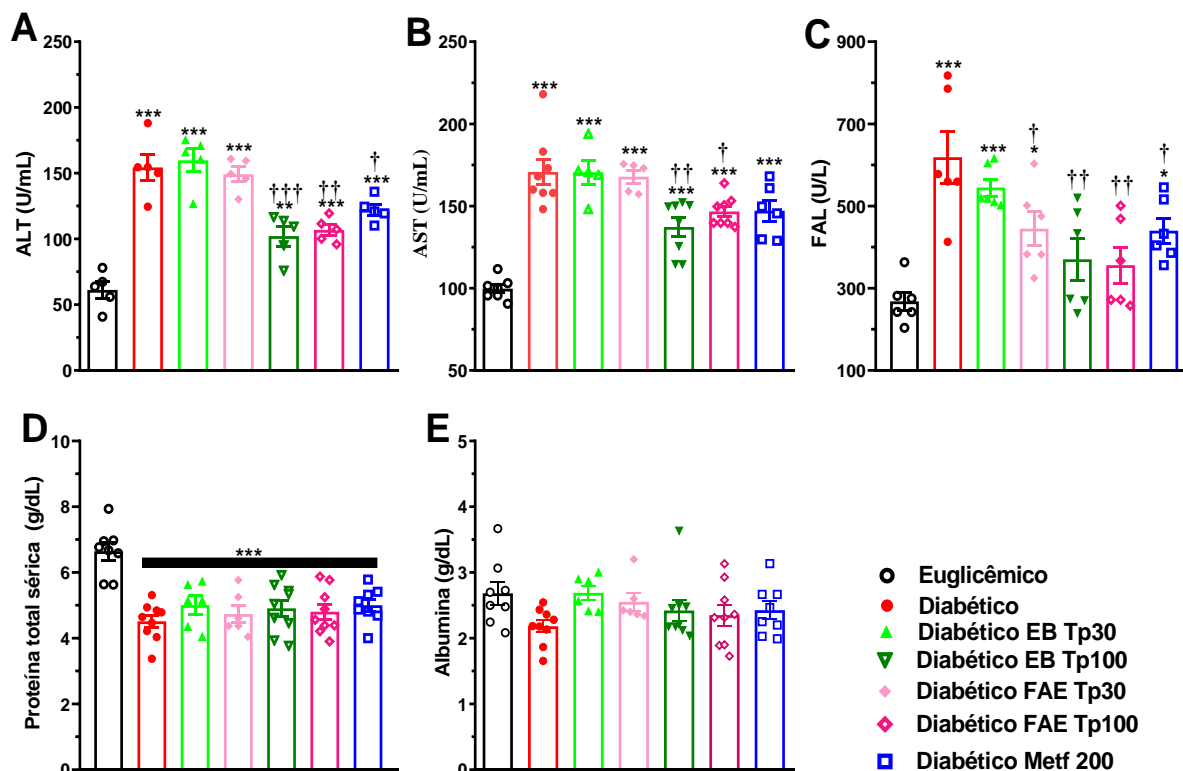
#### **4.2.4 Parâmetros séricos da função hepática de camundongos diabéticos tratados com *Terminalias*.**

A atividade sérica da AST, ALT e FAL e os níveis séricos de proteínas totais e albumina foram medidos para avaliar a função hepática dos camundongos diabéticos tratados com as *Terminalias*. A atividade de FAL não foi avaliada em camundongos tratados com *T. glabrescens*. Quando comparados aos camundongos euglicêmicos, camundongos diabéticos apresentaram baixos níveis séricos de proteína total (**Figuras 23C; 24D**), e altos níveis de transaminases (ALT e AST) (**Figuras 23A e B; 24A e B**) e FAL (**Figura 24C**). O tratamento subcrônico com *T. glabrescens* (100 mg/kg), reduziu de forma significativa níveis séricos destas transaminases (**Figura 23A e B**). No entanto, não foi capaz de reverter a redução de

níveis séricos de proteínas totais (**Figuras 23C**) e albumina, com exceção do grupo EB Tg 100 onde nível sérico de albumina não foi significativamente diferente quando comparado aos camundongos euglicêmicos (**Figura 23D**). O tratamento com EB e FAE de *T. phaeocarpa*, na dose 100 mg/kg, reduziu os níveis séricos de transaminases (**Figuras 24A e B**) e FAL (**Figuras 24C**), mas falhou em reverter, em todas as doses testadas, os níveis séricos de proteína total (**Figura 24D**). Não houve diferença significativa nos níveis séricos de albumina entre os camundongos euglicêmicos, camundongos DMT2 não tratados e camundongos DMT2 tratados com EB e FAE de *T. phaeocarpa* (**Figura 24E**).



**Figura 23: Efeito hepático do tratamento subcrônico com *T. glabrescens* em camundongos diabéticos.** Efeito do extrato etanólico bruto (EB) e fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens*, na dose de 100 mg/kg nos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT; A), aspartato aminotransferase (AST; B), proteínas totais (C) e albumina (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. †  $P < 0,05$  versus camundongos diabéticos. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos.



**Figura 24: Efeito do tratamento subcrônico com *T. phaeocarpa* sobre parâmetros séricos da função hepática de camundongos diabéticos.** Efeito do extrato etanólico bruto (EB) e fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses 30 e 100 mg/kg, e da metformina (200 mg/kg), nos níveis séricos de alanina aminotransferase (ALT; A), aspartato aminotransferase (AST; B), fosfatase alcalina (FAL; C), proteína total (D) e albumina (E). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos. †  $P < 0,05$ , ††  $P < 0,01$  e †††  $P < 0,001$  em versus camundongos diabéticos não-tratados.

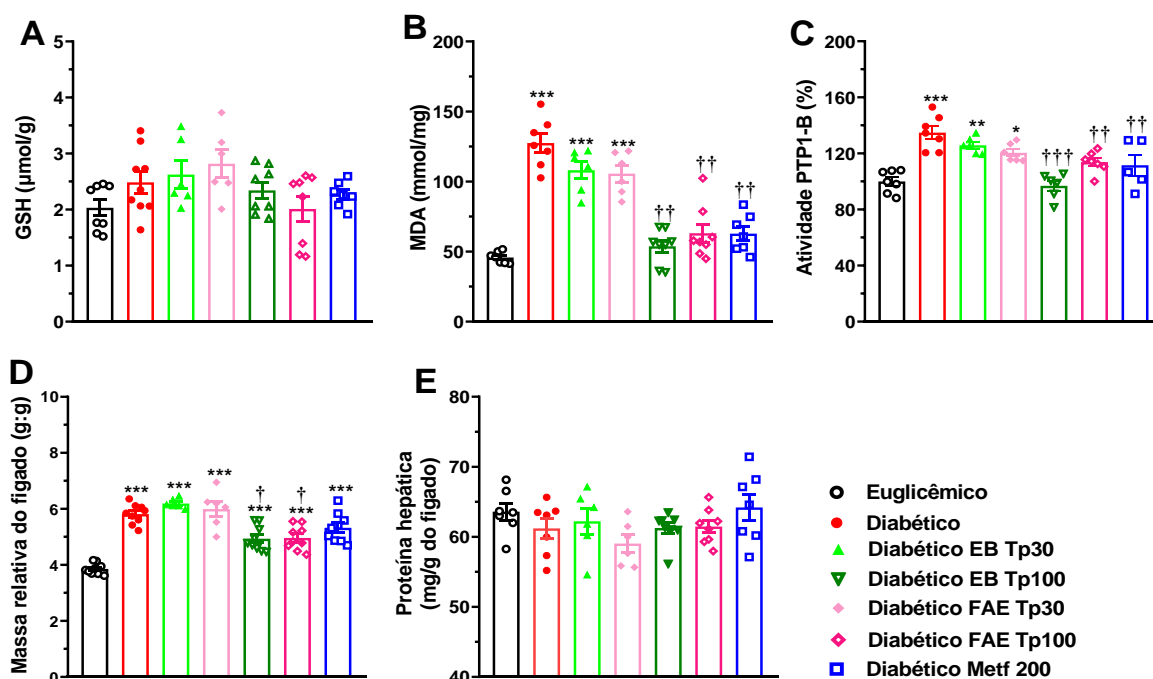
STZ exibe várias atividades biológicas, incluindo toxicidade, carcinogenicidade, teratogênese e mutagênese, não danifica apenas as células  $\beta$ -pancreáticas, mas também produz efeitos tóxicos em outros tecidos e órgãos do corpo, como o trato gastrointestinal, rins e o fígado (ABOUZED *et al.*, 2018; EL RABEY *et al.*, 2017; QUINE e RAGHU, 2005). O fígado é o principal órgão da homeostase metabólica dos carboidratos, a principal fonte de

proteína sérica e também o único local de síntese de albumina. A hiperglicemia causa depósitos de lipídeos no fígado, o que provavelmente pode causar danos neste órgão. Danos hepáticos foram documentados como uma das principais complicações do DM (SAFHI *et al.*, 2019). Embora várias vias tenham sido identificadas para lesão hepática, a RI é a principal causa de lesão hepática devido à glicotoxicidade e lipotoxicidade, ao estresse oxidativo e aumento da produção de EROs (ROMAGNOLI *et al.*, 2010). Os testes de função hepática (TFH) são comumente usados na prática clínica para rastrear danos e doenças hepáticas. Indivíduos com DMT2 têm maior incidência de TFH anormal do que indivíduos não diabéticos (HARRIS, 2005). Os TFH mais comuns incluem análises de transaminases séricas, FAL, proteína total e albumina (ABOLFATHI *et al.*, 2012 ;GHANBARI *et al.*, 2016; MORI *et al.*, 2003). No presente estudo, o declínio significativo nos níveis séricos de proteína total, albumina e níveis elevados de ALT, AST, FAL (**Figura 19**) refletem a lesão de hepatócitos no diabetes experimental (ABOLFATHI *et al.*, 2012; GHANBARI *et al.*, 2016; GHOSH *et al.*, 2015; SAFHI *et al.*, 2019). O tratamento subcrônico com EB e FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) reduziu significativamente os níveis de ALT, AST e FAL em camundongos DMT2 (**Figura 24A-C**). No entanto, o nível sérico diminuído de proteína total, causado pelo diabetes, não foi revertido após a administração das *Terminalias*, nem da metformina (**Figura 24D**). Simultaneamente, observamos também que o tratamento com *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) reduziu significativamente a massa hepática, sem qualquer alteração significativa induzida pela metformina (**Figura 25D**). Enquanto isso, o tratamento subcrônico com EB e FHM de *T. glabrescens* reduziu significativamente somente os níveis plasmáticos de AST (**Figura 18A**). Estes resultados sugerem que o tratamento com *T. phaeocarpa* é capaz de reduzir os danos hepáticos associados ao DMT2 e que o tratamento com esta espécie vegetal poderia, a longo prazo, inibir ou prevenir o desenvolvimento de doenças hepáticas. Os efeitos hepatoprotetores de *T. phaeocarpa* observados em camundongos diabéticos estão provavelmente relacionados ao seu conteúdo em polifenóis (tal como a quercetina) e seus efeitos antioxidantes, bem como a redução da hiperglicemia nos camundongos DMT2. De fato, estudos consideram a quercetina como um antioxidante devido à sua capacidade de inibir a xantina oxidase, aumentar as defesas antioxidantes e inibir a peroxidação lipídica (ZHAO *et al.*, 2014). Estudos de Dias e colaboradores (2005) revelaram que a quercetina é capaz de melhorar significativamente os sintomas de dano hepático induzido pelo diabetes. A quercetina na dieta (50 mg / kg por dia), por 30 dias, reduziu os sinais de estresse oxidativo no

fígado e diminuiu a expressão de marcadores séricos de lesão hepática em ratos com diabetes induzido por STZ (DIAS *et al.*, 2005).

#### **4.2.5 Efeito do tratamento subcrônico com *T. phaeocarpa* no índice de estresse oxidativo e na atividade da PTP1-B do fígado de camundongos diabéticos**

Para avaliar o efeito do tratamento subcrônico com *T. phaeocarpa* no índice de estresse oxidativo hepático em camundongos diabéticos, os níveis hepáticos de GSH, MDA e proteína total foram medidos. A atividade da PTP1-B hepática também foi medida em camundongos diabéticos. Os níveis hepáticos de GSH, MDA, proteína total e a atividade da PTP1-B hepática não foram avaliados em camundongos tratados com *T. glabrescens*. Camundongos diabéticos desenvolveram hepatomegalia, sublinhada pelo aumento da massa do fígado em comparação aos camundongos euglicêmicos (**Figura 25D**). Houve também um aumento de MDA (**Figura 25B**) e da atividade da PTP1-B (**Figura 25C**) no fígado. O tratamento com EB e FAE de *T. phaeocarpa*, na dose 100 mg/kg, reduziu de forma significativa a massa relativa, os níveis de MDA, assim que a atividade da PTP1-B do fígado, ilustrados na **Figura 25**. Não houve diferença significativa entre os níveis de GSH e proteína total hepática entre os diferentes grupos (**Figura 25A e E**).



**Figura 25: Efeito do tratamento com *T. phaeocarpa* no índice de estresse oxidativo, na atividade da PTP1-B, na massa e proteína total do fígado em camundongos diabéticos.** Efeito de extrato bruto (EB), fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses 30 e 100 mg/kg, e da metformina (Metf; 200 mg/kg), nos níveis de glutathiona reduzida (GSH; A), malondialdeído (MDA; B), na atividade da proteína tirosina fosfatase 1-B (PTP1-B; C), na massa relativa (D) e na proteína total (E) do fígado. Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos. ††  $P < 0,01$  e †††  $P < 0,001$  em versus camundongos diabéticos não-tratados.

Vários estudos pré-clínicos e clínicos sugerem que o estresse oxidativo desempenha um papel importante no desenvolvimento de complicações diabéticas (EVANS *et al.*, 2002). No diabetes, a glicação de proteínas e a auto-oxidação da glicose podem gerar radicais livres, que por sua vez catalisam a peroxidação lipídica (BAYNES, 1991; MULLARKEY *et al.*, 1990) Além disso, foram demonstradas perturbações dos sistemas de defesa antioxidante no diabetes (MCLENNAN *et al.*, 1991; STRAIN, 1991). A GSH, a biomolécula mais importante na proteção contra a toxicidade induzida por agentes químicos, participa da eliminação de intermediários reativos por redução de hidroperóxidos na presença de glutathiona peroxidase (NICOTERA e ORRENIUS, 1986). Neste estudo, não houve diferença significativa do nível

de GSH hepático. No entanto, um aumento significativo da peroxidação lipídica, destacado aqui pelos níveis do MDA, reflete o estresse oxidativo no fígado dos camundongos DMT2. Esses resultados estão de acordo com os relatados por (FEILLET-COUDRAY e colaboradores (1999) que observaram que o diabetes induzido por STZ em ratos foi acompanhado por um aumento na suscetibilidade à peroxidação lipídica (FEILLET-COUDRAY *et al.*, 1999). O tratamento subcrônico com EB e FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) reduziu significativamente os níveis de MDA, apoiando a sua atividade antioxidante em camundongos DMT2. Dado que os extratos de *T. phaeocarpa* são ricos em compostos fenólicos (GOMES, 2020) e conhecendo o papel positivo dos polifenóis na eliminação de radicais livres responsáveis pelo dano celular associado ao estresse oxidativo (ABDELAZIZ *et al.*, 2015; PATEL *et al.*, 2009), esses resultados sugerem que *T. phaeocarpa* poderia prevenir ou reduzir, em camundongo diabéticos, os danos hepáticos associados ao estresse oxidativo.

A PTP1-B é uma fosfatase não transmembranar, que pertence à família das enzimas PTP. Ela é expressada em tecidos sensíveis à insulina, como fígado, músculo esquelético, cérebro e tecido adiposo (BIALY e WALDMANN, 2005; BOURDEAU *et al.*, 2005; OSTMAN e BÖHMER, 2001). PTP1-B catalisa a desfosforilação do receptor de insulina e, portanto, diminui a sinalização da insulina. Além disso, regula negativamente a sinalização da leptina e contribui para a obesidade e distúrbios metabólicos associados (JOHNSON *et al.*, 2002; PANZHINSKIY *et al.*, 2013). O DMT2 é caracterizado por atividade e expressão aumentadas desta enzima (GAO *et al.*, 2010). Inflamação metabólica e aumento do estresse oxidativo associados ao DMT2 contribuem para a superexpressão da PTP1-B (AGOUNI *et al.*, 2011; ZABOLOTNY *et al.*, 2008). No presente trabalho, a indução do DMT2 aumentou significativamente a atividade da PTP1-B em camundongos (**Figura 25B**). Outras pesquisas também demonstraram a atividade aumentada desta proteína no fígado de camundongos com diabetes induzido por STZ (WU SY *et al.*, 2009; WU *et al.*, 2005; ) e em camundongos diabéticos db/db (WANG *et al.*, 2012). O tratamento com EB e FAE de *T. phaeocarpa*, nas maiores doses, reduziu significativamente a atividade de PTP1-B, de uma maneira similar ao observado com o fármaco padrão, metformina (**Figura 25B**). Estes resultados sugerem que o tratamento com *T. phaeocarpa* é capaz inibir os mecanismos responsáveis pela redução da sensibilidade a insulina em diabéticos. Considerando que a inibição da PTP1-B aumenta a ação da insulina e da leptina, esta enzima emergiu como um alvo atraente para o tratamento do DMT2 e da obesidade (ZHANG e LEE, 2003). Vários produtos naturais, como flavonóides

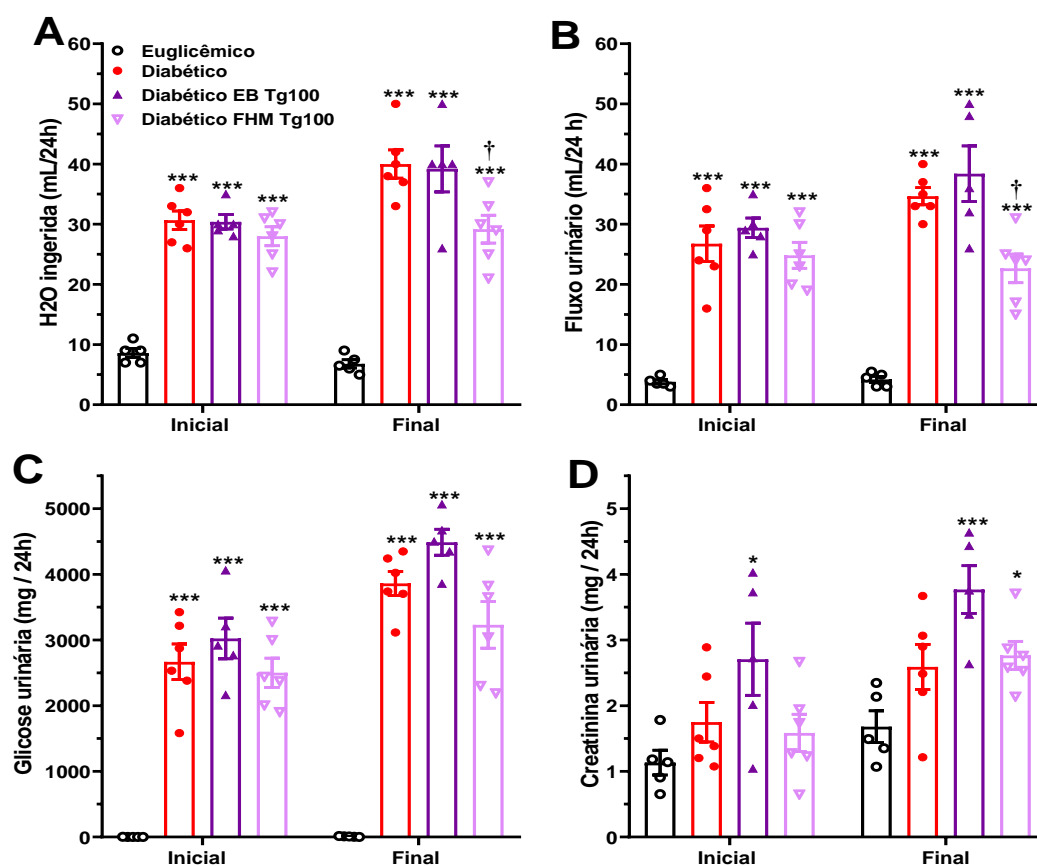
e taninos, foram descritos com efeito inibitório sobre a atividade da PTP1B (ZHAO *et al.*, 2018). De fato, kaempferol e quercetina isolados de *Agrimonia pilosa* (NA *et al.*, 2016), quercetina isolada de *Broussonetia papyrifera* (JIANG *et al.*, 2012), ácido elágico isolado de *Phellinus linteus* (LEE *et al.*, 2010) são descritos com efeitos inibidores *in vitro* sobre a atividade da PTP1-B. Assim, o efeito antidiabético de *T. phaeocarpa* observado neste estudo pode estar associado, pelo menos em parte, à inibição da atividade da PTP1-B, devido à presença de compostos como quercetina, kaempferol e ácido elágico nos EB e FAE.

#### **4.2.6 Efeito do tratamento subcrônico com as *Terminalias* sobre a função renal de camundongos diabéticos**

A ingestão de água, o fluxo urinário, a massa relativa dos rins, a excreção urinária de glicose, creatinina e ácido úrico, bem como nível sérico de creatinina foram medidos para avaliar a função renal dos camundongos diabéticos tratados com as *Terminalias*. Neste trabalho, verificamos que a água ingerida, o fluxo urinário e os níveis urinários de glicose e creatinina aumentaram em camundongos DMT2 em comparação aos camundongos euglicêmicos (**Figuras 26A-D; 27A-D**).

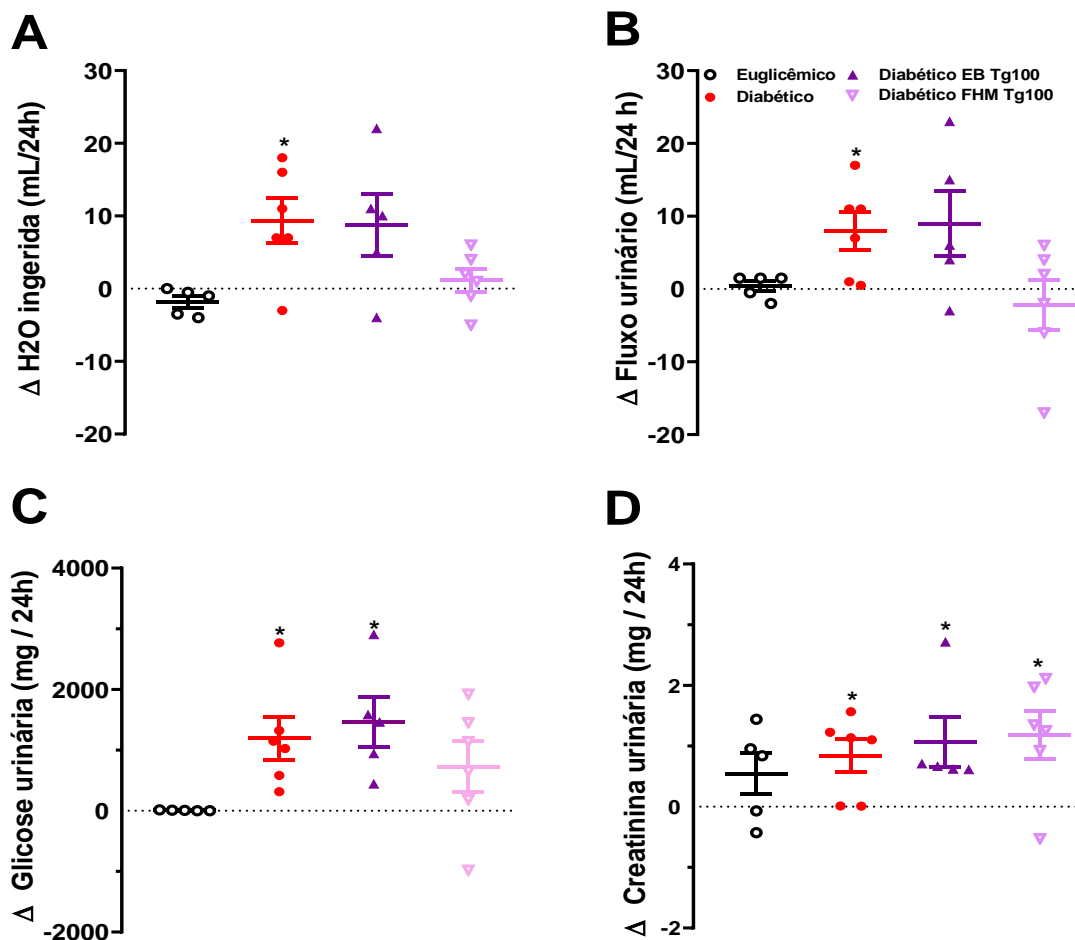
Os resultados apresentados na **Figuras 26** mostram que a ingestão de água, o fluxo urinário e os níveis urinários de glicose e creatinina dos camundongos diabéticos antes do tratamento com *T. glabrescens*, não foram significativamente diferentes. Após o período de tratamento não houve diferença significativa dos valores desses parâmetros entre camundongos diabéticos não tratados e diabéticos tratados com *T. glabrescens*, com exceção dos valores da ingestão de água e do fluxo urinário que foram significativamente reduzidos no grupo tratado com FHM *T. glabrescens* (100 mg/kg) (**Figuras 26A e B**).





**Figura 26: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalia glabrescens* no movimento de fluidos e na excreção renal em camundongos diabéticos.** Efeito do extrato etanólico bruto (EB) e fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens* na ingestão de água (A), o fluxo urinário (B), na excreção urinária de glicose (C) e creatinina (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de 8 animais. \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos. †  $P < 0,05$  versus camundongos diabéticos.

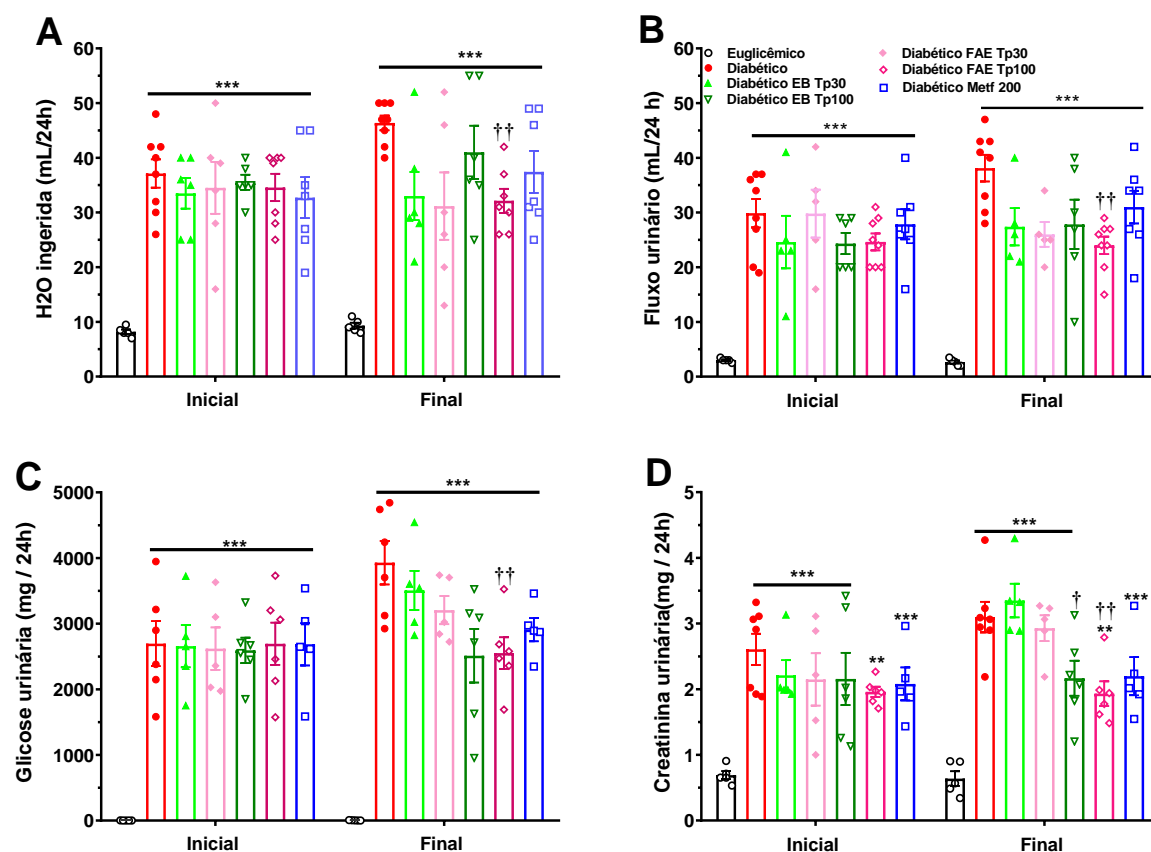
Esses resultados apresentados nas **Figuras 26** sugerem que, devido ao tratamento, teria havido uma alteração da ingestão de água e do fluxo urinário, em camundongos diabéticos FHM *T. glabrescens* (100 mg/kg). No entanto, quando avaliamos a variação ( $\Delta$ ) intragrupo de ingestão de água, fluxo urinário, e dos níveis urinários de glicose e creatinina, percebemos variações positivas de níveis urinários de glicose e creatinina em camundongos diabéticos tratados com *T. glabrescens* (**Figura 27C e D**). Isso significa que não houve alteração da ingestão de água nem do fluxo urinário em camundongos diabéticos tratados com *T. glabrescens*, no entanto, houve alteração na excreção urinária de glicose e creatinina.



**Figura 27:** Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalia glabrescens* na variação de movimento de fluidos e excreção renal em camundongos diabéticos. Efeito do extrato etanólico bruto (EB) e fração hidrometanólica (FHM) de *T. glabrescens* (100 mg/kg) na variação ( $\Delta$ ) de ingestão de água (A), fluxo urinário (B) e excreção urinária de glicose (C) e creatinina (D). A análise estatística de coluna, seguida do teste t (One sample t test), foram utilizados para avaliar a variação intragrupo. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$  versus zero, valor que representa a ausência de alteração do parâmetro considerado.

Os resultados apresentados na **Figuras 28** mostram que a ingestão de água, o fluxo urinário e os níveis urinários de glicose e creatinina dos camundongos diabéticos antes do tratamento com *T. phaeocarpa*, não foram significativamente diferentes. Enquanto isso, após o período de tratamento, os camundongos FAE *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) apresentaram valores significativamente reduzidos de todos esses parâmetros quando comparado com os

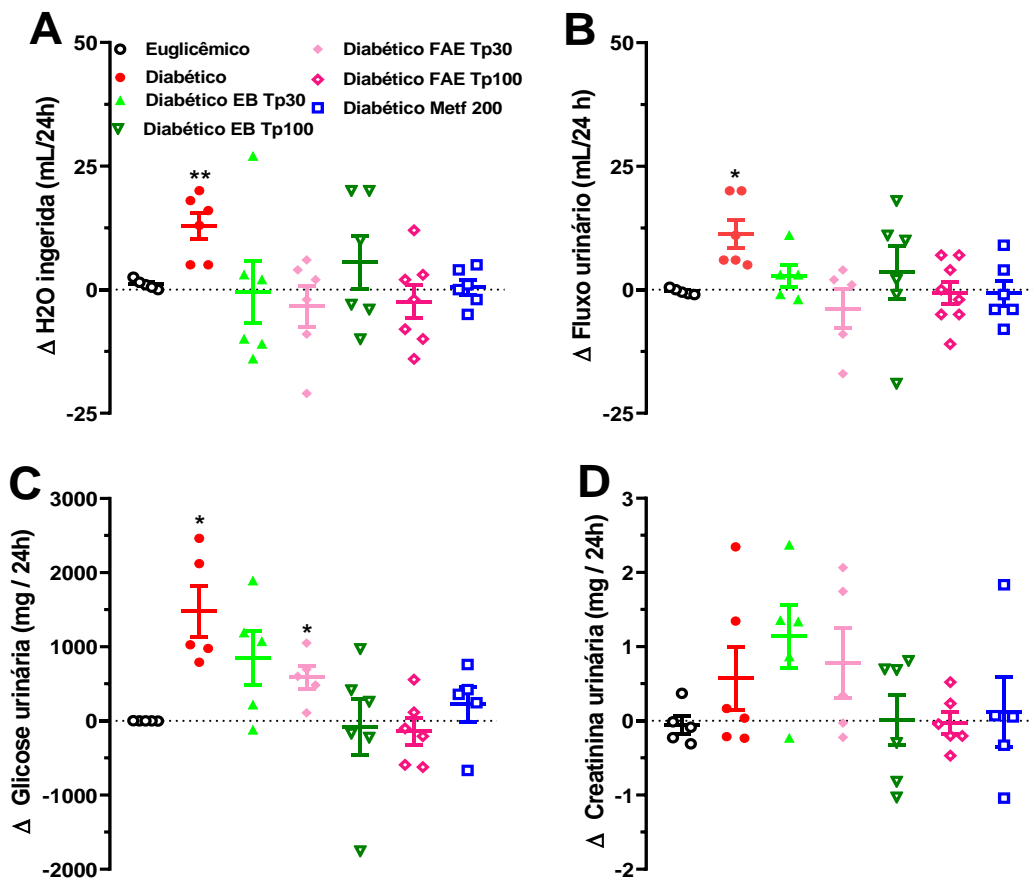
valores de camundongos diabéticos não tratados (**Figura 28 A-D**). Camundongos EB (100 mg/kg) de *T. phaeocarpa* apresentaram valores significativamente reduzidos somente da creatinina urinária (**Figura 28D**).



**Figura 28: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalia phaeocarpa* no movimento de fluidos e na excreção renal em camundongos diabéticos.** Efeito do extrato bruto (EB), fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses 30 e 100 mk/kg, ou a metformina na ingestão de água (A), o fluxo urinário (B); na excreção urinária de glicose (C) e creatinina (D). Valores obtidos por 24 h. Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de 8 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos. †  $P < 0,05$  e ††  $P < 0,01$  versus camundongos diabéticos.

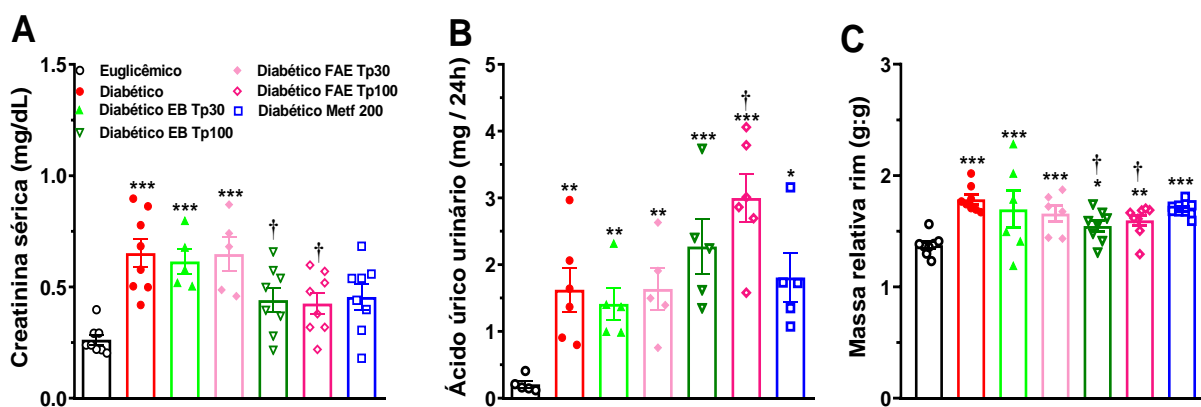
Esses resultados apresentados na **Figura 28** também sugerem que, devido ao tratamento, teria havido uma alteração de ingestão de água, fluxo urinário, níveis urinários de glicose e creatinina em camundongos diabéticos FAE *T. phaeocarpa* (100 mg/kg), e uma

alteração da creatinina urinária em camundongos EB *T. phaeocarpa* (100 mg/kg). No entanto, quando avaliamos a variação ( $\Delta$ ) intragrupo desses parâmetros em camundongos diabéticos tratados com *T. phaeocarpa* (**Figura 29**), percebemos uma variação positiva somente de níveis urinários de glicose com a dose baixa de FAE *T. phaeocarpa* (**Figura 29 C**). Isso significa que não houve alteração de ingestão de água, fluxo urinário, níveis urinários de glicose e creatinina em camundongos diabéticos EB e FAE *T. phaeocarpa*, com exceção do grupo FAE *T. phaeocarpa* (30 mg/kg), onde foi vista uma alteração de níveis urinários de glicose.



**Figura 29: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalia phaeocarpa* na variação de movimento de fluidos e excreção renal em camundongos diabéticos.** Efeito do extrato bruto (EB), fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses 30 e 100 mg/kg na variação ( $\Delta$ ) de ingestão de água (A), fluxo urinário (B), excreção urinária de glicose (C) e creatinina (D). A análise estatística de coluna, seguida do teste t (One sample t test), foram utilizados para avaliar a variação intragrupo. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$  e \*\*  $P < 0,01$  versus zero, valor que representa a ausência de alteração do parâmetro considerado.

O efeito do tratamento dos camundongos diabéticos com *T. phaeocarpa* foi também avaliado nos níveis de creatinina sérica e ácido úrico urinário, bem como na massa relativa dos rins. Conforme ilustrado na **Figura 30**, camundongos diabéticos apresentaram níveis significativamente altos de creatinina sérica e ácido úrico urinários, bem como um aumento significativo da massa relativa dos rins. Quando comparado com os camundongos diabéticos não tratados, houve uma redução significativa de creatinina sérica e massa relativa dos rins em camundongos diabéticos tratados com a maior dose de EB e FAE de *T. phaeocarpa* (**Figura 30 A e C**). O tratamento de camundongos diabéticos com FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg), causou um aumento significativo da taxa de excreção do ácido úrico pelos rins (**Figura 30B**). O efeito do tratamento com EB e FHM de *T. glabrescens* nos níveis de creatinina sérica e ácido úrico urinário, bem como na massa relativa dos rins, também foram avaliados em camundongos diabéticos com EB e FHM de *T. glabrescens*. No entanto, os resultados não foram significativamente diferentes entre diabéticos tratados e não tratados. Por este motivo, optamos por não apresentar os resultados.



**Figura 30: Efeito do tratamento subcrônico com *Terminalia phaeocarpa* nos parâmetros séricos da função renal e na massa relativa dos rins em camundongos diabéticos.** Efeito do extrato bruto (EB), fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses 30 e 100 mg/kg, ou a metformina (200 mg/kg), nos níveis de creatinina sérica (A), ácido úrico urinário (B), e na massa relativa de rim (C) em camundongos diabéticos. Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados estão apresentados como média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos euglicêmicos. †  $P < 0,05$  versus camundongos diabéticos não tratados.

Os efeitos tóxicos da STZ também causam lesão renal, inflamação, estresse oxidativo e disfunção endotelial (VALENTOVIC *et al.*, 2006), que podem gerar nefropatia diabética (ND). A ND é a principal causa de insuficiência renal crônica e doença renal terminal no mundo (ZHANG *et al.*, 2012), e ocorre em 45% dos pacientes diabéticos (SAGOO e GNUDI, 2018). Altos níveis séricos de glicose, creatinina, ácido úrico, o aumento da massa renal, a hipoalbuminemia e glicose na urina ocorrem na ND, e podem estar relacionados ao DMT2 (DABLA, 2010; IDONIJE *et al.*, 2011). O dano renal é determinado pela medição de parâmetros bioquímicos e histológicos. Neste trabalho, não foram avaliados parâmetros histológicos. No entanto parâmetros bioquímicos avaliados no presente estudo demonstram que os camundongos DMT2 desenvolveram a ND. Esses resultados corroboram com relatos anteriores (AHANGARPOUR *et al.*, 2019; PALSAMY e SUBRAMANIAN, 2011), de que a administração de NA / STZ leva à indução da ND, com aumento de ingestão de água, fluxo urinário, excreção urinária de creatinina, bem como altos níveis séricos de glicose, creatinina e ácido úrico.

Alto nível de glicose na urina produz micção hiperosmótica, isso leva a poliúria e perda de água e eletrólitos. Este evento ativa o mecanismo da sede e a polidipsia (OZOUGWU *et al.*, 2013). Mostramos neste trabalho que os camundongos DMT2, desenvolveram polidipsia e poliúria, junto com alto nível de glicose urinária. O aumento da excreção urinária de glicose representa um dos mecanismos pelos quais o organismo tenta reduzir altos níveis séricos de glicose. O fluxo urinário junto com nível de glicose urinária dos camundongos DMT2 foram significativamente elevados em comparação aos de diabéticos tratados com a maior dose de EB e FAE de *T. phaeocarpa*. No entanto, camundongos DMT2 mantiveram alto nível de glicose no sangue durante o estudo. Estes resultados sugerem que a redução significativa de glicose no sangue, observada em camundongos tratados com EB e FAE de *T. phaeocarpa* (100mg/kg) não estaria associada à eliminação renal de glicose, mas envolveria outros tecidos implicados na homeostase de glicose, por exemplo o fígado e/ ou músculo. Levando em consideração os efeitos de *T. phaeocarpa* nos níveis plasmáticos de glicose, junto com seu efeito sobre a atividade da PTP1-B, podemos pensar que o fígado seria provavelmente um dos órgãos alvos onde *T. phaeocarpa* age para ter seus efeitos antihiper-glicêmicos.

A hiperglicemia e dislipidemia são fatores importantes no desenvolvimento e progressão da ND; a relação entre hiperglicemia, estresse oxidativo e dislipidemia é bem conhecida (ARONSON e RAYFIELD, 2002; GARUD e KULKARNI, 2014; ROY *et al.*,

2010). Os lipídios desempenham um papel importante na patogênese das complicações associadas ao DM. A dislipidemia pode levar a ND por meio da ativação da via TGF- $\beta$ , subsequentemente acelerando a produção de ROS e levando a danos glomerulares (OKOSUN *et al.*, 2000). A hiperglicemia causa um aumento no estresse oxidativo, resultando em inflamação e danos nos rins e outros órgãos (AMIRI, 2017; RAHIMPOUR e DEHKORDI, 2018). Além disso, foi relatado que o aumento da atividade da via do poli-ol induzida pela hiperglicemia contribui para anormalidades, como aumento de estresse osmótico e oxidativo, que são conhecidos como promotores de doenças microvasculares diabéticas, incluindo a ND (DUNLOP, 2000). Os rins removem os resíduos metabólicos, como uréia, ácido úrico, creatinina e íons, a fim de manter a composição química ideal dos fluidos corporais. As concentrações desses metabólitos aumentam no sangue durante doenças renais ou lesões renais associadas ao DM não controlado. A estimativa da função renal é importante em uma série de situações clínicas, incluindo avaliação de dano renal e monitoramento da progressão da doença renal em pessoas com diabetes. O rastreamento de DRC em pessoas com diabetes envolve uma avaliação de excreção urinária de albumina, níveis séricos de parâmetros como creatinina e ácido úrico; e uma medição do nível geral da função renal por meio de um TFG (DE COSMO *et al.*, 2015; NORRIS *et al.*, 2018; RISSO *et al.*, 2019). A TFG é a melhor medida da função renal, uma vez que leva em consideração a idade, o IMC e o sexo (LEVEY *et al.*, 2003). A TFG mede a taxa na qual os dois milhões de glomérulos dos rins filtram o plasma para processá-lo e remover seus resíduos. Se os rins são lesados por DRC, a TFG diminui gradualmente e a quantidade de função renal remanescente pode ser estimada medindo ou calculando a TFG (DABLA, 2010). A estimativa da TFG envolve marcadores bioquímicos, tais que inulina e creatinina, encontrados no soro e na urina (GOWDA *et al.*, 2010; STIRBAN *et al.*, 2014). Em vista de todas essas informações, entendemos a importância também de controlar os parâmetros tais como creatinina e ácido úrico, em indivíduos diabéticos. Demonstramos neste trabalho que camundongos DMT2, desenvolveram hiperglicemia e dislipidemia associadas à ND, sublinhada por níveis séricos elevados de creatinina e ácido úrico, bem como a excreção urinária alterada destes parâmetros.

A creatinina vem da via creatina / fosfocreatina. A creatina é sintetizada nos rins e no fígado (WYSS e KADDURAH-DAOUK, 2000) e armazenada principalmente nas células musculares estriadas (KUSHMERICK *et al.*, 1992; SANT'ANA PEREIRA *et al.*, 1996), onde ela é fosforilada em fosfocreatina pela creatina quinase. Por sua vez, a fosfocreatina é usada

para fosforilar o ADP em ATP quando a demanda de energia é alta. Tanto a creatina quanto a fosfocreatina degradam-se espontaneamente em creatinina (BAKKER *et al.*, 2018). A creatinina é liberada nos fluidos corporais, e sua depuração é medida como um indicador da TFG (STIRBAN *et al.*, 2014). Os níveis séricos elevados de creatinina foram atribuídos à integridade estrutural defeituosa do rim, pois a creatinina é liberada na circulação após dano celular (HUFF *et al.*, 2005; ZANGENEH *et al.*, 2018). Neste estudo, demonstramos que camundongos diabéticos apresentaram altos níveis de creatinina sérica e urinária, provavelmente associada a estrutura do rim defeituosa. O tratamento de camundongos diabéticos com EB e FAE de *T. phaeocarpa* reduziu significativamente níveis séricos de creatinina sem alteração significativa da sua excreção urinária. Esses baixos níveis de creatinina sérica podem estar associados a um efeito protetor de *T. phaeocarpa* nas estruturas dos túbulos renais. Estudos histológicos serão necessários para confirmar tal hipótese.

Estudos epidemiológicos mostram que níveis séricos elevados de ácido úrico estão associados ao desenvolvimento de alterações cardiovasculares e doença renal crônica (HOVIND *et al.*, 2009; LIM, 2014). Em indivíduos com DMT2, vários trabalhos relataram a associação entre níveis elevados de ácido úrico e o desenvolvimento da ND (TSENG, 2005; ZOPPINI *et al.*, 2012). O protocolo terapêutico para a redução do ácido úrico é baseado na inibição da xantina oxidase ou no aumento da sua eliminação urinária (LIM, 2014). No presente trabalho, verificamos que os níveis séricos de ácido úrico aumentaram em camundongos DMT2, enquanto que o tratamento com EB e FAE de *T. phaeocarpa* os reduziu significativamente. Esta redução de níveis séricos de ácido úrico pode ser associada a altos níveis de ácido úrico urinário em camundongos EB e FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg). Esses resultados sugerem que o aumento da eliminação urinária de ácido úrico, contribui para a redução dos níveis séricos de ácido úrico, devido ao tratamento com *T. phaeocarpa*. Esses resultados corroboram com trabalhos anteriores (ANG *et al.*, 2015; NAKAGAWA *et al.*, 2006; WANG *et al.*, 2015), onde a redução de níveis séricos de ácido úrico foi associada a altos níveis de ácido úrico urinário. No entanto, pode haver outro mecanismo envolvido na redução dos níveis séricos de ácido úrico, possivelmente via inibição da xantina oxidase. De fato, composto como quercetina, identificado no EB e FAE de *T. phaeocarpa* (GOMES, 2020), é capaz de inibir a xantina oxidase (ZHAO *et al.*, 2014). Assim, níveis séricos reduzidos de ácido úrico observados neste estudo em camundongos diabéticos tratados com *T. phaeocarpa*, também poderiam estar associados, pelo menos em parte, a inibição da xantina oxidase, devido ao conteúdo de *T. phaeocarpa* em polifenóis.



Os resultados deste estudo apoiam a hipótese de que *T. phaeocarpa* teria potencial para prevenir alterações cardiovasculares e renais associadas a altos níveis séricos de creatinina e ácido úrico. O tratamento subcrônico com EB e FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) melhorou a função renal em camundongos DMT2, reduzindo parâmetros renais como massa relativa dos rins, níveis séricos de creatinina e ácido úrico, o que poderia retardar a progressão da ND. Estudos indicaram também efeitos antidiabéticos e renoprotetores semelhantes com outras espécies de *Terminalia*, como *T. chebula* (RAO e NAMMI, 2006), *T. catappa* (DIVYA *et al.*, 2019) e *T. bellerica* (LATHA e DAISY, 2010) em ratos com diabetes induzido por NA/STZ. Esses efeitos renoprotetores foram atribuídos à ação sinérgica de compostos fenólicos encontrados nos extratos (LATHA e DAISY, 2010). Compostos como rutina, quercetina e ácido elágico foram descritos com efeitos renoprotetores em modelos diabéticos de doença renal (AHAD *et al.*, 2014; GANESAN *et al.*, 2018; GOMES *et al.*, 2014; HAO *et al.*, 2012; RAGHU *et al.*, 2016). Assim, o efeito renoprotetor de *T. phaeocarpa* demonstrado neste estudo poderia estar atribuído a presença de compostos como rutina, quercetina e ácido elágico identificados no EB e FAE (GOMES, 2020). No entanto, o tratamento subcrônico com EB e FHM de *T. glabrescens*, não foi capaz em impedir a progressão da ND.

Os resultados deste estudo mostram, por um lado, que *T. glabrescens* exibe efeitos antidiabéticos moderados. Por outro lado, a *T. phaeocarpa* exibe efeitos antidiabéticos e hepato-nefroprotetores. A melhora da sensibilidade à insulina pela inibição da atividade da PTP1-B, pode contribuir para o mecanismo antidiabético de *Terminalia phaeocarpa*. O tratamento subcrônico com a planta *T. phaeocarpa* demonstrou o seu potencial para o tratamento do DMT2 e se colocou como opção para teste com modelo murino de SM. Os resultados obtidos após o tratamento subcrônico com a planta *T. glabrescens* não foram suficientes para justificar a continuação dos estudos com esta espécie vegetal.

### **4.3 Avaliação do tratamento crônico com *Terminalia phaeocarpa* em modelo de síndrome metabólica induzida por dieta hiperlipídica e frutose**

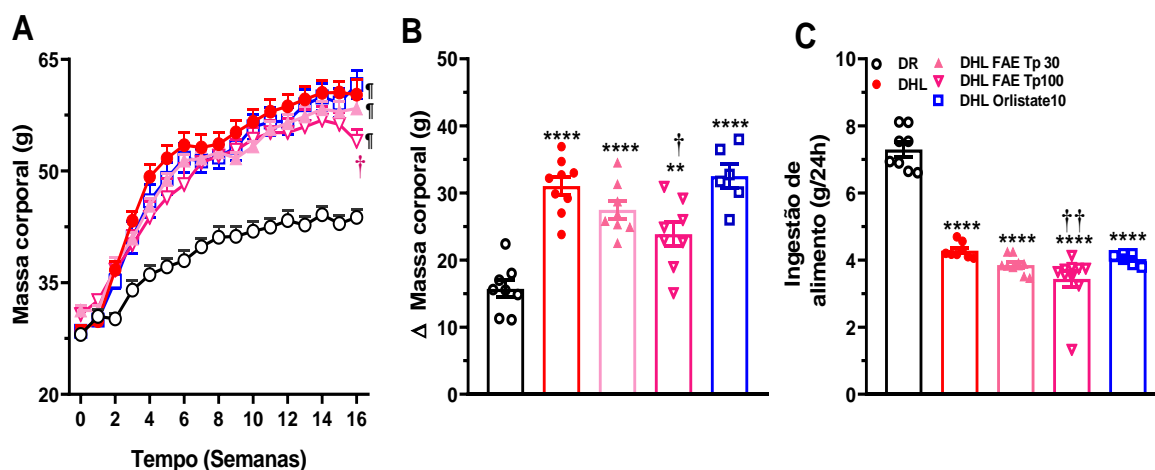
A obesidade e a RI desempenham um papel central no desenvolvimento da síndrome metabólica (SM). A atividade excessiva de enzimas envolvidas na intolerância à glicose e no desequilíbrio da glicemia contribui para o agravamento das complicações associadas à obesidade. A atividade física combinada com uma dieta adequada reduziria os riscos associados à obesidade (JAKUBCZYK *et al.*, 2017). Infelizmente, essa abordagem e as recomendações nem sempre são seguidas e respeitadas pelos pacientes. Portanto, existem outras estratégias terapêuticas incluindo o uso de fármacos capazes de inibir a digestão de alimentos, especialmente gorduras, que são conhecidas como uma importante fonte de calorias indesejadas na dieta (MCCLENDON *et al.*, 2009). Assim, tendo em vista os efeitos inibitórios de *T. phaeocarpa* na atividade das enzimas digestivas e os efeitos no modelo DMT2, a fração FAE de *T. phaeocarpa* foi selecionada e testada em camundongos com SM associada à obesidade.

Existem vários tipos de modelos animais que são comumente usados para a busca e/ou o desenvolvimento de fármacos contra SM. Está estabelecido que roedores alimentados com uma combinação DHL/F são predispostos a resistência à insulina e desenvolvem SM com sucesso (KOHLI *et al.*, 2010; WADA *et al.*, 2010). Assim, o modelo de SM induzida por combinação DHL/F foi escolhido. Neste trabalho, os camundongos alimentados com DHL/F exibiram características óbvias dos componentes da SM, demonstrado pelo aumento da deposição de gordura abdominal, diminuição da tolerância à glicose, dislipidemia, hiperinsulinemia, hiperuricemia e aumento da pressão arterial sistólica (PAS), compatível com relatos prévios da literatura (COATE *et al.*, 2010; PANCHAL *et al.*, 2011; ZHUHUA *et al.*, 2015).

#### **4.3.1 Efeito da *T. phaeocarpa* sobre a massa corporal, a ingestão de alimento e a massa de órgãos em camundongos com SM.**

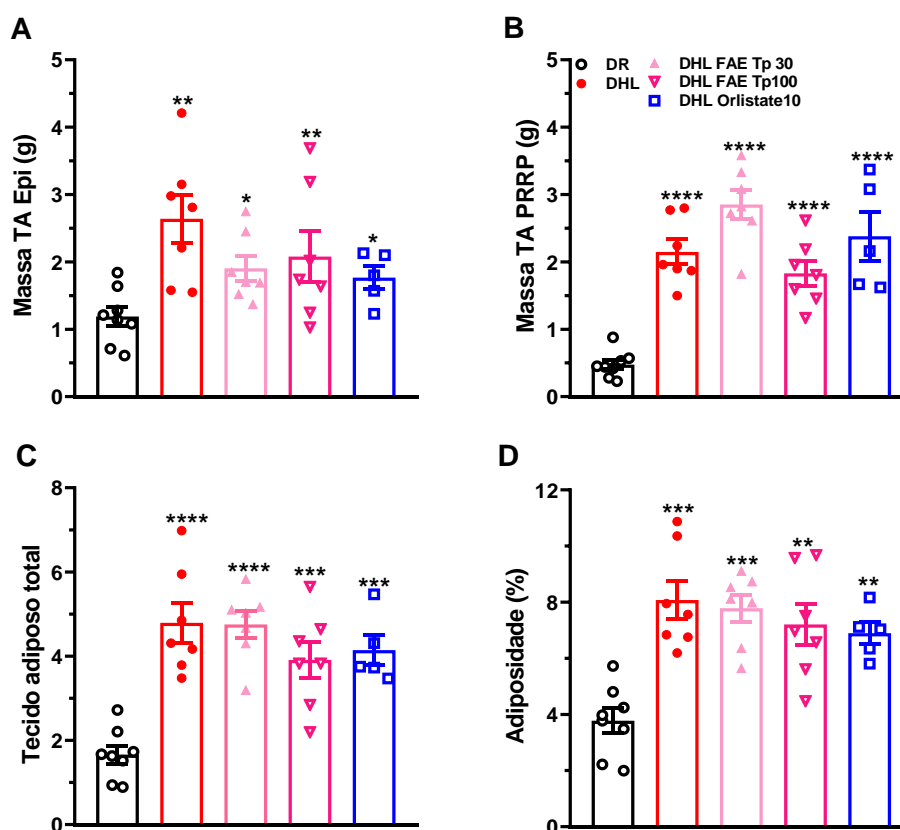
A massa corporal dos camundongos foi monitorada semanalmente ao longo do estudo, enquanto o peso de fígado, rins, coração, tecido adiposo e a adiposidade foram medidos após final do estudo. Conforme mostrado na **Figura 31A**, quando comparados aos camundongos DR, os camundongos alimentados com DHL/F exibiram maior ganho da massa corporal, o

que era óbvio 4 semanas após o início da dieta. O tratamento com *T. phaeocarpa* foi iniciado 8 semanas após a introdução da DHL/F. Podemos observar que não houve alteração significativa da massa corporal dos camundongos tratados com FAE até a 15ª semana de dieta DHL/F ou 7ª semana de tratamento com FAE de *T. phaeocarpa*. No entanto, na 16ª semana percebemos uma redução significativa na massa corporal dos camundongos tratados com FAE (100 mg/kg), como ilustrado na **Figura 31 (A e B)**. FAE (30 mg/kg) e o fármaco padrão, orlistate (10 mg/kg), não foram capazes de reduzir o ganho da massa corporal induzidos por DHL/F (**Figura 31 A e B**). O monitoramento semanal do consumo de ração demonstrou que, quando comparado aos camundongos alimentados com DR, o consumo diário de DHL/F foi significativamente reduzido, tanto em camundongos não tratados ou tratados com FAE (**Figura 31C**). Quando comparado aos camundongos DHL não tratados, o consumo de ração dos camundongos DHL tratados com FAE (100 mg/kg) foi significativamente reduzido (**Figura 31C**). A discrepância entre ganho de massa e redução no consumo de ração está associada ao conteúdo calórico muito alto da dieta HFD / F.



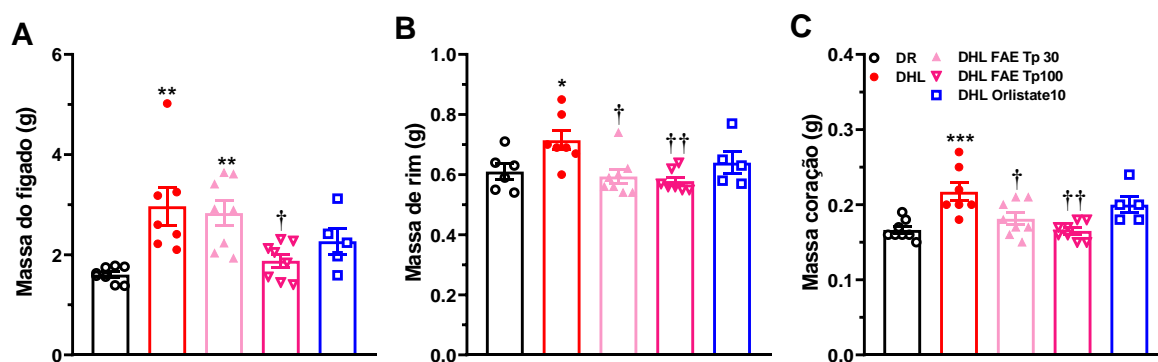
**Figura 31: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* na massa corporal semanal e a ingestão de alimento em camundongos SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10), na massa de tecido adiposo em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento na massa corporal (A), variação ( $\Delta$ ) da massa corporal (B) e ingestão de alimento (C). Análise de variância (ANOVA) de duas vias ou uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 6 animais. ¶ representa que todos os pontos das curvas são significativamente diferentes ( $P < 0,001$ ) em relação às curvas dos camundongos recebendo dieta regular (DR). \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  e \*\*\*\*  $P < 0,0001$  versus camundongos DR. †  $P < 0,05$  e ††  $P < 0,01$  versus camundongos DHL não-tratados.

Consistente com o aumento da massa corporal, ao final de 16 semanas de dieta, os tecidos adiposos epididimal, perirenal e retroperitoneal, bem como o tecido adiposo total (epididimal + perirenal + retroperitoneal) e a adiposidade foram significativamente maiores em camundongos DHL em comparação com os camundongos não tratados DR (**Figura 32 A-C**). Quando comparado aos camundongos DHL não tratados, não houve alteração significativa da massa dos tecidos adiposos, nem do índice de adiposidade devido ao tratamento (**Figura 32 A-D**).



**Figura 32: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* na massa de tecidos adiposos em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10), na massa de tecido adiposo em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito na massa de tecido adiposo epididimal (TA Epi; (A)); perirenal e retroperitoneal (TA PRRP; (B)); tecido adiposo total (TA Epi + TA PRRP; (C)) e na adiposidade (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  e \*\*\*\*  $P < 0,0001$  versus camundongos DR.

Ao final de 16 semanas de dieta um aumento significativo da massa do fígado, rins e coração foi observado em camundongos DHL, em comparação aos camundongos DR (**Figura 33A-C**). Quando comparados com os camundongos DHL não tratados, os camundongos tratados com FAE de *T. phaeocarpa* apresentaram valores significativamente menores da massa desses órgãos, com a exceção da massa de do fígado no grupo de camundongos tratados com a dose menor (**Figura 33A-C**). Não houve diferença significativa entre os valores da massa desses órgãos de camundongos DHL tratados com orlistate em comparação aos de camundongos DHL não tratados (**Figura 33A-C**).



**Figura 33: Efeito do tratamento crônico com de *T. phaeocarpa* nos órgãos viscerais em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito na massa de fígado (A), rim (B) e coração (C). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$  e \*\*  $P < 0,01$  versus camundongos DR. †  $P < 0,05$  e ††  $P < 0,01$  versus camundongos DHL não-tratados.

A obesidade, como resultado do ganho da massa corporal, é um efeito evidente da ingestão crônica de DHL (CHO *et al.*, 2012; GESTA *et al.*, 2007). O aumento da massa corporal, pode ser amplamente atribuído ao aumento da massa de tecidos adiposos visceral (epididimal, perirrenal e retroperitoneal), significativamente elevadas em camundongos alimentados com DHL/F (**Figura 32**). Maior ganho da massa corporal associado ao aumento da massa de tecidos adiposos são os parâmetros que definem neste momento dos resultados que os camundongos estão obesos. Neste momento dos resultados, não podemos dizer que estes camundongos têm SM, devido ao fato de que não estão estabelecidos outros parâmetros que, junto com a obesidade, caracterizem a SM.

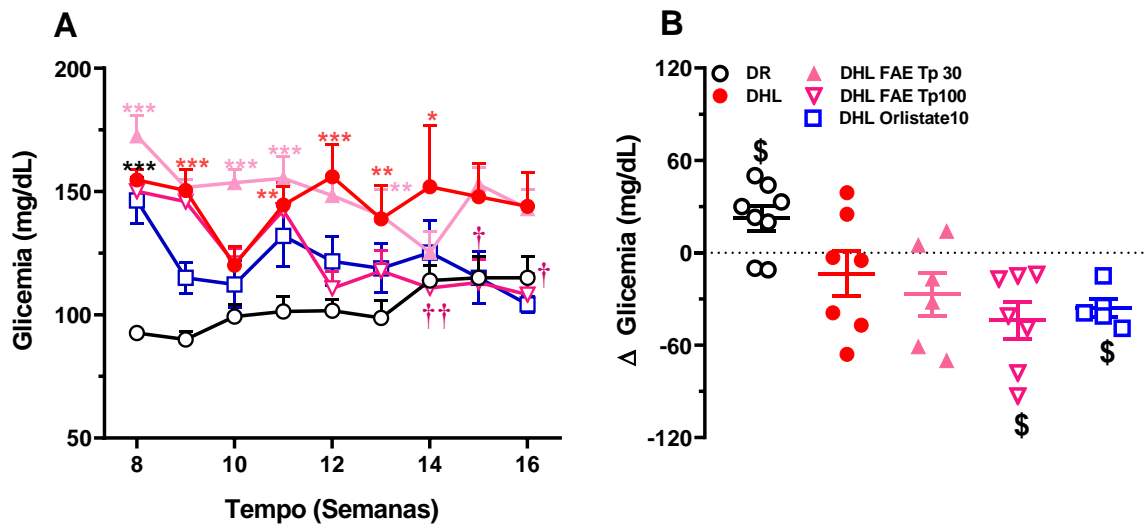
Os resultados deste trabalho mostram que o tratamento crônico de camundongos com FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) impediu parcialmente o ganho da massa induzido por DHL/F. Esses resultados também evidenciaram a correlação entre a redução da massa corporal e a redução da massa de órgãos viscerais (fígado, rim, coração). A redução do consumo de alimentos, observada em camundongos tratados com *T. phaeocarpa* (100 mg/kg), contribuiria para a redução do ganho de massa corporal. No entanto, podem haver outros mecanismos envolvidos na redução da massa corporal induzida por *T. phaeocarpa*. De fato, espécies do gênero *Terminalia* exercem seus efeitos anti-obesidade através de vários

mecanismos. Por exemplo, *T. bellirica* impede o ganho de peso em camundongos obesos, inibindo a absorção de TG alimentares através do seu conteúdo em polifenóis (MAKIHARA *et al.*, 2012). Foi descrita a presença de polifenóis na FAE de *T. phaeocarpa* (GOMES, 2020). Existem relatos de que os polifenóis vegetais inibem a atividade da lipase pancreática no duodeno e impedem a liberação (e subsequente absorção) de ácidos graxos dos TG da dieta (MARTEL *et al.*, 2017). Além disso, metabolitos secundários ligam-se aos lipídios e ácidos biliares, reduzindo assim a absorção lipídica e a reabsorção de ácidos biliares, respectivamente (BIRARI e BHUTANI, 2007; MARTEL *et al.*, 2017; MARTINS *et al.*, 2010), tudo isso poderia impedir o ganho da massa corporal. Seria, portanto, muito interessante realizar outros estudos para avaliar o efeito do tratamento com *T. phaeocarpa* na excreção e / ou atividade de ácidos biliares, e também no perfil de lipídeos fecais.

#### **4.3.2 Efeito da *T. phaeocarpa* sobre a glicemia semanal, TTG, TSI e TTP em camundongos com SM.**

Após 8 semanas de alimentação com DHL/F ou DR, a glicemia foi monitorada semanalmente durante o período restante do estudo, em camundongos jejuados por 12 horas. Para explorar ainda mais as alterações metabólicas periféricas associadas ao consumo de DHL/F, realizamos um TTG, TTP e TSI 14 semanas após o início da dieta, para avaliar a tolerância à glicose, a neoglucogênese e a RI periférica, respectivamente.

Os resultados ilustrados na **Figura 34**, mostram que camundongos DHL exibiram glicemia de jejum prejudicada (GJP), 8 semanas após o início da dieta. Tratamento crônico com a FAE (100 mg/kg) de *T. phaeocarpa* ou com o orlistate (10 mg/kg) foi capaz de reverter a GJP induzida pela dieta, conforme ilustrado na **Figura 34A**. Quando avaliamos a variação ( $\Delta$ ) da glicemia, percebemos que houve uma alteração positiva da glicemia de jejum em camundongos DR, enquanto houve uma alteração negativa da glicemia em camundongos DHL Tp100 e DHL Orlistat10 (**Figura 34B**).

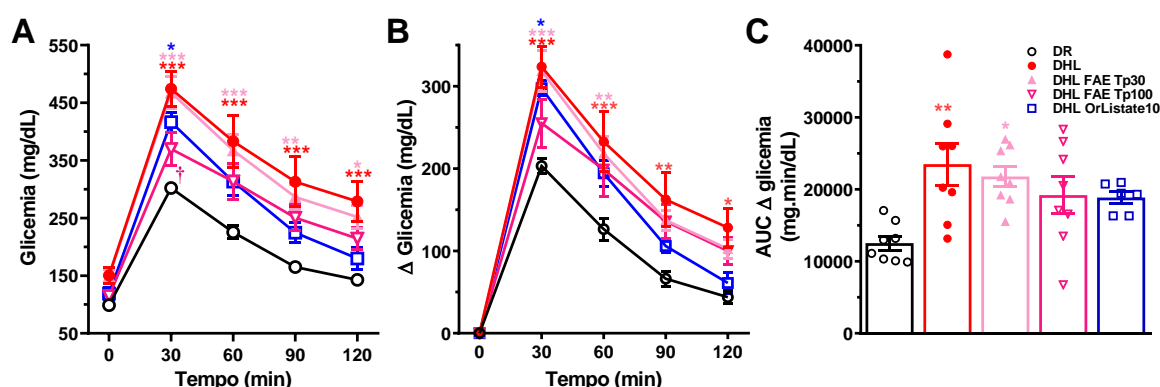


**Figura 34: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* na glicemia semanal em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) na glicemia semanal em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento na glicemia (A) e na variação ( $\Delta$ ) da glicemia (B). Análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. A análise estatística de coluna, seguida do teste t (One sample t test), foram utilizados para avaliar a variação intragrupo. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores estão representados como média  $\pm$  EPM de pelo menos 5 animais. \$  $P < 0,05$  versus zero, valor que representa a ausência de alteração de glicemia. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus camundongos DR. †  $P < 0,05$  versus camundongos DHL não-tratados.

No TTG, a glicose plasmática aumentou para o pico após 30 min de administração oral de glicose em todos os grupos, como ilustrado na **Figura 35 (A e B)**. O pico de glicemia dos camundongos DHL não tratados, assim como dos camundongos tratados com FAE (30 mg/kg) e com orlistate, foram significativamente superiores àquele dos camundongos DR (**Figura 35 A e B**). Os valores de glicemia de DHL e DHL FAE Tp30 continuam significativamente superiores aos valores de DR durante todo o tempo de análise (**Figura 35 A**). O pico de glicemia dos camundongos tratados com FAE (100 mg/kg) foi significativamente inferior ao observado nos camundongos DHL não tratados, mas não foram diferentes ao observado em camundongos DR (**Figura 35 A**). A correção da glicemia pelo

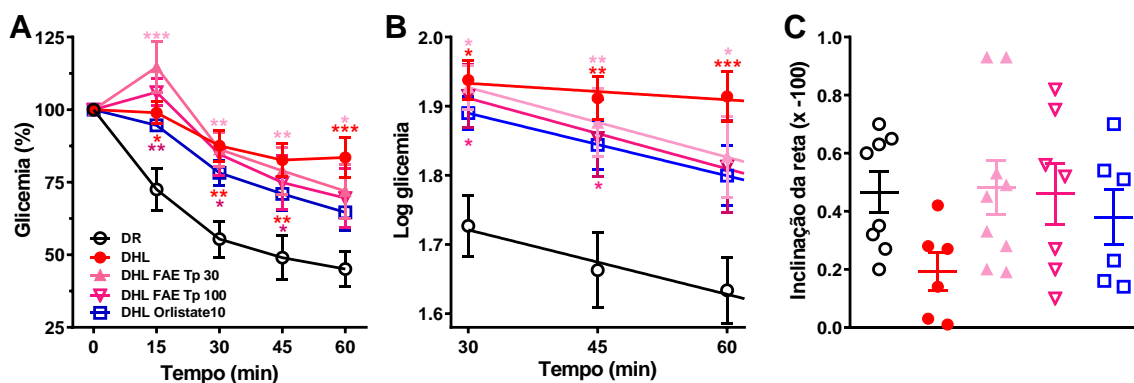


valor de glicemia basal de cada grupo, ilustrada na **Figura 35B**, confirma as diferenças nos picos de glicemia e a glicemia significativamente aumentada em camundongos DHL. No entanto, não é possível confirmar a diferença no pico de glicemia entre DHL FAE Tp100 e DHL. O aumento da glicemia em camundongos obesos também é confirmado nos cálculos de AUC da relação da variação ( $\Delta$ ) de glicemia com relação ao tempo (**Figura 35C**). Estes dados demonstram claramente que camundongos que receberam DHL/F desenvolveram intolerância à glicose, que pode ser um indicativo de RI. Os dados dos protocolos de TTG também permitem verificar que o tratamento crônico com FAE de *T. phaeocarpa* não produzem uma alteração marcante na intolerância à glicose. Contudo, o fato dos valores de glicemia dos camundongos tratados com FAE (100 mg/kg) não serem diferentes dos camundongos DR e a redução significativa na glicemia demonstrada na **Figura 35B**, podem sugerir uma redução na RI desenvolvida neste modelo animal. Por este motivo, a próxima etapa lógica será a avaliação da sensibilidade à insulina nestes camundongos.



**Figura 35: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* no teste de tolerância à glicose (TTG) em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) no teste de tolerância à glicose (TTG) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL), em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento na glicemia (A), na variação ( $\Delta$ ) da glicemia (B) e na área sob a curva (AUC) da relação glicemia x tempo (C). Análise de variância (ANOVA) de duas vias ou uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus DR. †  $P < 0,05$  versus DHL. As cores dos símbolos da análise estatística correspondem às cores dos parâmetros analisados.

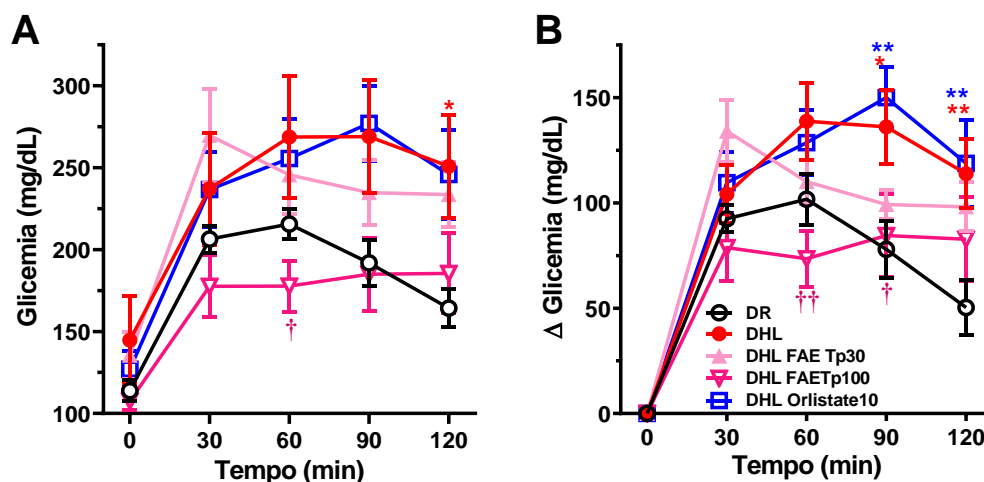
Os resultados do TSI demonstraram um rápido declínio da glicemia nos camundongos DR durante todos os tempos de análise (**Figura 36 A e B**). A curva da relação glicemia/tempo para os camundongos DHL não tratados foi significativamente deslocada para a direita em relação aos camundongos DR, demonstrando a redução da sensibilidade a insulina nestes camundongos (**Figura 36 A e B**). O tratamento com FAE não alterou significativamente o perfil da curva, demonstrando que os camundongos DHL tratados mantinham-se com baixa sensibilidade a insulina (**Figura 36 A e B**). Os camundongos tratados com orlistate apresentaram uma curva glicemia/tempo deslocada para a direita, sem diferença significativa com a curva dos camundongos DR ou DHL. Os resultados apresentados na **Figura 36B** sugerem uma alteração na inclinação de decaimento da glicemia nos camundongos tratados com FAE e orlistate, em comparação com a inclinação nos camundongos DHL não tratados. No entanto, quando os valores de inclinação são avaliados, não existe uma diferença significativa entre os diferentes grupos (**Figura 36 C**). Esta ausência de significância pode estar associada a grande variação nos resultados e ao curto período de análise (60 minutos).



**Figura 36: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* no teste de sensibilidade a insulina (TSI) em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) no teste de sensibilidade a insulina (TSI) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL), em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento na glicemia (A), na relação linear glicemia/tempo (B) e na inclinação da reta glicemia/tempo (C). Análise de variância (ANOVA) de duas vias ou uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*  $P < 0,001$  versus DR. As cores dos símbolos da análise estatística correspondem às cores dos parâmetros analisados.

DISSARD e colaboradores (2013) mostram que camundongos alimentados com a combinação DHL (45 % gordura) e frutose (30 % em solução), desenvolveram SM 4 semanas após o início da dieta e diabetes após 8 semanas (DISSARD *et al.*, 2013). Enquanto que, JEONG e KIM (2019) mostram que camundongos alimentados com a combinação DHL (60 % gordura) e frutose (10 % em solução), desenvolveram SM associada à obesidade e DMT2, 10 semanas após o início da dieta (JEONG e KIM, 2019). De fato, o diagnóstico de DMT2 pode também ser estabelecido baseando-se na GJP, TGP (glicemia após 2 horas de carga oral de glicose  $\geq 200$  mg/dL) e sensibilidade à insulina reduzida (BENADO *et al.*, 2004; CHO *et al.*, 2007; DEFRONZO *et al.*, 2015; HARRIS, 2005). Desta forma, os presentes resultados demonstram que o modelo animal utilizado apresenta um fenótipo característico de obesidade associada à DMT2.

No protocolo de TTP, a administração intraperitoneal de piruvato induziu um aumento rápido nos níveis de glicose plasmática em todos os grupos (**Figura 37A e B**). O pico de glicemia foi alcançado entre 30 e 90 minutos após a administração de piruvato nos grupos avaliados (**Figura 37A e B**). A comparação do nível de glicemia entre os grupos e sua respectiva significância estatística dependeu da maneira como a análise foi realizada. Observando a **Figura 37A** percebemos que os camundongos DHL não tratados apresentam diferença significativa na glicemia, com relação aos camundongos DR, somente 120 minutos após a administração de piruvato. Os outros grupos não apresentaram diferença significativa com relação a glicemia dos camundongos DR, enquanto que a comparação entre DHL tratados e não tratados demonstrou que somente aqueles tratados com FAE (100 mg/kg) apresentaram alteração significativa, somente no tempo de 60 minutos (**Figura 37A**). No entanto, quando o valor de glicemia é corrigido pelo valor de glicemia basal ( $\Delta$  glicemia), como ilustrado na **Figura 37B**, percebemos que os camundongos DHL não tratados e DHL tratados com orlistate apresentaram aumento significativo na glicemia nos tempos de 90 e 120 minutos em comparação com os camundongos DR. Quando a comparação foi realizada entre camundongos DHL não tratados e DHL tratados com FAE, percebemos que os camundongos tratados com FAE (100 mg/kg) apresentaram nível de glicemia significativamente reduzido nos tempos de 60 e 90 minutos após administração de piruvato (**Figura 37B**). Assim, além de GJP, TGP e RI, os camundongos que receberam DHL/F exibiram gliconeogênese aumentada e, como avaliado para as outras alterações, o tratamento com FAE de *T. phaecarpa* foi capaz de inibir esta disfunção.



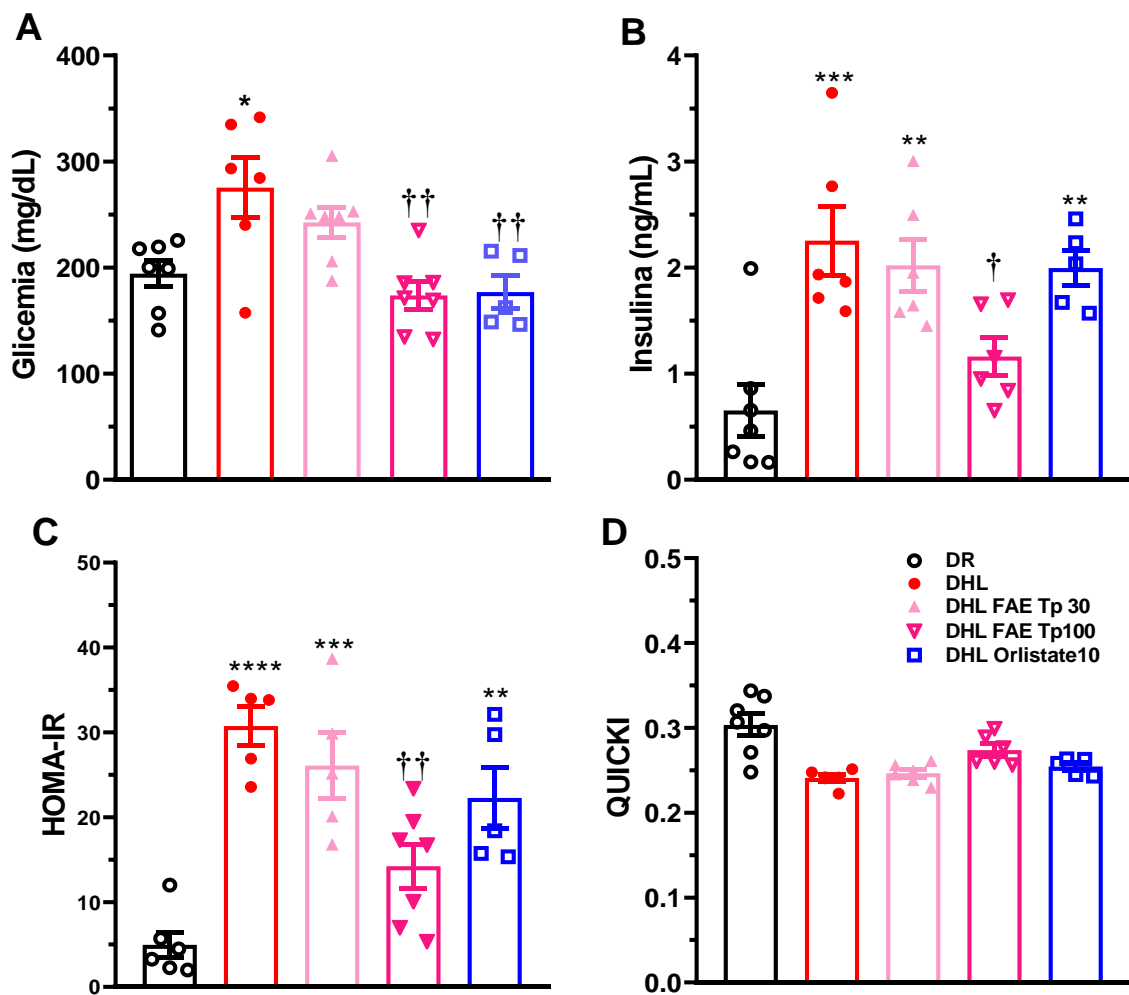
**Figura 37: Efeito do tratamento crônico com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa* no teste de tolerância ao piruvato (TTP) em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) no teste de tolerância ao piruvato (TTP) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL), em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento na glicemia (A) e na variação ( $\Delta$ ) da glicemia (B). Análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$  e \*\*  $P < 0,01$  versus DR. †  $P < 0,05$  e ††  $P < 0,01$  versus DHL. As cores dos símbolos da análise estatística correspondem às cores dos parâmetros analisados.

### 4.3.3 Efeito de *T. phaeocarpa* nos parâmetros sanguíneos e metabolismo hepático de glicose e triglicerídeos em camundongos com SM.

Os resultados apresentados no item 4.3.2 demonstram uma regulação disfuncional da glicemia nos camundongos alimentados com DHL/F. Por este motivo, parâmetros associados à regulação da glicemia e outros parâmetros plasmáticos marcadores do metabolismo foram avaliados nestes camundongos.

Inicialmente, a glicemia e o nível de insulina foram avaliados em camundongos em jejum. Estes valores permitiram calcular parâmetros reconhecidos como marcadores da capacidade de ação da insulina, tais como HOMA-IR e QUICKI. O HOMA-IR expressa a resistência à insulina hepática e pressupõe que ela seja semelhante a resistência periférica a

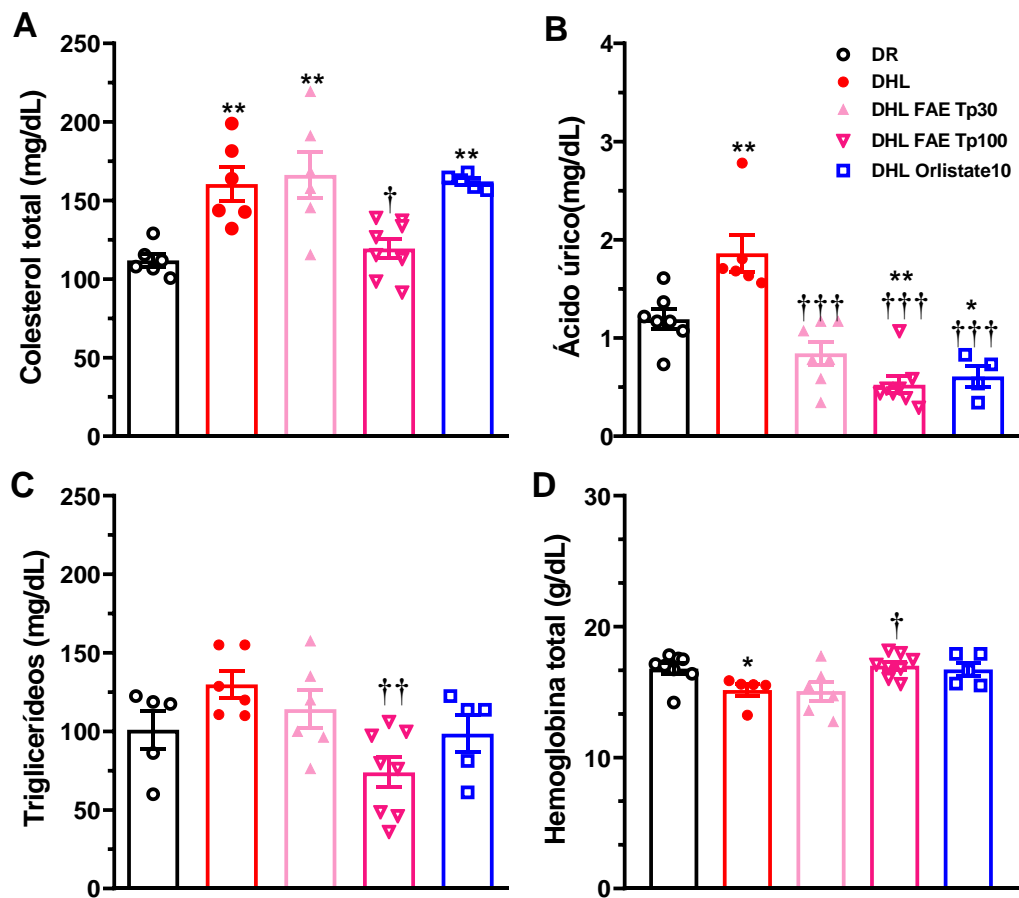
insulina. O índice qualitativo QUICKI possui a mesma base conceitual do HOMA IR, mas o QUICKI tem uma interpretação distinta, pois avalia a sensibilidade à insulina, no lugar da resistência (KATZ *et al.*, 2000; MATTHEWS *et al.*, 1985). Como ilustrado na **Figura 38**, os valores de glicemia em jejum estão significativamente aumentados nos camundongos DHL não tratados em comparação aos camundongos DR (**Figura 38A**), enquanto que o tratamento com FAE (100 mg/kg) e orlistate reduziu significativamente a glicemia em jejum para níveis similares ao observado em camundongos DR (**Figura 38A**). Com relação aos níveis séricos de insulina, camundongos DHL não tratados e aqueles DHL tratados com FAE (30 mg/kg) e orlistate apresentaram um aumento significativo (**Figura 38B**). O tratamento com FAE (100 mg/kg) reduziu significativamente os níveis séricos de insulina para valores próximos aos observados nos camundongos DR (**Figura 38B**). Os valores de HOMA-IR, baseados nos dados de glicemia e insulina citados acima, demonstraram que o tratamento com FAE (100 mg/kg) foi capaz de reduzir a RI nos camundongos DHL (**Figura 38C**). Estes resultados também demonstram que a RI está aumentada em camundongos DHL não tratados e não é revertida em camundongos tratados com FAE (30 mg/kg) e com orlistate (**Figura 38C**). Com relação aos valores de QUICKI, os resultados apresentados na **Figura 38D** demonstram que a sensibilidade a insulina está significativamente reduzida em camundongos DHL não tratados e não é revertida pelo tratamento com FAE ou orlistate. Esses resultados em conjunto estão de acordo com os resultados de TTG, TTP e TSI e apoiam a conclusão de que os camundongos submetidos à dieta tenham desenvolvido a SM, por apresentarem um quadro de obesidade associado à RI e ao DMT2. Por outro lado, os resultados ilustrados na **Figura 38** também demonstram que a FAE de *T. phaecarpa*, na dose 100 mg/kg, é capaz de reduzir a RI induzida pela dieta em camundongos.



**Figura 38: Efeito do tratamento crônico com a *T. phaeocarpa* nos marcadores séricos da sensibilidade à insulina em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento nos níveis séricos de glicose (A); insulina (B); e nos valores de índice HOMA-IR (C) e QUICKI (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  e e \*\*\*\*  $P < 0,0001$  versus camundongos DR. †  $P < 0,05$  e ††  $P < 0,01$  em versus camundongos DHL não-tratados.

Conforme ilustrado na **Figura 39A e C**, camundongos DHL não tratados apresentam níveis séricos significativamente altos de CT e ácido úrico, quando comparados aos camundongos DR. O tratamento com FAE (100 mg/kg) reduziu significativamente os níveis

de CT sérico, enquanto que FAE (30 mg/kg) e orlistate foram ineficazes (**Figura 39A**). Os níveis séricos de ácido úrico foram significativamente reduzidos pelo tratamento com FAE (30 e 100 mg/kg) e orlistate (**Figura 39B**). Vale a pena notar que os níveis de ácido úrico em camundongos DHL tratados com FAE (100 mg/kg) ficaram significativamente inferiores aos observados em camundongos DR. Embora os valores de TG de camundongos DHL não foram significativamente diferentes dos camundongos DR, o tratamento com *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) foi capaz de reduzir significativamente estes valores quando comparado com camundongos DHL não tratados, enquanto que o tratamento com FAE (30 mg/kg) e orlistate não produziu um efeito significativo (**Figura 39B**). Também Foi observado um nível significativamente baixo da hemoglobina total em camundongos DHL não tratados em comparação aos camundongos DR (**Figura 39D**). O tratamento crônico de camundongos DHL/F com FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) aumentou significativamente nível da hemoglobina total, enquanto isso, o tratamento crônico de camundongos DHL com FAE de *T. phaeocarpa* (30 mg/kg) e orlistat (10 mg/kg), impediu a queda do nível de hemoglobina (**Figura 39D**).

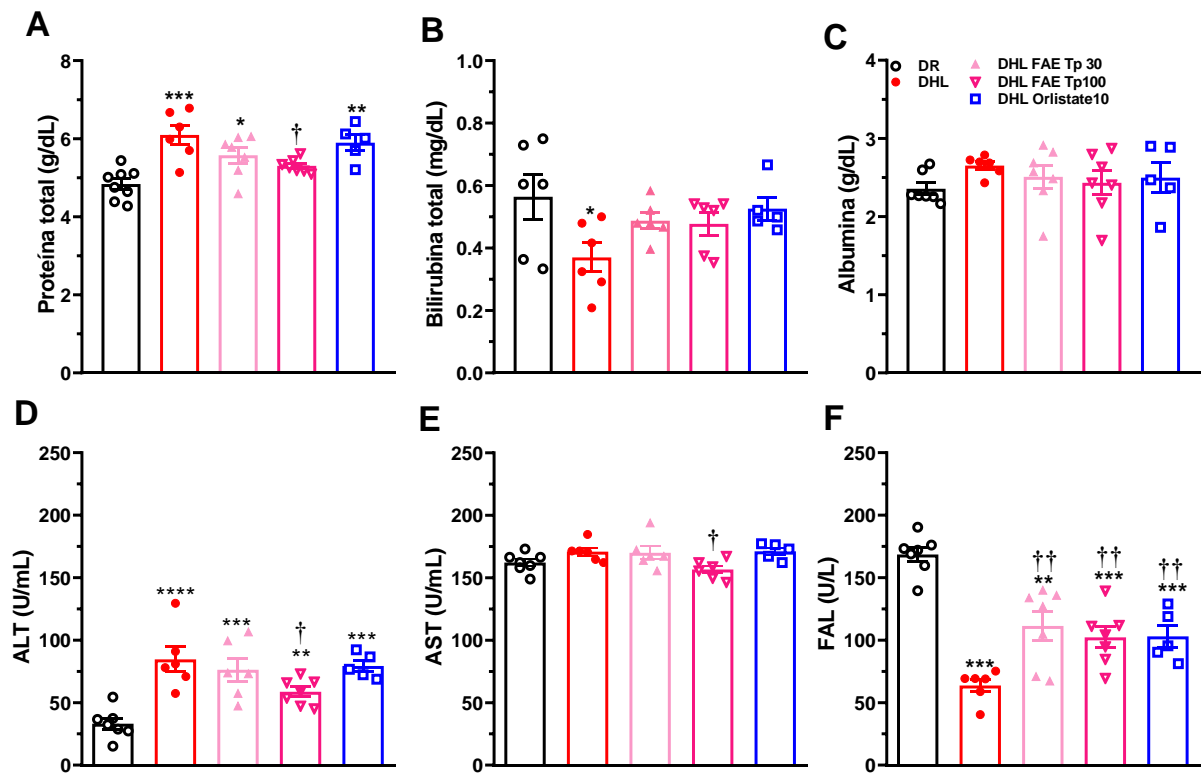


**Figura 39: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* nos níveis de lipídios, ácido úrico e hemoglobina em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que recebem dieta regular (DR). Efeito do tratamento nos níveis séricos de colesterol total (A), ácido úrico (B), triglicérides (C), e no nível sanguíneo de hemoglobina (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$  e \*\*  $P < 0,01$  versus camundongos DR. †  $P < 0,05$ , ††  $P < 0,01$  e †††  $P < 0,001$  versus camundongos DHL não-tratados.

A atividade de AST, ALT e FAL, e os níveis de PT, albumina e bilirubina séricos também foram avaliados. Conforme ilustrado na **Figura 40**, houve um aumento significativo nos níveis séricos de ALT e PT, enquanto os níveis séricos de FAL e bilirubina total foram significativamente reduzidos em camundongos DHL/F, quando comparado com os camundongos DR. O tratamento crônico de camundongos DHL/F com FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) diminuiu significativamente os níveis de ALT, PT e impediu a queda dos níveis



de FAL e bilirubina total (**Figura 40**). Enquanto isso, o tratamento crônico de camundongos DHL/F, tanto com FAE de *T. phaeocarpa* (30 mg/kg), quanto com orlistat (10 mg/kg), impediu a queda do nível de FAL, mas não melhorou níveis alterados de ALT, PT, e bilirubina (**Figura 40**). Não houve diferença significativa nos níveis séricos de albumina nem da atividade de AST entre os diferentes grupos, com exceção no grupo FAE Tp100, onde foi observado um nível significativamente reduzido de AST em comparação com os camundongos DHL não tratados (**Figura 40 C eD**). Vale a pena lembrar que os camundongos DHL/F desenvolveram hepatomegalia, devido à massa aumentada do fígado, em comparação com os camundongos DR. Essas informações, junto com os resultados de TFH sugerem que camundongos alimentados por 16 semanas com DHL/F desenvolveram danos hepáticos.

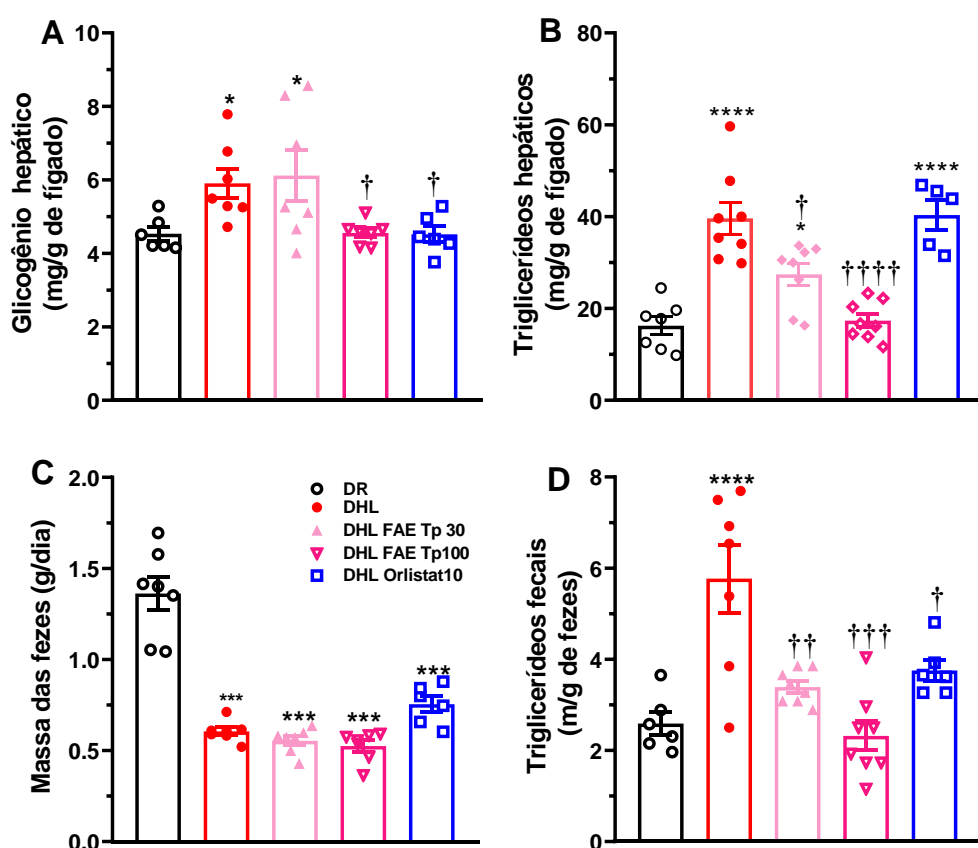


**Figura 40: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* nos parâmetros séricos da função hepática em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento nos níveis séricos de proteína total (A), bilirubina total (B), albumina (C), alanina aminotransferase (ALT; D), aspartato aminotransferase (AST; E), e fosfatase alcalina (FAL; F). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$ , \*\*\*  $P < 0,001$  e \*\*\*\*  $P < 0,0001$  versus camundongos.

A SM está relacionada com a homeostase prejudicada de glicose e lipídios em vários órgãos, incluindo o fígado e o intestino. Os resultados anteriores deste trabalho demonstram claramente a homeostase de glicose e lipídio prejudicada em camundongos alimentados com DHL/F. O fígado e o intestino são envolvidos na homeostase destes parâmetros. Por este motivo, neste trabalho avaliamos o efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* no metabolismo hepático de glicose e lipídios. Assim os níveis hepáticos de glicogênio e TG,

bem como a atividade de PEPCK, GP e PTP1-B no fígado de camundongos com SM foram avaliados. Os níveis de TG fecais também foram avaliados.

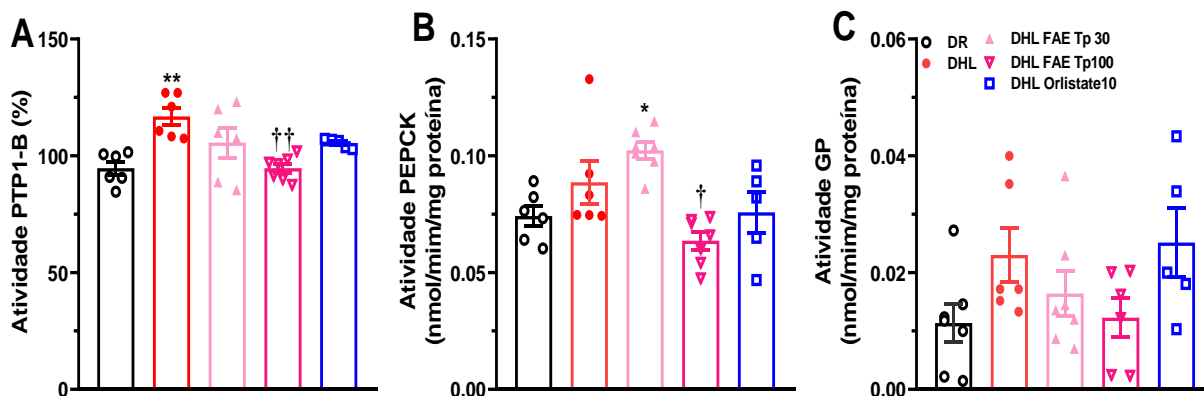
Os níveis de glicogênio e TG hepáticos, bem como TG fecais, foram significativamente elevados em camundongo DHL em comparação com os camundongos DR (**Figura 41 A, B e D**). Quando comparados com os camundongos DHL não tratados, camundongos DHL tratados com FAE de *T. phaeocarpa* apresentaram níveis significativamente reduzidos de glicogênio e TG hepáticos, e TG fecais, com exceção do glicogênio hepático em camundongo tratados com a dose menor de FAE *T. phaeocarpa* (**Figura 41 A, B e D**). Quando comparados com os camundongos DHL não tratados, camundongos DHL tratados com orlistate (10 mg/kg), apresentaram níveis significativamente reduzidos apenas de glicogênio hepático e TG hepáticos (**Figura 41 A e D**). A massa das fezes de camundongos DR foi significativamente alta em comparação a das fezes de camundongos DHL. Não houve diferença significativa entre a massa das fezes entre os camundongos DHL não tratados e os camundongos DHL tratados (**Figura 41C**).



**Figura 41: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* nos níveis hepáticos de glicogênio e triglicerídeos, na massa e nível de triglicerídeos fecais em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL) em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento nos níveis hepáticos de triglicerídeos (A) e glicogênio (B); na massa das fezes (C) e triglicerídeos fecais (D). Análise de variância (ANOVA) de uma via, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$  e \*\*\*\*  $P < 0,0001$  versus camundongos DR. †  $P < 0,05$ , ††  $P < 0,01$ , †††  $P < 0,001$  e ††††  $P < 0,0001$  versus camundongos DHL não-tratados.

A atividade da enzima PTP1-B hepática foi significativamente aumentada em camundongos DHL/F em comparação com os camundongos DR (**Figura 42A**). O tratamento crônico de camundongos DHL/F com a FAE de *T. phaeocarpa* foi capaz de reduzir significativamente a atividade de PTP1-B hepática somente na dose maior (**Figura 42A**). O tratamento crônico de camundongos DHL/F com a orlistate (10 mg/kg) falhou em impedir o

aumento da atividade da enzima PTP1-B hepática (**Figura 42A**). Não houve diferença estatisticamente significativa na atividade da enzima PEPCCK hepática em camundongos DHL/F quando comparada com os camundongos DR, com exceção dos camundongos DHL/F tratados com FAE de *T. phaeocarpa* (30mg/kg), onde foi observada uma a atividade aumentada dessa enzima (**Figura 42B**). No entanto, a atividade da PEPCCK hepática em camundongos DHL/F tratados com FAE de *T. phaeocarpa* (100mg/kg) foi significativamente reduzida em comparação com os camundongos DHL/F não-tratados (**Figura 42B**). Não houve também diferença na atividade da enzima GP hepática entre os diferentes grupos (**Figura 42 C**).



**Figura 42: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* na atividade de enzimas hepáticas em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL). Efeito do tratamento na atividade de enzimas hepáticas em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento na atividade hepática de proteína tirosina fosfatase 1-B (PTP1-B; (A)), fosfoenolpiruvato carboxiquinase (PEPCCK; (B)) e glicogênio fosforilase (GP; (D)). Análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$  e \*\*  $P < 0,01$  versus camundongos DR. †  $P < 0,05$  e ††  $P < 0,01$  versus camundongos DHL não-tratados.

Nossa escolha para dieta rica em gorduras associada a frutose foi motivada por sua alta similaridade com a atual dieta humana ocidental, e pelo painel de sintomas que esta dieta causa. Os resultados deste estudo demonstram claramente que os camundongos alimentados

com a DHL/F desenvolveram a SM associada à obesidade, GJP, IG, RI, o que apoiam o uso do modelo DHL/F como um dos modelos ideais para o estudo da SM (DELLA VEDOVA *et al.*, 2016; JEONG e KIM, 2019; LOZANO *et al.*, 2016). A ingestão calórica excessiva geralmente prejudica a homeostase de glicose, causando IG e RI, umas das características da SM e do DMT2 (CANI *et al.*, 2007; MORINO *et al.*, 2008). A homeostase da glicose é regulada pelo equilíbrio entre gliconeogênese, glicogênese, glicogenólise e o metabolismo de glicose. A gliconeogênese é um processo crítico para converter substratos de carbono não carboidrato, como piruvato, glicerol e lactato, em glicose, regulando assim o metabolismo de glicose em humanos (MENG *et al.*, 2013). A gliconeogênese acelerada resulta de muitos fatores, incluindo aumento da oferta de precursores, alterações no meio hormonal, adaptações intra-hepáticas e RI (COMMERFORD *et al.*, 2002; MENG *et al.*, 2013). Nos tecidos periféricos, como músculo esquelético e tecido adiposo, a insulina regula a captação de glicose, enquanto no fígado, suprime a gliconeogênese. Além disso, a insulina estimula a lipogênese pós-prandial e a síntese de glicogênio e proteína, mas inibe a lipólise, a glicogenólise e o catabolismo de proteínas (SALTIEL e KAHN, 2001). O comprometimento da via de sinalização da insulina está associado ao aumento da expressão e da atividade da PEPCK, umas das enzimas chave da gliconeogênese e da produção de glicose hepática (O'BRIEN e GRANNER, 1996; WHITEMAN *et al.*, 2002).

O consumo de frutose a curto e longo prazo é capaz de interromper a via de sinalização da insulina, levando a um padrão de hiperglicemia acompanhado de hiperinsulinemia compensatória (COATE *et al.*, 2013). A hiperglicemia e a hiperinsulinemia ocorrem possivelmente porque, no fígado, a frutose ativa as proteínas quinases ativadas por mitogênio (MAPK) tais que MKK7 (proteína quinase quinase ativada por mitogênio 7) e MAPK8 (proteína quinase ativada por mitogênio 8), induzindo a fosforilação da serina do receptor IRS-1. Esse fenômeno, por sua vez, suprime a captação de glicose, levando ao aumento dos níveis de glicose no sangue e ao aumento concomitante da secreção de insulina (LIM *et al.*, 2010). Embora não tenhamos avaliado o IRS-1, a redução da sua fosforilação no fígado dos animais alimentados com frutose está relacionada à RI neste modelo (BEZERRA *et al.*, 2000). Nossos dados indicam que, o consumo excessivo de frutose e lipídios favoreceu o desenvolvimento de RI, evidenciada pelos altos níveis séricos de glicose e insulina, com o índice de QUICKI reduzido, bem como o aumento de índice HOMA-IR.

Sabe-se que a hiperuricemia é um contribuinte importante na fisiopatologia da RI e da SM (NAKAGAWA *et al.*, 2006 ; JIA *et al.*, 2014; LOZANO *et al.*, 2016). Além disso, a RI é

também caracterizada pela atividade aumentada da PTP1-B (GAO *et al.*, 2010). Mostramos neste estudo que, camundongos DHL desenvolveram RI junto com alto nível sérico de ácido úrico, bem como atividade excessiva da PTP1-B hepática. A melhora da sensibilidade à insulina em camundongos DHL FAE100, devido ao tratamento, foi associada a baixo nível sérico de ácido úrico, assim como na atividade reduzida da PTP1-B hepática. Estes resultados sugerem que os efeitos hipouricêmico e inibitório da PTP1-B, devido ao tratamento com *T. phaeocarpa* seriam envolvidos na melhora da sensibilidade à insulina. Camundongos DHL resistentes à insulina também exibiram neoglicogênese comprometida, destacada neste trabalho pelos resultados de TTP, também pela atividade aumentada da PEPCK hepática. A melhora da sensibilidade à insulina em camundongos DHL FAE100 resultou também à melhora da neoglicogênese comprometida pela dieta, e portanto, à redução dos níveis séricos de glicose e lipídios.

Níveis elevados de TG e/ou CT séricos e hepáticos, bem como altos níveis séricos de ácido úrico, desempenham papéis importantes no desenvolvimento de doenças hepáticas (NAKAGAWA *et al.*, 2006; LIM *et al.*, 2010). No fígado, a frutose favorece a produção contínua de acetil-CoA, que é convertido em citrato e malonil-CoA (DELARUE *et al.*, 1996). O citrato é o combustível do processo conhecido como lipogênese de novo (LDN), que contribui para o aumento da lipogênese hepática. O malonil-CoA por sua vez inibe a atividade da carnitina palmitoil transferase (CPT-1), impedindo a oxidação mitocondrial do ácido graxo livre (AGL). Além disso, a frutose ativa fatores de transcrição que controlam a síntese de enzimas da LDN, tais que acetil-CoA carboxilase (ACC) e sintase de ácidos graxos (FAS, *fatty acid synthase*) (DELARUE *et al.*, 1996; MCGARRY, 1995). Tudo isso resulta na oxidação reduzida de AGL que, conseqüentemente, são reesterificados com glicerol para formar TG, VLDL. Como resultado, há um aumento da LDN e acumulação hepática de TG, levando a doença hepática gordurosa não alcoólica (LIM *et al.*, 2010). No presente estudo, não avaliamos a esteatose hepática, mas o TFH foi avaliado. Os dados de TFH mostram que em camundongos DHL/F houve alterações dos níveis séricos de PT, bilirubina, ALT, e FAL, que podem ser um reflexo da presença de lesões hepáticas (ABOLFATHI *et al.*, 2012; GHANBARI *et al.*, 2016; GHOSH *et al.*, 2015 ; SAFHI *et al.*, 2019). O tratamento de camundongos com FAE de *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) foi capaz de melhorar essas alterações. *T. phaeocarpa* tem efeitos metabólicos benéficos, que lhe conferem propriedade hepatoprotetora, atribuída provavelmente ao seu conteúdo em polifenóis. Por este motivo, acreditamos que *T. phaeocarpa* tem um potencial efeito regulador da homeostase metabólica.

A homeostase metabólica é um termo genérico que pode ser definido como a capacidade de manter um equilíbrio de substratos em resposta a vários estímulos desafiadores (incluindo exercícios e nutrição). A homeostase metabólica é frequentemente caracterizada como a capacidade de manter as concentrações de glicose ou lipídios no sangue dentro de uma faixa que não aumenta o risco de doença (EDINBURGH *et al.*, 2017). A ingestão de frutose tem sido implicada para desempenhar um papel importante nas alterações da homeostase metabólica (TAPPY, 2018; TAPPY e LÊ, 2010). O consumo excessivo de frutose pode causar sérios prejuízos à saúde, o fígado sendo o alvo principal (COATE *et al.*, 2010). O fígado é crucial para a manutenção da homeostase de glicose: produz glicose durante o jejum e armazena glicose pós-prandial. O fígado desempenha assim funções opostas durante os estados hipoglicêmico (glicogenólise e gliconeogênese) e hiperglicêmico (captação de glicose e síntese de glicogênio), portanto a regulação fisiológica da produção hepática de glicose é um processo complexo (PETERSEN *et al.*, 2017). A conversão de glicose em glicogênio é uma via importante pela qual o fígado remove a glicose da veia porta após uma refeição (FEINMAN e FINE, 2013). Esse aumento do glicogênio hepático pode representar um mecanismo de proteção contra o acúmulo de gordura no fígado (LÓPEZ-SOLDADO *et al.*, 2015) e contra a hiperglicemia (ROS *et al.*, 2011). Os resultados deste trabalho mostram que, camundongos alimentados com DHL/F apresentaram níveis elevados de glicogênio hepático. No entanto, contrariamente ao esperado, camundongos alimentados com DHL/F em nosso estudo, desenvolveram hiperglicemia associada à LDN hepática prejudicada. Resultados semelhantes foram descritos por LOZANO e colaboradores (2016), onde ratos alimentados com a associação DHL/F por 4 meses, levou a hiperglicemia junto com altos níveis de glicogênio hepático. Essa desregulação, observada em nosso estudo, estaria associada aos efeitos deletérios do consumo excessivo de frutose, que participariam, entre outras coisas, do desenvolvimento de fenótipos semelhantes aos da doença de armazenamento de glicogênio (DDAG, *glycogen storage disease*) nesses camundongos. O consumo excessivo de frutose aumenta acentuadamente a síntese hepática de glicogênio, bem como a LDN hepática (HENGIST *et al.*, 2019). A DDAG, onde os estoques de glicogênio estão saturados, a LDN hepática também é acentuadamente aumentada (BANDSMA *et al.*, 2008). Os estoques de glicogênio no fígado podem ficar "saturados" em cenários em que a frutose é ingerida em grandes quantidades, quando o glicogênio não é utilizado com uma taxa alta (durante condições do sedentarismo), ou uma combinação dessas duas condições e, portanto, o excesso de carboidrato é convertido em lipídios (HENGIST *et al.*, 2019). A DDAG é uma doença



metabólica genética rara, devido a um comprometimento da atividade da glicose 6-fosfatase (G6Pase) (CHOU, 2001; JANECKE *et al.*, 2001), resultando em acúmulo excessivo de glicogênio e gordura no fígado, rim e mucosa intestinal (KISHNANI *et al.*, 2014). A DDAG pode ser também adquirida, os sintomas incluem intolerância severa ao jejum, hepatomegalia (devido ao acúmulo de TG e glicogênio no fígado), hiperuricemia e hiperlipidemia, nefromegalia (FROISSART *et al.*, 2011; GJORGJIEVA *et al.*, 2016; KISHNANI *et al.*, 2014), esteatose hepática, insuficiência intestinal e renal (SAEED *et al.*, 2020) cardiomiopatia hipertrófica, fibrose hepática e cirrose (BHATTACHARYA, 2015).

Foram observados neste estudo, altos níveis de TG nas fezes de camundongos com SM. É geralmente percebido o alto conteúdo de TG nas fezes associado a baixos níveis séricos de TG. No entanto, nossos resultados mostram que altos níveis de TG fecal em camundongos com SM estão associados à hiperlipidemia. Enquanto que, camundongos DHL tratados com *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) apresentaram níveis reduzidos de TG fecais, associados a baixos níveis de TG séricos. É provável que os níveis altos de TG observados nas fezes de camundongos com SM estejam associados, não a uma redução da atividade da lipase do trato gastrointestinal, mas a um acúmulo de lipídios na mucosa intestinal. Esse acúmulo de lipídios na mucosa intestinal seria provavelmente uma das consequências do desenvolvimento, pelos camundongos com SM, de fenótipos semelhantes aos da DDAG. Esses resultados mostram ainda mais que, *T. phaeocarpa* possui propriedades metabólicas muito interessantes, com efeitos pleiotrópicos.

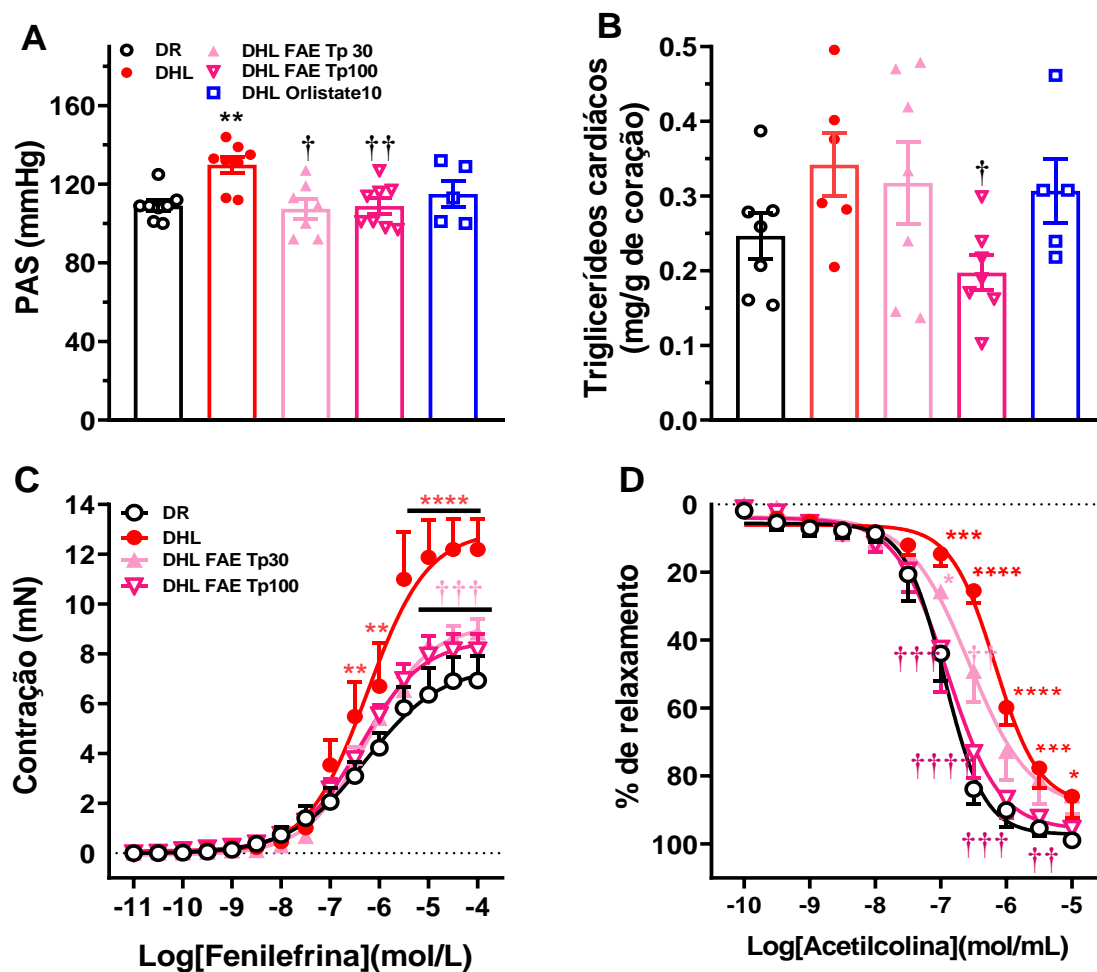
#### **4.3.4 Efeito da *T. phaeocarpa* nos parâmetros da função vascular de camundongos com SM.**

Mostramos neste trabalho que, os camundongos alimentados por 16 semanas com DHL/F desenvolveram RI junto com dislipidemia. A dislipidemia e a RI estão também associadas a hipertensão e a disfunção endotelial. Sabe-se que alto consumo de frutose ou DHL isoladamente, ou em associação, causa hipertensão arterial e disfunção endotelial em roedores (AKAR *et al.*, 2012; JANG *et al.*, 2013; NYBY *et al.*, 2007; TRAN *et al.*, 2009). A relação recíproca entre a função endotelial e a sensibilidade à insulina é um contribuidor fisiológico que liga o metabolismo e as funções cardiovasculares (BARON, 2002; KIM *et al.*, 2008). A dislipidemia sistêmica pode levar à lipotoxicidade dos cardiomiócitos, o acúmulo de TG no coração e conseqüentemente à hipertrofia e disfunção cardíaca (GOLDBERG *et al.*, 2012; SCHILLING e MANN, 2012). Baseando-se nas interações entre RI, dislipidemia /

lipitoxicidade cardíaca, hipertensão e disfunção endotelial, por um lado, e nos efeitos de *T. phaeocarpa* sobre a lipídemia e a sensibilidade à insulina, por outro lado, foram avaliados neste trabalho a PAS, níveis de TG cardíacos e a função vascular de camundongos alimentados com HFD / F.

A PAS foi monitorada em camundongos previamente treinados por 2 semanas. No final do tratamento, camundongos DHL não tratados exibiram alta PAS, em comparação com camundongos DR (**Figura 43A**). Tratamento crônico de camundongos DHL com *T. phaeocarpa*, nas doses testadas, foi capaz de reduzir significativamente a PAS (**Figura 43A**). Enquanto que o tratamento de camundongos DHL com orlistate (10 mg/kg) não foi capaz de impedir o aumento da PAS (**Figura 43A**). Embora os valores de TG cardíacos de camundongos DHL não foram significativamente diferentes dos camundongos DR, o tratamento com *T. phaeocarpa* (100 mg/kg) foi capaz de reduzir significativamente estes valores quando comparado com camundongos DHL não tratados, enquanto que o tratamento com FAE (30 mg/kg) e orlistate não produziu um efeito significativo (**Figura 43B**).

A função vascular foi avaliada em artérias mesentéricas de camundongos, examinando as respostas contráteis e vasodilatadoras induzidas por fenilefrina e acetilcolina, respectivamente. Conforme ilustrado na **Figura 43C**, os vasos isolados de camundongos DHL não tratados exibiram disfunções contráteis, destacadas pelo aumento da resposta contrátil máxima induzida por fenilefrina, em comparação as dos vasos isolados de camundongos DR. No entanto, não houve diferença significativa entre os grupos com relação aos valores de pEC<sub>50</sub> para o efeito da fenilefrina (**Tabela 4**). Vasos isolados de camundongos DHL não tratados exibiram função endotelial prejudicada, ilustrada pelo significativo deslocamento para a direita da curva concentração-resposta vasodilatadora para a acetilcolina (**Figura 43D**), confirmada pela diferença significativa dos valores de pEC<sub>50</sub> em comparação com os camundongos DR (**Tabela 4**). As disfunções endotelial e contrátil observadas nos vasos isolados de camundongos DHL foram significativamente inibidas em vasos isolados de camundongos DHL tratados com a menor dose de *T. phaeocarpa*; porém, elas foram abolidas em vasos isolados de camundongos tratados com a maior dose de *T. phaeocarpa* (**Figura 43C e D**).



**Figura 43: Efeito do tratamento crônico com *T. phaeocarpa* na função cardiovascular em camundongos com SM.** Efeito do tratamento com a fração acetato de etila (FAE) de *T. phaeocarpa*, nas doses de 30 mg/kg (DHL FAE Tp30) e 100 mg/kg (DHL FAE Tp100), e orlistate (DHL Orlistat10) em camundongos que receberam dieta hiperlipídica (DHL). Efeito do tratamento função cardiovascular em relação a camundongos não tratados que receberam dieta regular (DR). Efeito do tratamento na pressão arterial sistólica (PAS; (A)), nos triglicerídeos cardíacos (B). Resposta contrátil da fenilefrina (C) e vasodilatadora da acetilcolina (D) em artérias mesentéricas. Análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os valores representam a média  $\pm$  erro padrão da média de pelo menos 5 animais. \*  $P < 0,05$ , \*\*  $P < 0,01$  e \*\*\*\*  $P < 0,0001$  versus camundongos DR. †††  $P < 0,001$  e ††††  $P < 0,0001$  versus camundongos DHL não-tratados.

**Tabela 4: Valores de pCE50 para o efeito de fenilefrina e acetilcolina nos vasos de camundongos SM tratados com a fração acetato de etila (FAE) *T. phaeocarpa*.**

	DR	DHL	DHL EAF Tp30	DHL EAF Tp100
<b>Fenilefrina</b>	6,61 ± 0,38	6,86 ± 0,20	6,21 ± 0,16	6,17 ± 0,18
<b>Acetilcolina</b>	7,00 ± 0,09	6,22 ± 0,03**	6,46 ± 0,20	6,90 ± 0,16††

Os valores de pCE<sub>50</sub> são expressos como -log da concentração efetiva que induz 50% da resposta máxima (CE<sub>50</sub>). CE<sub>50</sub> foi calculada usando curva de regressão não linear. Análise de variância (ANOVA) de uma via seguida do pós-teste de Tukey, foram utilizados para comparar os grupos. Valores de  $p < 0,05$  foram considerados estatisticamente significantes. Os resultados são expressos como média ± erro padrão da média de de pelo menos 5 animais. \*\*  $P < 0,01$  versus camundongos DR. ††  $P < 0,01$  versus camundongos DHL não-tratados.

A disfunção endotelial resulta de um fenótipo mal adaptado de células endotélias, caracterizado por biodisponibilidade reduzida de óxido nítrico (NO), aumento do estresse oxidativo, expressão elevada de fatores pró-inflamatórios e pró-trombóticos e redução da produção de vasodilatadores derivados do endotélio (RAJWANI *et al.*, 2012). A disfunção endotelial pode ocorrer através da interação entre vários mecanismos. Existe uma interconexão entre o consumo excessivo de frutose, hiperuricemia, obesidade, SM e a disfunção endotelial (JIA *et al.*, 2014; LOZANO *et al.*, 2016; NAKAGAWA *et al.*, 2006). As consequências do metabolismo de frutose podem resultar em depleção intracelular de ATP, aumento da produção de ácido úrico, estresse oxidativo, inflamação e aumento da lipogênese, o que estão associados à disfunção endotelial (JIA *et al.*, 2014). Embora o ácido úrico pareça desempenhar atividade antioxidante no ambiente extracelular (So e Thorens, 2010), ele tem efeitos prejudiciais assim que entra nas células, incluindo células endotélias, células do músculo liso vascular e adipócitos. O efeito prejudicial do ácido úrico inclui inibição da produção de NO, indução da agregação plaquetária e atividade pró-inflamatória (SOLTANI *et al.*, 2013). Assim, a hiperuricemia agrava a disfunção endotelial, aumentando o estresse oxidativo e a inflamação (JINDAL *et al.*, 2013). Os resultados deste trabalho demonstram que camundongos alimentados com frutose por 16 semanas exibiram alto nível de ácido úrico junto

com à RI. Assim, a disfunção endotelial observada em camundongos com SM não tratados pode estar associada à RI devido, pelo menos em parte, à hiperuricemia.

Há uma correlação entre níveis baixos de ácido úrico observados em camundongos tratados com *T. phaeocarpa* e a disfunção endotelial melhorada ou abolida nesses camundongos. Esses resultados sugerem que o efeito hipouricêmico de *T. phaeocarpa* contribui à melhora da função endotelial em camundongos DHL tratados. De fato, a hiperuricemia assintomática em humanos também está associada à disfunção endotelial. A redução do ácido úrico com alopurinol melhora a função endotelial (JIA *et al.*, 2014). O alopurinol melhora uma série de características da SM em ratos alimentados com frutose, incluindo hipertensão, hipertrigliceridemia, hiperinsulinemia e RI (JOHNSON *et al.*, 2009).

No entanto, podem haver outros mecanismos envolvidos na melhora da função endotelial observada em camundongos DHL tratados com *T. phaeocarpa*. A disfunção endotelial também está associada à dislipidemia. A obesidade está associada ao aumento de TG e ácidos graxos circulantes, responsável pela ativação de respostas pró-inflamatórias. O aumento de citocinas inflamatórias, incluindo IL-6, IL-8 e TNF, liga a RI à disfunção endotelial (GARCIA *et al.*, 2010; HOTAMISLIGIL, 2005; KAO *et al.*, 2006 ; KIM *et al.*, 2005). Assim, melhorar a dislipidemia reduziria os riscos de alta PAS, esteatose e hipertrofia cardíaca, e disfunção endotelial. De fato, MADKHALI e colaboradores (2019) mostram que extrato de *Moringa oleifera* atenua a disfunção endotelial induzida por DHL em ratos por meio da sua atividade anti-hiperlipidêmica (MADKHALI *et al.*, 2019). Os resultados deste trabalho demonstram também que camundongos DHL tratados com *T. phaeocarpa* (100 mg/kg), apresentaram níveis baixos de TG e CT, sugerindo que a melhora da função endotelial devido ao tratamento de com *T. phaeocarpa* seria também associada ao seu efeito antihiperlipidêmico. Esses efeitos vasoprotetores podem ser atribuídos à presença de compostos polifenóis na FAE de *T. phaeocarpa*. De fato, vários trabalhos na literatura mostram os efeitos benéficos dos polifenóis no sistema cardiovascular. Por exemplo, quercetina, polifenol encontrado em várias plantas e frutas, exibe efeitos vasoprotetores em roedores com distúrbios metabólico induzidos por frutose e/ou DHL (AKAR *et al.*, 2012; JANG *et al.*, 2013; KUNASEGARAN *et al.*, 2017).

# CONCLUSÃO

## 5 CONCLUSÃO

Em resumo, este trabalho teve como objetivos: avaliar os efeitos de *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* sobre a atividade das enzimas  $\alpha$ -glicosidase intestinal,  $\alpha$ -amilase e lipase pancreática; investigar os efeitos de *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* em modelo murino de DMT2 induzido por NA/STZ/frutose; e investigar os efeitos de *T. phaeocarpa* em modelo murino de SM induzida por dieta hiperlipídica e frutose. De acordo com os resultados presentes neste trabalho, resumizamos os principais achados:

- *T. glabrescens* e *T. phaeocarpa* apresentam efeitos inibitórios sobre a atividade de  $\alpha$ -glicosidase,  $\alpha$ -amilase e lipase.
- *T. glabrescens* exibe efeitos antidiabéticos moderados em camundongos com diabetes induzido por NA/STZ/frutose,
- *T. phaeocarpa*, além de apresentar efeitos antidiabéticos, tem também potencial terapêutico para o tratamento da SM.
- *T. phaeocarpa*, exerce seu efeito anti diabético e anti SM atuando em parte pela inibição da atividade da  $\alpha$ -glucosidase e lipase, aumentando a sensibilidade à insulina, inibindo a lipogênese de novo e a gliconeogênese, bem como através do seu efeito protetor no sistema cardiovascular e no fígado,
- *T. phaeocarpa* possui efeitos metabólicos benéficos pleiotrópicos devido a seu conteúdo em vários compostos fenólicos.

Estas observações nos permitem concluir, por um lado, que as folhas de *T. glabrescens* exercem efeito antidiabético moderado em comparação ao efeito observado com *T. phaeocarpa*. O efeito antidiabético moderado de *T. glabrescens* poderia estar devido à via pela qual o extrato foi administrado ou à biodisponibilidade reduzida dos componentes bioativos presentes no extrato das folhas. Talvez ao mudar a via de administração ou aumentar a dose administrada, melhorasse os efeitos farmacológicos de *T. glabrescens*. No entanto, a inibição da  $\alpha$ -glicosidase esta envolvida no mecanismo de ação da atividade antidiabética de *T. glabrescens*. Este estudo fornece assim uma base para futuras investigações de potenciais inibidores de  $\alpha$ -glicosidase das folhas de *T. glabrescens*, para tratamento futuro de DMT2.

Por um lado, os achados deste trabalho nos permitem concluir que *T. phaeocarpa* exerce efeito anti-diabético e anti-SM dependente da dose. O EB das folhas de *T. phaeocarpa* e sua FAE são uma mistura de diferentes compostos fenólicos como rutina, ácido elágico, quercetina, kaempferol e ácido chebulágico, descritos na literatura por seus diversos efeitos

anti-diabético e anti-obesidade. *T. phaeocarpa* demonstrou ter uma variedade de atividades farmacológicas, como atividade hipoglicêmica, hipolipidêmica, hipouricêmica e antioxidante. Isso pode ser atribuído à variedade de compostos fenólicos presentes neste extrato e fração. Os resultados de nosso estudo apontam para múltiplos órgãos e mecanismos envolvidos nessas atividades farmacológicas. Os componentes bioativos derivados de *T. phaeocarpa* podem atingir diferentes órgãos ou tecidos ao longo do eixo intestino-fígado-vascular. A inibição da atividade de  $\alpha$ -glucosidase e lipase, a melhora funcional e / ou estrutural da microbiota intestinal, o aumento da sensibilidade à insulina e a atividade vasoprotetora contribuem para o mecanismo de *T. phaeocarpa*. Uma das principais limitações do nosso estudo é que os mecanismos de ação do extrato e fração de *T. phaeocarpa* não foram elucidados. Além disso, os componentes individuais do extrato não foram estudados por suas propriedades farmacológicas. Estudos adicionais sobre exatos mecanismos de ação desse extrato, e o isolamento do compostos ativos em estado puro devem ser realizados. É necessário descobrir quais dos constituintes acima ou outros são responsáveis pelas atividades farmacológicas observadas no presente estudo. Portanto, este estudo também fornece uma base para futuras investigações de novos inibidores de  $\alpha$ -glucosidase e lipase, bem como sensibilizadores de insulina para o tratamento de pacientes com síndrome metabólica e doenças relacionadas.



# REFERÊNCIAS

## 6 REFERÊNCIAS

ABBASI, F. *et al.* Relationship between obesity, insulin resistance, and coronary heart disease risk. **Journal of the American College of Cardiology**, [S. l.], v. 40, n. 5, p. 937–943, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0735-1097\(02\)02051-x](https://doi.org/10.1016/s0735-1097(02)02051-x)

ABDELAZIZ, D. H. A.; ALI, S. A.; MOSTAFA, M. M. A. Phoenix dactylifera seeds ameliorate early diabetic complications in streptozotocin-induced diabetic rats. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 53, n. 6, p. 792–799, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.942790>

ABDUL-GHANI, M. A. *et al.* Initial combination therapy with metformin, pioglitazone and exenatide is more effective than sequential add-on therapy in subjects with new-onset diabetes. Results from the Efficacy and Durability of Initial Combination Therapy for Type 2 Diabetes (EDICT): a randomized trial. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, [S. l.], v. 17, n. 3, p. 268–275, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/dom.12417>

ABDUL-GHANI, M. A.; TRIPATHY, D.; DEFRONZO, R. A. Contributions of beta-cell dysfunction and insulin resistance to the pathogenesis of impaired glucose tolerance and impaired fasting glucose. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 29, n. 5, p. 1130–1139, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diacare.2951130>

ABOLFATHI, A. A. *et al.* Protective Effects of Green Tea Extract against Hepatic Tissue Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, [S. l.], v. 2012, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2012/740671>. Acesso em: 3 jun. 2020.

ABOUZED, T. K. *et al.* Red onion scales ameliorated streptozotocin-induced diabetes and diabetic nephropathy in Wistar rats in relation to their metabolite fingerprint. **Diabetes Research and Clinical Practice**, [S. l.], v. 140, p. 253–264, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.03.042>

ABREU, E.; FONSECA, M. J.; SANTOS, A. C. [Association between hyperuricemia and insulin resistance]. **Acta Medica Portuguesa**, [S. l.], v. 24 Suppl 2, p. 565–574, 2011.

ADJANOHOUN, E. J.; ABOUBAKAR, N.; DRAMANE, K. **Traditional Medicine and Pharmacopoeia: CONTRIBUTION TO ETHNOBOTANICAL AND FLORISTIC**

**STUDIES IN CAMEROON. by Ethnobotany]** Adjanohoun, E.J.; Aboubakar, N.; Dramane, K. and others, authors.: (1996) | **Bookfever, IOBA (Volk & Iiams)**. [S. l.], 1996. Disponível em: <https://www.abebooks.com/first-edition/Traditional-Medicine-Pharmacopoeia-CONTRIBUTION-ETHNOBOTANICAL-FLORISTIC/13728577068/bd>. Acesso em: 24 jun. 2020.

AGOUNI, A. *et al.* Liver-specific deletion of protein tyrosine phosphatase (PTP) 1B improves obesity- and pharmacologically induced endoplasmic reticulum stress. **The Biochemical Journal**, [S. l.], v. 438, n. 2, p. 369–378, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/BJ20110373>

AGRAWAL, V. *et al.* Impact of treating the metabolic syndrome on chronic kidney disease. **Nature Reviews. Nephrology**, [S. l.], v. 5, n. 9, p. 520–528, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrneph.2009.114>

AHAD, A. *et al.* Ellagic acid, an NF- $\kappa$ B inhibitor, ameliorates renal function in experimental diabetic nephropathy. **Chemico-Biological Interactions**, [S. l.], v. 219, p. 64–75, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2014.05.011>

AHANGARPOUR, A. *et al.* Antioxidant, anti-apoptotic, and protective effects of myricitrin and its solid lipid nanoparticle on streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic nephropathy in type 2 diabetic male mice. **Iranian Journal of Basic Medical Sciences**, [S. l.], v. 22, n. 12, p. 1424–1431, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.22038/IJBMS.2019.13989>

AHLQVIST, E. *et al.* Novel subgroups of adult-onset diabetes and their association with outcomes: a data-driven cluster analysis of six variables. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, [S. l.], v. 6, n. 5, p. 361–369, 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(18\)30051-2](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(18)30051-2)

AKAR, F. *et al.* High-fructose corn syrup causes vascular dysfunction associated with metabolic disturbance in rats: protective effect of resveratrol. **Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, [S. l.], v. 50, n. 6, p. 2135–2141, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.03.061>

ALDEKHAIL, N. M. *et al.* Effect of orlistat on glycaemic control in overweight and obese patients with type 2 diabetes mellitus: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. **Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity**, [S. l.], v. 16, n. 12, p. 1071–1080, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/obr.12318>

AL-GOBLAN, A. S.; AL-ALFI, M. A.; KHAN, M. Z. Mechanism linking diabetes mellitus and obesity. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, [S. l.], v. 7, p. 587–591, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/DMSO.S67400>

ALI, M. K.; ECHOUFFO-TCHEUGUI, J.; WILLIAMSON, D. F. How effective were lifestyle interventions in real-world settings that were modeled on the Diabetes Prevention Program? **Health Affairs (Project Hope)**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 67–75, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1377/hlthaff.2011.1009>

ALISHA, M. R.; DSOUZA, M. R.; SONIA, N. PHARMACOGNOSTICAL OVERVIEW ON TERMINALIA ARJUNA: A JUSTIFICATION OF FOLKLORIC BELIEF | INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICAL SCIENCES AND RESEARCH. *In*: 2018. Disponível em: <https://ijpsr.com/bft-article/pharmacognostical-overview-on-terminalia-arjuna-a-justification-of-folkloric-belief/>. Acesso em: 18 jul. 2020.

ALKHALIDY, H. *et al.* **Small Molecule Kaempferol Promotes Insulin Sensitivity and Preserved Pancreatic  $\beta$ -Cell Mass in Middle-Aged Obese Diabetic Mice.** [s. l.], 2015. Research Article. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/532984>. Acesso em: 31 maio. 2020.

AMALRAJ, A.; GOPI, S. Medicinal properties of Terminalia arjuna (Roxb.) Wight & Arn.: A review. **Journal of Traditional and Complementary Medicine**, [S. l.], v. 7, n. 1, p. 65–78, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.02.003>

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 34, n. Suppl 1, p. S62–S69, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc11-S062>

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Standards of medical care in diabetes--2014. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 37 Suppl 1, p. S14-80, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc14-S014>

AMIRI, M. Oxidative stress and free radicals in liver and kidney diseases; an updated short-review. **Journal of Nephropathology**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 127–131, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.15171/jnp.2018.30>

ANAND, K. K. *et al.* 3,4,5-Trihydroxy benzoic acid (gallic acid), the hepatoprotective principle in the fruits of Terminalia belerica-bioassay guided activity. **Pharmacological Research**, [S. l.], v. 36, n. 4, p. 315–321, 1997. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/phrs.1997.0236>

ANG, L. *et al.* **Ergosterol Alleviates Kidney Injury in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice**. [s. l.], 2015. Research Article. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/691594>. Acesso em: 30 maio. 2020.

ARONSON, D.; RAYFIELD, E. J. How hyperglycemia promotes atherosclerosis: molecular mechanisms. **Cardiovascular Diabetology**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 1, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1475-2840-1-1>

ARTUNC, F. *et al.* The impact of insulin resistance on the kidney and vasculature. **Nature Reviews. Nephrology**, [S. l.], v. 12, n. 12, p. 721–737, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrneph.2016.145>

ASHCROFT, F. M.; GRIBBLE, F. M. ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels and insulin secretion: their role in health and disease. **Diabetologia**, [S. l.], v. 42, n. 8, p. 903–919, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s001250051247>

BADOLE, S. L.; BODHANKAR, S. L. Antidiabetic activity of cycloart-23-ene-3 $\beta$ , 25-diol (B2) isolated from Pongamia pinnata (L. Pierre) in streptozotocin–nicotinamide induced diabetic mice. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 632, n. 1, p. 103–109, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2010.01.019>

BAFFY, G. Origins of Portal Hypertension in Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Digestive Diseases and Sciences**, [S. l.], v. 63, n. 3, p. 563–576, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10620-017-4903-5>

BAKKER, E. den; GEMKE, R. J. B. J.; BÖKENKAMP, A. Endogenous markers for kidney function in children: a review. **Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences**, [S. l.], v. 55, n. 3, p. 163–183, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408363.2018.1427041>

BANDSMA, R. H. J. *et al.* Increased de novo lipogenesis and delayed conversion of large VLDL into intermediate density lipoprotein particles contribute to hyperlipidemia in glycogen storage disease type 1a. **Pediatric Research**, [S. l.], v. 63, n. 6, p. 702–707, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1203/PDR.0b013e31816c9013>

BAPTISTEL, A. C. *et al.* **Plantas medicinais utilizadas na Comunidade Santo Antônio, Currais, Sul do Piauí: um enfoque etnobotânico.** [s. l.], 2014. Disponível em: </paper/Plantas-medicinais-utilizadas-na-Comunidade-Santo-Baptistel-Coutinho/f6b2e0dd075235b6d3324e4dc7b3b17cc608d04d>. Acesso em: 2 jun. 2020.

BARNETT, A. H. *et al.* Diabetes in identical twins. A study of 200 pairs. **Diabetologia**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 87–93, 1981. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00262007>

BARON, A. D. Insulin resistance and vascular function. **Journal of Diabetes and Its Complications**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 92–102, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1056-8727\(01\)00209-4](https://doi.org/10.1016/s1056-8727(01)00209-4)

BASILE, K. J. *et al.* Overlap of genetic susceptibility to type 1 diabetes, type 2 diabetes, and latent autoimmune diabetes in adults. **Current Diabetes Reports**, [S. l.], v. 14, n. 11, p. 550, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11892-014-0550-9>

BASTARD, J.-P. *et al.* Recent advances in the relationship between obesity, inflammation, and insulin resistance. **European cytokine network**, [S. l.], 2006.

BAYNES, J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. **Diabetes**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 405–412, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diab.40.4.405>

BEALE, E. G. Insulin Signaling And Insulin Resistance. **Journal of investigative medicine : the official publication of the American Federation for Clinical Research**, [S. l.], v. 61, n. 1, p. 11–14, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.231/JIM.0b013e3182746f95>

BELFIORE, A. *et al.* Insulin receptor isoforms and insulin receptor/insulin-like growth factor receptor hybrids in physiology and disease. **Endocrine Reviews**, [S. l.], v. 30, n. 6, p. 586–623, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/er.2008-0047>

BENADO, M. *et al.* Effects of various levels of dietary fructose on blood lipids of rats. **Nutrition Research**, [S. l.], v. 24, n. 7, p. 565–571, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.nutres.2004.04.002>

BENTLE, L. A.; LARDY, H. A. Interaction of anions and divalent metal ions with phosphoenolpyruvate carboxykinase. **The Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 251, n. 10, p. 2916–2921, 1976.

BERUMEN, J. *et al.* Influence of obesity, parental history of diabetes, and genes in type 2 diabetes: A case-control study. **Scientific Reports**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 2748, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-39145-x>

BEZERRA, R. M. *et al.* A high fructose diet affects the early steps of insulin action in muscle and liver of rats. **The Journal of Nutrition**, [S. l.], v. 130, n. 6, p. 1531–1535, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/130.6.1531>

BHANDARI, R. M. *et al.*  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activities of Nepalese medicinal herb Pakhanbhed (*Bergenia ciliata*, Haw.). **Food chemistry**, [S. l.], 2008. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300839987>. Acesso em: 30 maio. 2020.

BHATTACHARYA, K. Investigation and management of the hepatic glycogen storage diseases. **Translational Pediatrics**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 240–248, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3978/j.issn.2224-4336.2015.04.07>

BHUPATHIRAJU, S. N. *et al.* Glycemic index, glycemic load, and risk of type 2 diabetes: results from 3 large US cohorts and an updated meta-analysis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, [S. l.], v. 100, n. 1, p. 218–232, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3945/ajcn.113.079533>

BIALY, L.; WALDMANN, H. Inhibitors of protein tyrosine phosphatases: next-generation drugs? **Angewandte Chemie (International Ed. in English)**, [S. l.], v. 44, n. 25, p. 3814–3839, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/anie.200461517>

BIRARI, R.; BHUTANI, K. Pancreatic lipase inhibitors from natural sources: unexplored potential. **Drug Discovery Today**, [S. l.], v. 12, n. 19–20, p. 879–889, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2007.07.024>

BLAAK, E. E. *et al.* Impact of postprandial glycaemia on health and prevention of disease. **Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 923–984, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1467-789X.2012.01011.x>

BOUCHER, J.; KLEINRIDDERS, A.; KAHN, C. R. Insulin receptor signaling in normal and insulin-resistant states. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, [S. l.], v. 6, n. 1, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a009191>

BOURDEAU, A.; DUBÉ, N.; TREMBLAY, M. L. Cytoplasmic protein tyrosine phosphatases, regulation and function: the roles of PTP1B and TC-PTP. **Current Opinion in Cell Biology**, [S. l.], v. 17, n. 2, p. 203–209, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2005.02.001>

BRADY, M. J.; SALTIEL, A. R. The role of protein phosphatase-1 in insulin action. **Recent Progress in Hormone Research**, [S. l.], v. 56, p. 157–173, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/rp.56.1.157>

BRUNT, E. M. Pathology of nonalcoholic fatty liver disease. **Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. 195–204, 2010.

BULT, M. J. F.; VAN DALEN, T.; MULLER, A. F. Surgical treatment of obesity. **European Journal of Endocrinology**, [S. l.], v. 158, n. 2, p. 135–145, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/EJE-07-0145>

BURHANS, M. S. *et al.* Contribution of Adipose Tissue Inflammation to the Development of Type 2 Diabetes Mellitus. **Comprehensive Physiology**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 1–58, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/cphy.c170040>

CALCUTT, N. A. *et al.* Therapies for hyperglycaemia-induced diabetic complications: from animal models to clinical trials. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 8, n. 5, p. 417–429, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd2476>



CALDWELL, S. H.; ARGO, C. K.; AL-OSAIMI, A. M. S. Therapy of NAFLD: Insulin Sensitizing Agents. **Journal of Clinical Gastroenterology**, [S. l.], v. 40 Suppl 1, p. S61–S66, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/01.mcg.0000168647.71411.48>

CALDWELL, S.; LACKNER, C. Perspectives on NASH Histology: Cellular Ballooning. **Annals of Hepatology**, [S. l.], v. 16, n. 2, p. 182–184, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.5604/16652681.1231550>

CANI, P. D. *et al.* Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. **Diabetes**, [S. l.], v. 56, n. 7, p. 1761–1772, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db06-1491>

CEDARS, A. *et al.* Calcium Independent Phospholipases in the Heart: Mediators of Cellular Signaling, Bioenergetics and Ischemia-induced Electrophysiologic Dysfunction. **Journal of cardiovascular pharmacology**, [S. l.], v. 53, n. 4, p. 277–289, 2009.

CHADT, A. *et al.* Molecular links between Obesity and Diabetes: “Diabesity”. In: FEINGOLD, K. R. *et al.* (org.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000. *E-book*. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279051/>. Acesso em: 30 maio. 2020.

CHADT, A. *et al.* Molecular links between Obesity and Diabetes: “Diabesity”. In: FEINGOLD, K. R. *et al.* (org.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2018. *E-book*. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279051/>. Acesso em: 30 maio. 2020.

CHANG, C. L. T. *et al.* Herbal therapies for type 2 diabetes mellitus: chemistry, biology, and potential application of selected plants and compounds. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine: eCAM**, [S. l.], v. 2013, p. 378657, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2013/378657>

CHAWLA, A.; NGUYEN, K. D.; GOH, Y. P. S. Macrophage-mediated inflammation in metabolic disease. **Nature Reviews. Immunology**, [S. l.], v. 11, n. 11, p. 738–749, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nri3071>

CHIASSON, J.-L. *et al.* Acarbose for prevention of type 2 diabetes mellitus: the STOP-NIDDM randomised trial. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 359, n. 9323, p. 2072–2077, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)08905-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)08905-5)

CHIASSON, J.-L. Acarbose for the prevention of diabetes, hypertension, and cardiovascular disease in subjects with impaired glucose tolerance: the Study to Prevent Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus (STOP-NIDDM) Trial. **Endocrine Practice: Official Journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, [S. l.], v. 12 Suppl 1, p. 25–30, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.4158/EP.12.S1.25>

CHO, N. H. *et al.* Abnormal liver function test predicts type 2 diabetes: a community-based prospective study. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 30, n. 10, p. 2566–2568, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc07-0106>

CHO, N. H. *et al.* IDF Diabetes Atlas: Global estimates of diabetes prevalence for 2017 and projections for 2045. **Diabetes Research and Clinical Practice**, [S. l.], v. 138, p. 271–281, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2018.02.023>

CHO, S.-J.; JUNG, U. J.; CHOI, M.-S. Differential effects of low-dose resveratrol on adiposity and hepatic steatosis in diet-induced obese mice. **The British Journal of Nutrition**, [S. l.], v. 108, n. 12, p. 2166–2175, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114512000347>

CHOOI, Y. C.; DING, C.; MAGKOS, F. The epidemiology of obesity. **Metabolism: Clinical and Experimental**, [S. l.], v. 92, p. 6–10, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.09.005>

CHOU, J. Y. The molecular basis of type 1 glycogen storage diseases. **Current Molecular Medicine**, [S. l.], v. 1, n. 1, p. 25–44, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1566524013364112>

CHUKIR, T. *et al.* Pharmacotherapy for obesity in individuals with type 2 diabetes. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 19, n. 3, p. 223–231, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14656566.2018.1428558>

CHUKWUMA, C. I. *et al.* Erythritol reduces small intestinal glucose absorption, increases muscle glucose uptake, improves glucose metabolic enzymes activities and increases expression of Glut-4 and IRS-1 in type 2 diabetic rats. **European Journal of Nutrition**, [S.

*l.*], v. 57, n. 7, p. 2431–2444, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00394-017-1516-x>

COATE, K. C. *et al.* Chronic consumption of a high-fat/high-fructose diet renders the liver incapable of net hepatic glucose uptake. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, [*S. l.*], v. 299, n. 6, p. E887-898, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00372.2010>

COATE, K. C. *et al.* Hepatic glucose metabolism in late pregnancy: normal versus high-fat and -fructose diet. **Diabetes**, [*S. l.*], v. 62, n. 3, p. 753–761, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db12-0875>

COGGER, V. C. *et al.* Dietary macronutrients and the aging liver sinusoidal endothelial cell. **American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology**, [*S. l.*], v. 310, n. 9, p. H1064-1070, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpheart.00949.2015>

COLE, J. B.; FLOREZ, J. C. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. **Nature Reviews Nephrology**, [*S. l.*], v. 16, n. 7, p. 377–390, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41581-020-0278-5>

COMMERFORD, S. R. *et al.* Diets enriched in sucrose or fat increase gluconeogenesis and G-6-Pase but not basal glucose production in rats. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, [*S. l.*], v. 283, n. 3, p. E545-555, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00120.2002>

CONTI, F. G. *et al.* Binding of insulin-like growth factor-I by glomerular endothelial and epithelial cells: further evidence for IGF-I action in the renal glomerulus. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [*S. l.*], v. 163, n. 2, p. 952–958, 1989. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0006-291x\(89\)92314-0](https://doi.org/10.1016/0006-291x(89)92314-0)

COPPS, K. D.; WHITE, M. F. Regulation of insulin sensitivity by serine/threonine phosphorylation of insulin receptor substrate proteins IRS1 and IRS2. **Diabetologia**, [*S. l.*], v. 55, n. 10, p. 2565–2582, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2644-8>

COSTANZO, C. D. G. *et al.* Isolation of flavonoids from *Anemopaegma arvense* (Vell) Steff. ex de Souza and their antifungal activity against *Trichophyton rubrum*. **Brazilian**

**Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 559–565, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S1984-82502013000300017>

COULON, S. *et al.* Angiogenesis in chronic liver disease and its complications. **Liver International: Official Journal of the International Association for the Study of the Liver**, [S. l.], v. 31, n. 2, p. 146–162, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1478-3231.2010.02369.x>

COULON, S. *et al.* Evaluation of inflammatory and angiogenic factors in patients with non-alcoholic fatty liver disease. **Cytokine**, [S. l.], v. 59, n. 2, p. 442–449, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cyto.2012.05.001>

COULON, S. *et al.* Role of vascular endothelial growth factor in the pathophysiology of nonalcoholic steatohepatitis in two rodent models. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, [S. l.], v. 57, n. 5, p. 1793–1805, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hep.26219>

COWARD, R. J. M. *et al.* The human glomerular podocyte is a novel target for insulin action. **Diabetes**, [S. l.], v. 54, n. 11, p. 3095–3102, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diabetes.54.11.3095>

DABLA, P. K. Renal function in diabetic nephropathy. **World Journal of Diabetes**, [S. l.], v. 1, n. 2, p. 48–56, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.4239/wjd.v1.i2.48>

DAI, S. *et al.* Fructose loading induces cardiovascular and metabolic changes in nondiabetic and diabetic rats. **Canadian Journal of Physiology and Pharmacology**, [S. l.], v. 72, n. 7, p. 771–781, 1994. Disponível em: <https://doi.org/10.1139/y94-110>

DAISY, P.; RAJATHI, M. Hypoglycemic Effects of *Clitoria ternatea* Linn. (Fabaceae) in Alloxan-induced Diabetes in Rats. **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, [S. l.], v. 8, n. 5, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.4314/tjpr.v8i5.48082>. Acesso em: 3 jun. 2020.

DANDONA, P. *et al.* Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. **Circulation**, [S. l.], v. 111, n. 11, p. 1448–1454, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000158483.13093.9D>

DANSINGER, M. L. *et al.* Meta-analysis: the effect of dietary counseling for weight loss. **Annals of Internal Medicine**, [S. l.], v. 147, n. 1, p. 41–50, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-147-1-200707030-00007>

DE COSMO, S. *et al.* Serum Uric Acid and Risk of CKD in Type 2 Diabetes. **Clinical journal of the American Society of Nephrology: CJASN**, [S. l.], v. 10, n. 11, p. 1921–1929, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2215/CJN.03140315>

DE FREITAS JUNIOR, L. M.; DE ALMEIDA JR, E. B. Medicinal plants for the treatment of obesity: ethnopharmacological approach and chemical and biological studies. **American Journal of Translational Research**, [S. l.], v. 9, n. 5, p. 2050–2064, 2017.

DEFRONZO, R. A. From the Triumvirate to the Ominous Octet: A New Paradigm for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus. **Diabetes**, [S. l.], v. 58, n. 4, p. 773–795, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db09-9028>

DEFRONZO, R. A. *et al.* Pioglitazone for Diabetes Prevention in Impaired Glucose Tolerance. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 364, n. 12, p. 1104–1115, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1010949>

DEFRONZO, R. A. *et al.* Type 2 diabetes mellitus. **Nature Reviews. Disease Primers**, [S. l.], v. 1, p. 15019, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2015.19>

DEFRONZO, R. A.; ABDUL-GHANI, M. A. Preservation of  $\beta$ -cell function: the key to diabetes prevention. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 96, n. 8, p. 2354–2366, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jc.2011-0246>

DEGUCHI, Y.; MIYAZAKI, K. Anti-hyperglycemic and anti-hyperlipidemic effects of guava leaf extract. **Nutrition & Metabolism**, [S. l.], v. 7, p. 9, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-7-9>

DEKKER, M. J. *et al.* Fructose: a highly lipogenic nutrient implicated in insulin resistance, hepatic steatosis, and the metabolic syndrome. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 299, n. 5, p. E685–E694, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00283.2010>

DELARUE, J. *et al.* Effects of free fatty acids on the metabolic response to oral fructose in lean healthy humans. **International Journal of Obesity and Related Metabolic Disorders: Journal of the International Association for the Study of Obesity**, [S. l.], v. 20, n. 2, p. 130–136, 1996.

DELLA VEDOVA, M. C. *et al.* A Mouse Model of Diet-Induced Obesity Resembling Most Features of Human Metabolic Syndrome. **Nutrition and Metabolic Insights**, [S. l.], v. 9, p. 93–102, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.4137/NMIS32907>

DHANYA, R. *et al.* **Quercetin, a Lead Compound Against Type 2 Diabetes Ameliorates Glucose Uptake via AMPK Pathway in Skeletal Muscle Cell Line**. [S. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fphar.2017.00336>. Acesso em: 2 jun. 2020.

DHATARIYA, K. K. *et al.* Diabetic ketoacidosis. **Nature Reviews Disease Primers**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 1–20, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41572-020-0165-1>

DIAS, A. S. *et al.* Quercetin decreases oxidative stress, NF-kappaB activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. **The Journal of Nutrition**, [S. l.], v. 135, n. 10, p. 2299–2304, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jn/135.10.2299>

DIETRICH, M. O.; HORVATH, T. L. Limitations in anti-obesity drug development: the critical role of hunger-promoting neurons. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 11, n. 9, p. 675–691, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd3739>

DIMEGLIO, L. A.; EVANS-MOLINA, C.; ORAM, R. A. Type 1 diabetes. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 391, n. 10138, p. 2449–2462, 2018. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(18\)31320-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(18)31320-5)

DIRKS, J. H. The drumbeat of renal failure: symbiosis of prevention and renal replacement therapy. **Blood Purification**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 6–8, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000074917>

DISSARD, R. *et al.* Long term metabolic syndrome induced by a high fat high fructose diet leads to minimal renal injury in C57BL/6 mice. **PloS One**, [S. l.], v. 8, n. 10, p. e76703, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0076703>

DIVYA, N. *et al.* Phytotherapeutic efficacy of the medicinal plant Terminalia catappa L. **Saudi Journal of Biological Sciences**, [S. l.], v. 26, n. 5, p. 985–988, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2018.12.010>

DIXIT, D. *et al.* Radioprotective effect of Terminalia Chebula Retzius extract against  $\gamma$ -irradiation-induced oxidative stress. **Biomedicine & Aging Pathology**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 83–88, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biomag.2012.10.008>

DUNLOP, M. Aldose reductase and the role of the polyol pathway in diabetic nephropathy. **Kidney International**, [S. l.], v. 58, Diabetic kidney disease research: Where do we stand at the turn of the century?, p. S3–S12, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.07702.x>

EDINBURGH, R. M. *et al.* Concordant and divergent strategies to improve postprandial glucose and lipid metabolism. **Nutrition Bulletin**, [S. l.], v. 42, n. 2, p. 113–122, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nbu.12259>

EESHA, B. R. *et al.* Hepatoprotective activity of Terminalia paniculata against paracetamol induced hepatocellular damage in Wistar albino rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 466–469, 2011. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1995-7645\(11\)60127-2](https://doi.org/10.1016/S1995-7645(11)60127-2)

EGERT, S. *et al.* Quercetin reduces systolic blood pressure and plasma oxidised low-density lipoprotein concentrations in overweight subjects with a high-cardiovascular disease risk phenotype: a double-blinded, placebo-controlled cross-over study. **The British Journal of Nutrition**, [S. l.], v. 102, n. 7, p. 1065–1074, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114509359127>

EIZIRIK, D. L.; COLLI, M. L.; ORTIS, F. The role of inflammation in insulinitis and beta-cell loss in type 1 diabetes. **Nature Reviews. Endocrinology**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 219–226, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2009.21>

EIZIRIK, D. L.; PASQUALI, L.; CNOP, M. Pancreatic  $\beta$ -cells in type 1 and type 2 diabetes mellitus: different pathways to failure. **Nature Reviews Endocrinology**, [S. l.], v. 16, n. 7, p. 349–362, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41574-020-0355-7>

EKELUND, U. *et al.* Objectively measured moderate- and vigorous-intensity physical activity but not sedentary time predicts insulin resistance in high-risk individuals. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 32, n. 6, p. 1081–1086, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc08-1895>

EL RABEY, H. A.; AL-SEENI, M. N.; BAKHASHWAIN, A. S. **The Antidiabetic Activity of Nigella sativa and Propolis on Streptozotocin-Induced Diabetes and Diabetic Nephropathy in Male Rats.** [S. l.], 2017. Research Article. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/5439645>. Acesso em: 30 maio. 2020.

ELCHEBLY, M. *et al.* Increased insulin sensitivity and obesity resistance in mice lacking the protein tyrosine phosphatase-1B gene. **Science (New York, N.Y.)**, [S. l.], v. 283, n. 5407, p. 1544–1548, 1999. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.283.5407.1544>

ELLMAN, G. L. Tissue sulfhydryl groups. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, [S. l.], v. 82, n. 1, p. 70–77, 1959. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-9861\(59\)90090-6](https://doi.org/10.1016/0003-9861(59)90090-6)

ELOFF, J. N.; KATERERE, D. R.; MCGAW, L. J. The biological activity and chemistry of the southern African Combretaceae. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 119, n. 3, p. 686–699, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2008.07.051>

ERTUNC, M. E.; HOTAMISLIGIL, G. S. Lipid signaling and lipotoxicity in metaflammation: indications for metabolic disease pathogenesis and treatment. **Journal of Lipid Research**, [S. l.], v. 57, n. 12, p. 2099–2114, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1194/jlr.R066514>

ESPOSITO, K. *et al.* Metabolic syndrome and risk of cancer: a systematic review and meta-analysis. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 35, n. 11, p. 2402–2411, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc12-0336>

EVANS, J. L. *et al.* Oxidative stress and stress-activated signaling pathways: a unifying hypothesis of type 2 diabetes. **Endocrine Reviews**, [S. l.], v. 23, n. 5, p. 599–622, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/er.2001-0039>

EVANS, J. L. Antioxidants: do they have a role in the treatment of insulin resistance? **The Indian journal of medical research**, [S. l.], 2007.



FARRELL, G. C.; TEOH, N. C.; MCCUSKEY, R. S. Hepatic microcirculation in fatty liver disease. **Anatomical Record (Hoboken, N.J.: 2007)**, [S. l.], v. 291, n. 6, p. 684–692, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/ar.20715>

FEI, H. *et al.* Potential lipase inhibitors from Chinese medicinal herbs. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 54, n. 12, p. 2845–2850, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13880209.2016.1185635>

FEILLET-COUDRAY, C. *et al.* Lipid peroxidation and antioxidant status in experimental diabetes. **Clinica Chimica Acta; International Journal of Clinical Chemistry**, [S. l.], v. 284, n. 1, p. 31–43, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0009-8981\(99\)00046-7](https://doi.org/10.1016/s0009-8981(99)00046-7)

FEINMAN, R. D.; FINE, E. J. Fructose in perspective. **Nutrition & Metabolism**, [S. l.], v. 10, n. 1, p. 45, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-10-45>

FERRANNINI, E.; GASTALDELLI, A.; IOZZO, P. Pathophysiology of prediabetes. **The Medical Clinics of North America**, [S. l.], v. 95, n. 2, p. 327–339, vii–viii, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2010.11.005>

FILIPPATOS, T. D. *et al.* Orlistat-associated adverse effects and drug interactions: a critical review. **Drug Safety**, [S. l.], v. 31, n. 1, p. 53–65, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2165/00002018-200831010-00005>

FITZGIBBONS, T. P.; CZECH, M. P. Epicardial and Perivascular Adipose Tissues and Their Influence on Cardiovascular Disease: Basic Mechanisms and Clinical Associations. **Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease**, [S. l.], v. 3, n. 2, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/JAHA.113.000582>. Acesso em: 21 jun. 2020.

FLAMMER, A. *et al.* **The Assessment of Endothelial Function: From Research Into Clinical Practice**. [s. l.], 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.093245>. Acesso em: 29 jun. 2020.

FORETZ, M. *et al.* Metformin inhibits hepatic gluconeogenesis in mice independently of the LKB1/AMPK pathway via a decrease in hepatic energy state. **The Journal of Clinical Investigation**, [S. l.], v. 120, n. 7, p. 2355–2369, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/JCI40671>

FRANCQUE, S. *et al.* Noncirrhotic human nonalcoholic fatty liver disease induces portal hypertension in relation to the histological degree of steatosis. **European Journal of Gastroenterology & Hepatology**, [S. l.], v. 22, n. 12, p. 1449–1457, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MEG.0b013e32833f14a1>

FRANCQUE, S. *et al.* Increased intrahepatic resistance in severe steatosis: endothelial dysfunction, vasoconstrictor overproduction and altered microvascular architecture. **Laboratory Investigation; a Journal of Technical Methods and Pathology**, [S. l.], v. 92, n. 10, p. 1428–1439, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2012.103>

FRASER, R. *et al.* The liver sieve and atherosclerosis. **Pathology**, [S. l.], v. 44, n. 3, p. 181–186, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/PAT.0b013e328351bcc8>

FREEMAN, S. *et al.* Sensitivity of glycogen phosphorylase isoforms to indole site inhibitors is markedly dependent on the activation state of the enzyme. **British Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 149, n. 6, p. 775–785, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0706925>

FRIEDMAN, S. L. *et al.* Mechanisms of NAFLD development and therapeutic strategies. **Nature Medicine**, [S. l.], v. 24, n. 7, p. 908–922, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41591-018-0104-9>

FRITSCHÉ, L. *et al.* Insulin-induced serine phosphorylation of IRS-2 via ERK1/2 and mTOR: studies on the function of Ser675 and Ser907. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 300, n. 5, p. E824–836, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00409.2010>

FROISSART, R. *et al.* Glucose-6-phosphatase deficiency. **Orphanet Journal of Rare Diseases**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 27, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1750-1172-6-27>

FURUKAWA, S. *et al.* FR258900, a novel glycogen phosphorylase inhibitor isolated from Fungus No. 138354. II. Anti-hyperglycemic effects in diabetic animal models. **The Journal of Antibiotics**, [S. l.], v. 58, n. 8, p. 503–506, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ja.2005.67>

GAIKWAD, S. B.; KRISHNA MOHAN, G.; SANDHYA RANI, M. Phytochemicals for Diabetes Management. **Pharmaceutical Crops**, [S. l.], v. 5, n. 1, 2014. Disponível em: <https://benthamopen.com/ABSTRACT/TOPHARMCJ-5-11>. Acesso em: 2 jun. 2020.

GANESAN, D. *et al.* Combination of ramipril and rutin alleviate alloxan induced diabetic nephropathy targeting multiple stress pathways in vivo. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, [S. l.], v. 108, p. 1338–1346, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.142>

GAO, H. *et al.* Inhibitory effect on  $\alpha$ -glucosidase by the fruits of Terminalia chebula Retz. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 105, n. 2, p. 628–634, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.023>

GAO, L. *et al.* Chronic ethanol consumption up-regulates protein-tyrosine phosphatase-1B (PTP1B) expression in rat skeletal muscle. **Acta Pharmacologica Sinica**, [S. l.], v. 31, n. 12, p. 1576–1582, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/aps.2010.161>

GARCEZ, F. R. *et al.* Triterpenoids, lignan and flavans from Terminalia argentea (Combretaceae). **Biochemical Systematics and Ecology**, [S. l.], v. 2, n. 31, p. 229–232, 2003.

GARCIA, C. *et al.* Diabetes and inflammation: fundamental aspects and clinical implications. **Diabetes & Metabolism**, [S. l.], v. 36, n. 5, p. 327–338, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.diabet.2010.07.001>

GARCÍA-LEZANA, T. *et al.* Restoration of a healthy intestinal microbiota normalizes portal hypertension in a rat model of nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, [S. l.], v. 67, n. 4, p. 1485–1498, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hep.29646>

GARUD, M. S.; KULKARNI, Y. A. Hyperglycemia to nephropathy via transforming growth factor beta. **Current Diabetes Reviews**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 182–189, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1573399810666140606103645>

GARVEY, W. T. *et al.* Prevention of type 2 diabetes in subjects with prediabetes and metabolic syndrome treated with phentermine and topiramate extended release. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 37, n. 4, p. 912–921, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc13-1518>

GERICH, J. E. *et al.* Renal gluconeogenesis: its importance in human glucose homeostasis. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 382–391, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diacare.24.2.382>

GESTA, S.; TSENG, Y.-H.; KAHN, C. R. Developmental origin of fat: tracking obesity to its source. **Cell**, [S. l.], v. 131, n. 2, p. 242–256, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2007.10.004>

GHANBARI, E.; NEJATI, V.; KHAZAEI, M. Improvement in Serum Biochemical Alterations and Oxidative Stress of Liver and Pancreas following Use of Royal Jelly in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats. **Cell Journal (Yakhteh)**, [S. l.], v. 18, n. 3, p. 362, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.22074/cellj.2016.4564>

GHOSH, S. *et al.* Curcumin protects rat liver from streptozotocin-induced diabetic pathophysiology by counteracting reactive oxygen species and inhibiting the activation of p53 and MAPKs mediated stress response pathways. **Toxicology Reports**, [S. l.], v. 2, p. 365–376, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2014.12.017>

GIRMAN, C. J. *et al.* The metabolic syndrome and risk of major coronary events in the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) and the Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study (AFCAPS/TexCAPS). **The American Journal of Cardiology**, [S. l.], v. 93, n. 2, p. 136–141, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2003.09.028>

GJORGJIEVA, M. *et al.* Mechanisms by Which Metabolic Reprogramming in GSD1 Liver Generates a Favorable Tumorigenic Environment. **Journal of Inborn Errors of Metabolism and Screening**, [S. l.], v. 4, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/2326409816679429>. Acesso em: 5 jul. 2020.

GOLDBERG, I. J.; TRENT, C. M.; SCHULZE, P. C. Lipid Metabolism and Toxicity in the Heart. **Cell Metabolism**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. 805–812, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2012.04.006>

GOMES, I. B. *et al.* Renoprotective, anti-oxidative and anti-apoptotic effects of oral low-dose quercetin in the C57BL/6J model of diabetic nephropathy. **Lipids in Health and Disease**, [S. l.], v. 13, n. 1, p. 184, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1476-511X-13-184>

GONZALEZ-DUQUE, S. *et al.* Conventional and Neo-antigenic Peptides Presented by  $\beta$  Cells Are Targeted by Circulating Naïve CD8<sup>+</sup> T Cells in Type 1 Diabetic and Healthy Donors. **Cell Metabolism**, [S. l.], v. 28, n. 6, p. 946- 960.e6, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2018.07.007>

GONZALEZ-PAREDES, F. J. *et al.* Contribution of Cyclooxygenase End Products and Oxidative Stress to Intrahepatic Endothelial Dysfunction in Early Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **PloS One**, [S. l.], v. 11, n. 5, p. e0156650, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0156650>

GOWADIA, N.; VASUDEVAN, T. N. **Studies on effect of some medicinal plants on pancreatic lipase activity using spectrophotometric method.** [s. l.], 2000. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/289908430\\_Studies\\_on\\_effect\\_of\\_some\\_medicinal\\_plants\\_on\\_pancreatic\\_lipase\\_activity\\_using\\_spectrophotometric\\_method](https://www.researchgate.net/publication/289908430_Studies_on_effect_of_some_medicinal_plants_on_pancreatic_lipase_activity_using_spectrophotometric_method). Acesso em: 20 jul. 2020.

GOWDA, S. *et al.* Markers of renal function tests. **North American Journal of Medical Sciences**, [S. l.], v. 2, n. 4, p. 170–173, 2010.

GRAM, J. *et al.* Pharmacological treatment of the pathogenetic defects in type 2 diabetes: the randomized multicenter South Danish Diabetes Study. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 34, n. 1, p. 27–33, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc10-0531>

GRANT, S. F. A.; HAKONARSON, H.; SCHWARTZ, S. Can the genetics of type 1 and type 2 diabetes shed light on the genetics of latent autoimmune diabetes in adults? **Endocrine Reviews**, [S. l.], v. 31, n. 2, p. 183–193, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/er.2009-0029>

GRAY, S. *et al.* Regulation of Gluconeogenesis by Krüppel-like Factor 15. **Cell metabolism**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 305–312, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2007.03.002>

GRISOUARD, J. *et al.* Mechanisms of metformin action on glucose transport and metabolism in human adipocytes. **Biochemical Pharmacology**, [S. l.], v. 80, n. 11, p. 1736–1745, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2010.08.021>

GRØNTVED, A. *et al.* A Prospective Study of Weight Training and Risk of Type 2 Diabetes in Men. **Archives of internal medicine**, [S. l.], v. 172, n. 17, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/archinternmed.2012.3138>. Acesso em: 28 jun. 2020.

GROOP, L. C. Sulfonylureas in NIDDM. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 15, n. 6, p. 737–754, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diacare.15.6.737>

GRUNDY, S. M. *et al.* Definition of metabolic syndrome: Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. **Circulation**, [S. l.], v. 109, n. 3, p. 433–438, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000111245.75752.C6>

GRUNDY, S. M. *et al.* Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute Scientific Statement. **Circulation**, [S. l.], v. 112, n. 17, p. 2735–2752, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.169404>

GRUNDY, S. M. Drug therapy of the metabolic syndrome: minimizing the emerging crisis in polypharmacy. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 295–309, 2006 a. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd2005>

GRUNDY, S. M. Drug therapy of the metabolic syndrome: minimizing the emerging crisis in polypharmacy. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 295–309, 2006 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd2005>

GUH, D. P. *et al.* The incidence of co-morbidities related to obesity and overweight: A systematic review and meta-analysis. **BMC Public Health**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 88, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1471-2458-9-88>

GUNNETT, C. A. *et al.* NO-dependent vasorelaxation is impaired after gene transfer of inducible NO-synthase. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [S. l.], v. 21, n. 8, p. 1281–1287, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/hq0801.093509>

HALE, L. J.; COWARD, R. J. M. The insulin receptor and the kidney. **Current Opinion in Nephrology and Hypertension**, [S. l.], v. 22, n. 1, p. 100–106, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/MNH.0b013e32835abb52>

HAMMOUTENE, A.; RAUTOU, P.-E. Role of liver sinusoidal endothelial cells in non-alcoholic fatty liver disease. **Journal of Hepatology**, [S. l.], v. 70, n. 6, p. 1278–1291, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2019.02.012>

HANDELSMAN, Y. *et al.* AMERICAN ASSOCIATION OF CLINICAL ENDOCRINOLOGISTS AND AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY – CLINICAL PRACTICE GUIDELINES FOR DEVELOPING A DIABETES MELLITUS COMPREHENSIVE CARE PLAN – 2015 — EXECUTIVE SUMMARY. **Endocrine practice : official journal of the American College of Endocrinology and the American Association of Clinical Endocrinologists**, [S. l.], v. 21, n. Suppl 1, p. 1, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.4158/EP15672.GL>

HANHINEVA, K. *et al.* Impact of dietary polyphenols on carbohydrate metabolism. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 11, n. 4, p. 1365–1402, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms11041365>

HAO, H. *et al.* Preventive effects of rutin on the development of experimental diabetic nephropathy in rats. **Life Sciences**, [S. l.], v. 91, n. 19–20, p. 959–967, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2012.09.003>

HARDIE, D. G. Neither LKB1 nor AMPK are the direct targets of metformin. **Gastroenterology**, [S. l.], v. 131, n. 3, p. 973; author reply 974-975, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2006.07.032>

HARRIS, E. H. Elevated Liver Function Tests in Type 2 Diabetes. **Clinical Diabetes**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 115–119, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diaclin.23.3.115>

HARRISON, L. B. *et al.*  $\beta$ -Cell Function Preservation After 3.5 Years of Intensive Diabetes Therapy. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 35, n. 7, p. 1406, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc11-2170>

HASLAM, D. W.; JAMES, W. P. T. Obesity. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 366, n. 9492, p. 1197–1209, 2005. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)67483-1](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)67483-1)

HENGIST, A.; KOUMANOV, F.; GONZALEZ, J. T. Fructose and metabolic health: governed by hepatic glycogen status? **The Journal of Physiology**, [S. l.], v. 597, n. 14, p. 3573–3585, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1113/JP277767>

HERRNBERGER, L. *et al.* Formation of fenestrae in murine liver sinusoids depends on plasmalemma vesicle-associated protein and is required for lipoprotein passage. **PloS One**, [S. l.], v. 9, n. 12, p. e115005, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0115005>

HININGER-FAVIER, I. *et al.* Green tea extract decreases oxidative stress and improves insulin sensitivity in an animal model of insulin resistance, the fructose-fed rat. **Journal of the American College of Nutrition**, [S. l.], v. 28, n. 4, p. 355–361, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/07315724.2009.10718097>

HODSON, A. E.; TIPPETTS, T. S.; BIKMAN, B. T. Insulin treatment increases myocardial ceramide accumulation and disrupts cardiometabolic function. **Cardiovascular Diabetology**, [S. l.], v. 14, p. 153, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12933-015-0316-y>

HOLMAN, R. R. *et al.* 10-Year Follow-up of Intensive Glucose Control in Type 2 Diabetes. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 359, n. 15, p. 1577–1589, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0806470>

HOLMAN, R. R.; SOURIJ, H.; CALIFF, R. M. Cardiovascular outcome trials of glucose-lowering drugs or strategies in type 2 diabetes. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 383, n. 9933, p. 2008–2017, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60794-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60794-7)

HONKA, H. *et al.* Validation of [18F]fluorodeoxyglucose and positron emission tomography (PET) for the measurement of intestinal metabolism in pigs, and evidence of intestinal insulin resistance in patients with morbid obesity. **Diabetologia**, [S. l.], v. 56, n. 4, p. 893–900, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-012-2825-5>

HOTAMISLIGIL, G. S. Role of endoplasmic reticulum stress and c-Jun NH2-terminal kinase pathways in inflammation and origin of obesity and diabetes. **Diabetes**, [S. l.], v. 54 Suppl 2, p. S73-78, 2005. Disponível em: [https://doi.org/10.2337/diabetes.54.suppl\\_2.s73](https://doi.org/10.2337/diabetes.54.suppl_2.s73)

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and endoplasmic reticulum stress in obesity and diabetes. **International Journal of Obesity (2005)**, [S. l.], v. 32 Suppl 7, p. S52-54, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/ijo.2008.238>



HOVIND, P. *et al.* Serum uric acid as a predictor for development of diabetic nephropathy in type 1 diabetes: an inception cohort study. **Diabetes**, [S. l.], v. 58, n. 7, p. 1668–1671, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db09-0014>

HUANG, Y.-N. *et al.* Anti-Hyperglycemic Effect of Chebulagic Acid from the Fruits of Terminalia chebula Retz. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 13, n. 5, p. 6320–6333, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms13056320>

HUFF, G. R. *et al.* Stress response differences and disease susceptibility reflected by heterophil to lymphocyte ratio in turkeys selected for increased body weight. **Poultry Science**, [S. l.], v. 84, n. 5, p. 709–717, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/ps/84.5.709>

HULCHER, F. H.; OLESON, W. H. Simplified spectrophotometric assay for microsomal 3-hydroxy-3-methylglutaryl CoA reductase by measurement of coenzyme A. **Journal of Lipid Research**, [S. l.], v. 14, n. 6, p. 625–631, 1973.

HUNDAL, R. S. *et al.* Mechanism by which metformin reduces glucose production in type 2 diabetes. **Diabetes**, [S. l.], v. 49, n. 12, p. 2063–2069, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diabetes.49.12.2063>

ICHIKI, H. *et al.* Inhibitory effects of compounds from Anemarrhenae Rhizoma on  $\alpha$ -glucosidase and aldose reductase and its contents by drying conditions. **Natural medicines**, [S. l.], 2007. Disponível em: <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201600016798>. Acesso em: 30 maio. 2020.

IDF. **IDF Diabetes Atlas**. [s. l.], 2015. Disponível em: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/13-diabetes-atlas-seventh-edition.html>. Acesso em: 17 jul. 2020.

IDF. **IDF Diabetes Atlas 9th edition 2019**. [s. l.], 2019. Disponível em: <https://www.diabetesatlas.org/en/>. Acesso em: 17 jul. 2020.

IDONIJE, B. O.; FESTUS, O.; OLUBA, O. M. Plasma Glucose, Creatinine and Urea Levels in Type 2 Diabetic Patients Attending A Nigerian Teaching Hospital. **Research Journal of Medical Sciences**, [S. l.], v. 5, n. 1, p. 1–3, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3923/rjmsci.2011.1.3>

IJAZ, S. *et al.* Impairment of hepatic microcirculation in fatty liver. **Microcirculation (New York, N.Y.: 1994)**, [*S. l.*], v. 10, n. 6, p. 447–456, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/sj.mn.7800206>

ILONEN, J.; LEMPAINEN, J.; VEIJOLA, R. The heterogeneous pathogenesis of type 1 diabetes mellitus. **Nature Reviews. Endocrinology**, [*S. l.*], v. 15, n. 11, p. 635–650, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41574-019-0254-y>

INA, S. *et al.* Rice (*Oryza sativa japonica*) Albumin Suppresses the Elevation of Blood Glucose and Plasma Insulin Levels after Oral Glucose Loading. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [*S. l.*], v. 64, n. 24, p. 4882–4890, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b00520>

INZUCCHI, S. E. *et al.* Management of Hyperglycemia in Type 2 Diabetes: A Patient-Centered Approach: Position Statement of the American Diabetes Association (ADA) and the European Association for the Study of Diabetes (EASD). **Diabetes Care**, [*S. l.*], v. 35, n. 6, p. 1364–1379, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc12-0413>

IRONDI, E. A.; AGBOOLA, S. O.; BOLIGON, A. A. Inhibitory effects of tropical almond leaf extract on xanthine oxidase, pancreatic lipase, and angiotensin 1-converting enzyme, in vitro. **Journal of Food Biochemistry**, [*S. l.*], v. 42, n. 4, p. e12481, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfbc.12481>

ISHIKAWA, T.; AW, W.; KANEKO, K. Metabolic Interactions of Purine Derivatives with Human ABC Transporter ABCG2: Genetic Testing to Assess Gout Risk. **Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)**, [*S. l.*], v. 6, n. 11, p. 1347–1360, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ph6111347>

ISLAM, M. S. Effects of the aqueous extract of white tea (*Camellia sinensis*) in a streptozotocin-induced diabetes model of rats. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, [*S. l.*], v. 19, n. 1, p. 25–31, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.06.025>

IWAKIRI, Y.; SHAH, V.; ROCKEY, D. C. Vascular pathobiology in chronic liver disease and cirrhosis - current status and future directions. **Journal of Hepatology**, [*S. l.*], v. 61, n. 4, p. 912–924, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2014.05.047>

JAKUBCZYK, A. *et al.* Identification of potential inhibitory peptides of enzymes involved in the metabolic syndrome obtained by simulated gastrointestinal digestion of fermented bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seeds. **Food Research International (Ottawa, Ont.)**, [S. l.], v. 100, n. Pt 1, p. 489–496, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.046>

JANECKE, A. R.; MAYATEPEK, E.; UTERMANN, G. Molecular genetics of type 1 glycogen storage disease. **Molecular Genetics and Metabolism**, [S. l.], v. 73, n. 2, p. 117–125, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1006/mgme.2001.3179>

JANG, H.-J.; RIDGEWAY, S. D.; KIM, J.-A. Effects of the green tea polyphenol epigallocatechin-3-gallate on high-fat diet-induced insulin resistance and endothelial dysfunction. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 305, n. 12, p. E1444-1451, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00434.2013>

JANIČ, M. *et al.* Metformin: od mehanizmov delovanja do napredne klinične uporabe. **Slovenian Medical Journal**, [S. l.], v. 86, n. 3–4, p. 138–157, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.6016/ZdravVestn.1503>

JEONG, O.; KIM, H.-S. Dietary chokeberry and dried jujube fruit attenuates high-fat and high-fructose diet-induced dyslipidemia and insulin resistance via activation of the IRS-1/PI3K/Akt pathway in C57BL/6 J mice. **Nutrition & Metabolism**, [S. l.], v. 16, p. 38, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12986-019-0364-5>

JIA, G. *et al.* Fructose and uric acid: is there a role in endothelial function? **Current Hypertension Reports**, [S. l.], v. 16, n. 6, p. 434, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11906-014-0434-z>

JIANG, C.; LIANG, L.; GUO, Y. Natural products possessing protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitory activity found in the last decades. **Acta Pharmacologica Sinica**, [S. l.], v. 33, n. 10, p. 1217–1245, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/aps.2012.90>

JIAO, Z. *et al.* [Pre-diabetes mellitus influenced by hyperuricemia]. **Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi = Zhonghua Liuxingbingxue Zazhi**, [S. l.], v. 34, n. 7, p. 725–727, 2013.

JINDAL, A. *et al.* Diabetic Kidney Disease and the Cardiorenal syndrome: Old Disease New Perspectives. **Endocrinology and metabolism clinics of North America**, [S. l.], v. 42, n. 4, p. 789–808, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ecl.2013.06.002>

JO, S.-H. *et al.* In vitro and in vivo anti-hyperglycemic effects of Omija (*Schizandra chinensis*) fruit. **International Journal of Molecular Sciences**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 1359–1370, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/ijms12021359>

JOHNSON, R. J. *et al.* Hypothesis: could excessive fructose intake and uric acid cause type 2 diabetes? **Endocrine Reviews**, [S. l.], v. 30, n. 1, p. 96–116, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/er.2008-0033>

JOHNSON, T. O.; ERMOLIEFF, J.; JIROUSEK, M. R. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors for diabetes. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 1, n. 9, p. 696–709, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd895>

JUŹWIĄK, S. *et al.* Effect of quercetin on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in rabbits. **Pharmacological reports: PR**, [S. l.], v. 57, n. 5, p. 604–609, 2005.

KAHN, B. B.; FLIER, J. S. Obesity and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, [S. l.], v. 106, n. 4, p. 473–481, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/JCI10842>

KAHN, S. E. The Importance of  $\beta$ -Cell Failure in the Development and Progression of Type 2 Diabetes. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, [S. l.], v. 86, n. 9, p. 4047–4058, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jcem.86.9.7713>

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, [S. l.], v. 444, n. 7121, p. 840–846, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature05482>

KALAYCIOĞLU, Z. *et al.*  $\alpha$ -Glucosidase enzyme inhibitory effects and ursolic and oleanolic acid contents of fourteen Anatolian *Salvia* species. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [S. l.], v. 155, p. 284–287, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2018.04.014>

KAMALI, S. H. *et al.* Efficacy of ‘Itrifal Saghir’, a combination of three medicinal plants in the treatment of obesity; A randomized controlled trial. **DARU Journal of Pharmaceutical Sciences**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 33, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/2008-2231-20-33>

KANWAL, F. *et al.* Risk of Hepatocellular Cancer in Patients With Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **Gastroenterology**, [S. l.], v. 155, n. 6, p. 1828- 1837.e2, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2018.08.024>

KAO, Y.-H. *et al.* Tea, obesity, and diabetes. **Molecular Nutrition & Food Research**, [S. l.], v. 50, n. 2, p. 188–210, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200500109>

KASABRI, V.; AFIFI, F. U.; HAMDAN, I. Evaluation of the acute antihyperglycemic effects of four selected indigenous plants from Jordan used in traditional medicine. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 49, n. 7, p. 687–695, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13880209.2010.539619>

KASUGA, M.; KARLSSON, F. A.; KAHN, C. R. Insulin stimulates the phosphorylation of the 95,000-dalton subunit of its own receptor. **Science (New York, N.Y.)**, [S. l.], v. 215, n. 4529, p. 185–187, 1982. Disponível em: <https://doi.org/10.1126/science.7031900>

KATZ, A. *et al.* Quantitative insulin sensitivity check index: a simple, accurate method for assessing insulin sensitivity in humans. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 85, n. 7, p. 2402–2410, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/jcem.85.7.6661>

KAVUTCU, M. *et al.* Reduced enzymatic antioxidant defense mechanism in kidney tissues from gentamicin-treated guinea pigs: effects of vitamins E and C. **Nephron**, [S. l.], v. 72, n. 2, p. 269–274, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1159/000188853>

KELLERER, M. *et al.* Distinct alpha-subunit structures of human insulin receptor A and B variants determine differences in tyrosine kinase activities. **Biochemistry**, [S. l.], v. 31, n. 19, p. 4588–4596, 1992. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/bi00134a008>

KIM, J. *et al.* Anti-lipase and lipolytic activities of ursolic acid isolated from the roots of *Actinidia arguta*. **Archives of Pharmacal Research**, [S. l.], v. 32, n. 7, p. 983–987, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12272-009-1702-3>

KIM, J.; KOH, K. K.; QUON, M. J. The union of vascular and metabolic actions of insulin in sickness and in health. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [S. l.], v. 25, n. 5, p. 889–891, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/01.ATV.0000164044.42910.6b>

KIM, J.-A. Mechanisms underlying beneficial health effects of tea catechins to improve insulin resistance and endothelial dysfunction. **Endocrine, Metabolic & Immune Disorders Drug Targets**, [S. l.], v. 8, n. 2, p. 82–88, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/187153008784534349>

KISHNANI, P. S. *et al.* Diagnosis and management of glycogen storage disease type I: a practice guideline of the American College of Medical Genetics and Genomics. **Genetics in Medicine: Official Journal of the American College of Medical Genetics**, [S. l.], v. 16, n. 11, p. e1, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/gim.2014.128>

KLEINER, D. E.; BRUNT, E. M. Nonalcoholic fatty liver disease: pathologic patterns and biopsy evaluation in clinical research. **Seminars in Liver Disease**, [S. l.], v. 32, n. 1, p. 3–13, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0032-1306421>

KLEINRIDDERS, A. *et al.* Insulin action in brain regulates systemic metabolism and brain function. **Diabetes**, [S. l.], v. 63, n. 7, p. 2232–2243, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db14-0568>

KNOWLER, W. C. *et al.* Reduction in the incidence of type 2 diabetes with lifestyle intervention or metformin. **The New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 346, n. 6, p. 393–403, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJMoa012512>

KOEHN, F. E.; CARTER, G. T. The evolving role of natural products in drug discovery. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 206–220, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd1657>

KOHLI, R. *et al.* High-fructose, medium chain trans fat diet induces liver fibrosis and elevates plasma coenzyme Q9 in a novel murine model of obesity and nonalcoholic steatohepatitis. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, [S. l.], v. 52, n. 3, p. 934–944, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hep.23797>

KOLDERUP, A.; SVIHUS, B. **Fructose Metabolism and Relation to Atherosclerosis, Type 2 Diabetes, and Obesity**. [s. l.], 2015. Review Article. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2015/823081>. Acesso em: 19 jul. 2020.

KRENTZ, A.; BAILEY, C. Type 2 Diabetes in Practice. **Journal of the Royal Society of Medicine**, [S. l.], v. 94, n. 8, p. 422–423, 2001.

KRENTZ, A. J.; BAILEY, C. J. Oral antidiabetic agents: current role in type 2 diabetes mellitus. **Drugs**, [S. l.], v. 65, n. 3, p. 385–411, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.2165/00003495-200565030-00005>

KRISHNAN, E. *et al.* Hyperuricemia in young adults and risk of insulin resistance, prediabetes, and diabetes: a 15-year follow-up study. **American Journal of Epidemiology**, [S. l.], v. 176, n. 2, p. 108–116, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/aje/kws002>

KUNASEGARAN, T. *et al.* Quercetin and pioglitazone synergistically reverse endothelial dysfunction in isolated aorta from fructose-streptozotocin (F-STZ)-induced diabetic rats. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 799, p. 160–170, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2017.02.022>

KUSHMERICK, M. J.; MOERLAND, T. S.; WISEMAN, R. W. Mammalian skeletal muscle fibers distinguished by contents of phosphocreatine, ATP, and Pi. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 89, n. 16, p. 7521–7525, 1992.

KUSMINSKI, C. M. *et al.* Diabetes and apoptosis: lipotoxicity. **Apoptosis: An International Journal on Programmed Cell Death**, [S. l.], v. 14, n. 12, p. 1484–1495, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10495-009-0352-8>

KYROU, I. *et al.* Clinical Problems Caused by Obesity. In: FEINGOLD, K. R. *et al.* (org.). **Endotext**. South Dartmouth (MA): MDText.com, Inc., 2000. *E-book*. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278973/>. Acesso em: 20 jun. 2020.

LAKKA, H.-M. *et al.* The metabolic syndrome and total and cardiovascular disease mortality in middle-aged men. **JAMA**, [S. l.], v. 288, n. 21, p. 2709–2716, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.288.21.2709>

LATHA, R. C. R.; DAISY, P. Influence of Terminalia bellerica Roxb. fruit extracts on biochemical parameters in streptozotocin diabetic rats. **IJP - International Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 6, n. 2, p. 89–96, 2010.

LAZAR, D. F.; SALTIEL, A. R. Lipid phosphatases as drug discovery targets for type 2 diabetes. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 5, n. 4, p. 333–342, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd2007>

LE ROUX, C. W. *et al.* 3 years of liraglutide versus placebo for type 2 diabetes risk reduction and weight management in individuals with prediabetes: a randomised, double-blind trial. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 389, n. 10077, p. 1399–1409, 2017. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(17\)30069-7](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(17)30069-7)

LEE, J. S. *et al.* Triglyceride and HDL-C Dyslipidemia and Risks of Coronary Heart Disease and Ischemic Stroke by Glycemic Dysregulation Status: The Strong Heart Study. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 40, n. 4, p. 529–537, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc16-1958>

LEE, Y. S. *et al.* Inhibition of Protein Tyrosine Phosphatase 1 $\beta$  by Hispidin Derivatives Isolated from the Fruiting Body of *Phellinus linteus*. **Natural Product Communications**, [S. l.], v. 5, n. 12, p. 1934578X1000501218, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/1934578X1000501218>

LEE, Y. S.; WOLLAM, J.; OLEFSKY, J. M. An Integrated View of Immunometabolism. **Cell**, [S. l.], v. 172, n. 1–2, p. 22–40, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2017.12.025>

LEVEY, A. S. *et al.* National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. **Annals of Internal Medicine**, [S. l.], v. 139, n. 2, p. 137–147, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-139-2-200307150-00013>

LEY, S. H. *et al.* Prevention and management of type 2 diabetes: dietary components and nutritional strategies. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 383, n. 9933, p. 1999–2007, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(14\)60613-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(14)60613-9)

LI, Y. *et al.* Exposure to the Chinese Famine in Early Life and the Risk of Hyperglycemia and Type 2 Diabetes in Adulthood. **Diabetes**, [S. l.], v. 59, n. 10, p. 2400–2406, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db10-0385>

LI, Y. *et al.* Probing the interaction between 3 flavonoids and pancreatic lipase by methods of fluorescence spectroscopy and enzymatic kinetics. [S. l.], 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00217-011-1491-z>



LI, Z. *et al.* Meta-analysis: pharmacologic treatment of obesity. **Annals of Internal Medicine**, [S. l.], v. 142, n. 7, p. 532–546, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.7326/0003-4819-142-7-200504050-00012>

LIM, A. K. Diabetic nephropathy – complications and treatment. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, [S. l.], v. 7, p. 361–381, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S40172>

LIM, H.-Y.; BODMER, R. Phospholipid homeostasis and lipotoxic cardiomyopathy. **Fly**, [S. l.], v. 5, n. 3, p. 234–236, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.4161/fly.5.3.15708>

LIM, J. S. *et al.* The role of fructose in the pathogenesis of NAFLD and the metabolic syndrome. **Nature Reviews. Gastroenterology & Hepatology**, [S. l.], v. 7, n. 5, p. 251–264, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2010.41>

LIPSKA, K. J.; KRUMHOLZ, H. M. Is Hemoglobin A1c the Right Outcome for Studies of Diabetes? **JAMA**, [S. l.], v. 317, n. 10, p. 1017–1018, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2017.0029>

LIU, Y. *et al.* Herbal Medicine for the Treatment of Obesity: An Overview of Scientific Evidence from 2007 to 2017. **Evidence-based Complementary and Alternative Medicine : eCAM**, [S. l.], v. 2017, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2017/8943059>. Acesso em: 27 set. 2020.

LÓPEZ-SOLDADO, I. *et al.* Liver glycogen reduces food intake and attenuates obesity in a high-fat diet-fed mouse model. **Diabetes**, [S. l.], v. 64, n. 3, p. 796–807, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db14-0728>

LOZANO, I. *et al.* High-fructose and high-fat diet-induced disorders in rats: impact on diabetes risk, hepatic and vascular complications. **Nutrition & Metabolism**, [S. l.], v. 13, p. 15, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12986-016-0074-1>

LUCAS, E. *et al.* Obesity-induced cardiac lipid accumulation in adult mice is modulated by G protein-coupled receptor kinase 2 levels. **Cardiovascular Diabetology**, [S. l.], v. 15, n. 1, p. 155, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12933-016-0474-6>

MABHIDA, S. E. *et al.* A Lanosteryl triterpene from *Protorhus longifolia* augments insulin signaling in type 1 diabetic rats. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 265, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2337-z>

MACLEAN, P. S. *et al.* Biological control of appetite: A daunting complexity. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, [S. l.], v. 25 Suppl 1, p. S8–S16, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/oby.21771>

MADIRAJU, A. K. *et al.* Metformin suppresses gluconeogenesis by inhibiting mitochondrial glycerophosphate dehydrogenase. **Nature**, [S. l.], v. 510, n. 7506, p. 542–546, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature13270>

MADKHALI, H. A. *et al.* **Moringa oleifera Lam. (family Moringaceae) leaf extract attenuates high-fat diet-induced dyslipidemia and vascular endothelium dysfunction in Wistar albino rats.** [s. l.], 2019. Disponível em: /paper/Moringa-oleifera-Lam.-(family-Moringaceae)-leaf-and-Madkhali-Alharthy/ee4bdffdd99081515b0254c43c8a9f771351dec1. Acesso em: 2 jun. 2020.

MAKIHARA, H. *et al.* Preventive effect of *Terminalia bellirica* on obesity and metabolic disorders in spontaneously obese type 2 diabetic model mice. **Journal of Natural Medicines**, [S. l.], v. 66, n. 3, p. 459–467, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11418-011-0606-y>

MAMBIYA, M. *et al.* The Play of Genes and Non-genetic Factors on Type 2 Diabetes. **Frontiers in Public Health**, [S. l.], v. 7, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2019.00349>. Acesso em: 22 set. 2020.

MARCHESINI, G. *et al.* WHO and ATP III proposals for the definition of the metabolic syndrome in patients with Type 2 diabetes. **Diabetic Medicine**, [S. l.], v. 21, n. 4, p. 383–387, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1464-5491.2004.01115.x>

MARÍN-ROYO, G. *et al.* Inhibition of galectin-3 ameliorates the consequences of cardiac lipotoxicity in a rat model of diet-induced obesity. **Disease Models & Mechanisms**, [S. l.], v. 11, n. 2, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/dmm.032086>

MARÍN-ROYO, G. *et al.* The Impact of Cardiac Lipotoxicity on Cardiac Function and Mirnas Signature in Obese and Non-Obese Rats with Myocardial Infarction. **Scientific**

**Reports**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 444, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36914-y>

MARRA, F.; SVEGLIATI-BARONI, G. Lipotoxicity and the gut-liver axis in NASH pathogenesis. **Journal of Hepatology**, [S. l.], v. 68, n. 2, p. 280–295, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2017.11.014>

MARTEL, J. *et al.* Anti-obesogenic and antidiabetic effects of plants and mushrooms. **Nature Reviews. Endocrinology**, [S. l.], v. 13, n. 3, p. 149–160, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.142>

MARTINS, F. *et al.* Maté tea inhibits in vitro pancreatic lipase activity and has hypolipidemic effect on high-fat diet-induced obese mice. **Obesity (Silver Spring, Md.)**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 42–47, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/oby.2009.189>

MASARONE, M. *et al.* Non alcoholic fatty liver: epidemiology and natural history. **Reviews on Recent Clinical Trials**, [S. l.], v. 9, n. 3, p. 126–133, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1574887109666141216111143>

MASARONE, M. *et al.* **Role of Oxidative Stress in Pathophysiology of Nonalcoholic Fatty Liver Disease**. [s. l.], 2018. Review Article. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2018/9547613>. Acesso em: 17 jun. 2020.

MASIELLO, P. *et al.* Experimental NIDDM: development of a new model in adult rats administered streptozotocin and nicotinamide. **Diabetes**, [S. l.], v. 47, n. 2, p. 224–229, 1998. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diab.47.2.224>

MATTEONI, C. A. *et al.* Nonalcoholic fatty liver disease: a spectrum of clinical and pathological severity. **Gastroenterology**, [S. l.], v. 116, n. 6, p. 1413–1419, 1999. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0016-5085\(99\)70506-8](https://doi.org/10.1016/s0016-5085(99)70506-8)

MATTHEWS, D. R. *et al.* Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. **Diabetologia**, [S. l.], v. 28, n. 7, p. 412–419, 1985. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/BF00280883>

MAX C. PETERSEN; VATNER, D. F.; SHULMAN, G. I. Regulation of hepatic glucose metabolism in health and disease. **Nature Reviews. Endocrinology**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 572–587, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.80>

MCARDLE, M. A. *et al.* Mechanisms of Obesity-Induced Inflammation and Insulin Resistance: Insights into the Emerging Role of Nutritional Strategies. **Frontiers in Endocrinology**, [S. l.], v. 4, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.3389/fendo.2013.00052>. Acesso em: 24 set. 2020.

MCCLENDON, K. S.; RICHE, D. M.; UWAIFO, G. I. Orlistat: current status in clinical therapeutics. **Expert Opinion on Drug Safety**, [S. l.], v. 8, n. 6, p. 727–744, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/14740330903321485>

MCGARRY, J. D. Malonyl-CoA and carnitine palmitoyltransferase I: an expanding partnership. **Biochemical Society Transactions**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 481–485, 1995. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/bst0230481>

MCLENNAN, S. V. *et al.* Changes in hepatic glutathione metabolism in diabetes. **Diabetes**, [S. l.], v. 40, n. 3, p. 344–348, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diab.40.3.344>

MEDAGAMA, A. B. *et al.* Use of Complementary and Alternative Medicines (CAMs) among type 2 diabetes patients in Sri Lanka: a cross sectional survey. **BMC complementary and alternative medicine**, [S. l.], v. 14, p. 374, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-374>

MENDES, F. D. *et al.* Prevalence and Indicators of Portal Hypertension in Patients With Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Clinical Gastroenterology and Hepatology**, [S. l.], v. 10, n. 9, p. 1028- 1033.e2, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2012.05.008>

MENG, R. *et al.* Erythropoietin inhibits gluconeogenesis and inflammation in the liver and improves glucose intolerance in high-fat diet-fed mice. **PloS One**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. e53557, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0053557>

MILLER, R. A. *et al.* Biguanides suppress hepatic glucagon signalling by decreasing production of cyclic AMP. **Nature**, [S. l.], v. 494, n. 7436, p. 256–260, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature11808>

MIYAO, M. *et al.* Pivotal role of liver sinusoidal endothelial cells in NAFLD/NASH progression. **Laboratory Investigation**, [S. l.], v. 95, n. 10, p. 1130–1144, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/labinvest.2015.95>

MOHAMMED, A. *et al.* Inhibition of key enzymes linked to type 2 diabetes by compounds isolated from Aframomum melegueta fruit. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 55, n. 1, p. 1010–1016, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13880209.2017.1286358>

MORI, D. M. *et al.* Temporal response pattern of biochemical analytes in experimental diabetes. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, [S. l.], v. 38, n. 2, p. 183–191, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/BA20030034>

MORINO, K. *et al.* Muscle-specific IRS-1 Ser->Ala transgenic mice are protected from fat-induced insulin resistance in skeletal muscle. **Diabetes**, [S. l.], v. 57, n. 10, p. 2644–2651, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db06-0454>

MULHERIN, A. J. *et al.* Mechanisms underlying metformin-induced secretion of glucagon-like peptide-1 from the intestinal L cell. **Endocrinology**, [S. l.], v. 152, n. 12, p. 4610–4619, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/en.2011-1485>

MULLARKEY, C. J.; EDELSTEIN, D.; BROWNLEE, M. Free radical generation by early glycation products: A mechanism for accelerated atherogenesis in diabetes. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, [S. l.], v. 173, n. 3, p. 932–939, 1990. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0006-291X\(05\)80875-7](https://doi.org/10.1016/S0006-291X(05)80875-7)

NA, B. *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B (PTP1B) inhibitory activity and glucosidase inhibitory activity of compounds isolated from Agrimonia pilosa. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 54, n. 3, p. 474–480, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1048372>

NAKAGAWA, T. *et al.* A causal role for uric acid in fructose-induced metabolic syndrome. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, [S. l.], v. 290, n. 3, p. F625–F631, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00140.2005>

NASCIMBENI, F. *et al.* From NAFLD in clinical practice to answers from guidelines. **Journal of Hepatology**, [S. l.], v. 59, n. 4, p. 859–871, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jhep.2013.05.044>

NATHAN, D. M. *et al.* Impaired fasting glucose and impaired glucose tolerance: implications for care. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 30, n. 3, p. 753–759, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc07-9920>

NEWMAN, D. J.; CRAGG, G. M.; SNADER, K. M. Natural products as sources of new drugs over the period 1981-2002. **Journal of Natural Products**, [S. l.], v. 66, n. 7, p. 1022–1037, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/np030096l>

NGUYEN, N. T. *et al.* Relationship between obesity and diabetes in a US adult population: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey, 1999-2006. **Obesity Surgery**, [S. l.], v. 21, n. 3, p. 351–355, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11695-010-0335-4>

NICOTERA, P.; ORRENIUS, S. Role of thiols in protection against biological reactive intermediates. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, [S. l.], v. 197, p. 41–51, 1986. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5134-4\\_4](https://doi.org/10.1007/978-1-4684-5134-4_4)

NORRIS, K. C. *et al.* Albuminuria, serum creatinine, and estimated glomerular filtration rate as predictors of cardio-renal outcomes in patients with type 2 diabetes mellitus and kidney disease: a systematic literature review. **BMC Nephrology**, [S. l.], v. 19, n. 1, p. 36, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12882-018-0821-9>

NYBY, M. D. *et al.* Vascular Angiotensin type 1 receptor expression is associated with vascular dysfunction, oxidative stress and inflammation in fructose-fed rats. **Hypertension Research: Official Journal of the Japanese Society of Hypertension**, [S. l.], v. 30, n. 5, p. 451–457, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1291/hypres.30.451>

O'BRIEN, R. M.; GRANNER, D. K. Regulation of gene expression by insulin. **Physiological Reviews**, [S. l.], v. 76, n. 4, p. 1109–1161, 1996. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.1996.76.4.1109>

OKAYASU, S. *et al.* The evaluation of risk factors associated with adverse drug reactions by metformin in type 2 diabetes mellitus. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, [S. l.], v. 35, n. 6, p. 933–937, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1248/bpb.35.933>

OKOSUN, I. S. *et al.* Predictive values of waist circumference for dyslipidemia, type 2 diabetes and hypertension in overweight White, Black, and Hispanic American adults.

**Journal of Clinical Epidemiology**, [S. l.], v. 53, n. 4, p. 401–408, 2000. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0895-4356\(99\)00217-6](https://doi.org/10.1016/s0895-4356(99)00217-6)

O'NEILL, S. *et al.* Blood-Based Biomarkers for Metabolic Syndrome. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, [S. l.], v. 27, n. 6, p. 363–374, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2016.03.012>

O'NEILL, S.; O'DRISCOLL, L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. **Obesity Reviews: An Official Journal of the International Association for the Study of Obesity**, [S. l.], v. 16, n. 1, p. 1–12, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/obr.12229>

OP DE BEECK, A.; EIZIRIK, D. L. Viral infections in type 1 diabetes mellitus--why the  $\beta$  cells? **Nature Reviews. Endocrinology**, [S. l.], v. 12, n. 5, p. 263–273, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.30>

OSTMAN, A.; BÖHMER, F. D. Regulation of receptor tyrosine kinase signaling by protein tyrosine phosphatases. **Trends in Cell Biology**, [S. l.], v. 11, n. 6, p. 258–266, 2001. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s0962-8924\(01\)01990-0](https://doi.org/10.1016/s0962-8924(01)01990-0)

OYEDEMI, S. O. *et al.* Quercetin modulates hyperglycemia by improving the pancreatic antioxidant status and enzymes activities linked with glucose metabolism in type 2 diabetes model of rats: In silico studies of molecular interaction of quercetin with hexokinase and catalase. **Journal of Food Biochemistry**, [S. l.], v. 44, n. 2, p. e13127, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/jfbc.13127>

OZOUGWU *et al.* The pathogenesis and pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus. **Journal of Physiology and Pathophysiology**, [S. l.], v. 4, n. 4, p. 46–57, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.5897/JPAP2013.0001>

PALSAMY, P.; SUBRAMANIAN, S. Resveratrol protects diabetic kidney by attenuating hyperglycemia-mediated oxidative stress and renal inflammatory cytokines via Nrf2-Keap1 signaling. **Biochimica Et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1812, n. 7, p. 719–731, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2011.03.008>

PANZHINSKIY, E.; REN, J.; NAIR, S. Pharmacological inhibition of protein tyrosine phosphatase 1B: a promising strategy for the treatment of obesity and type 2 diabetes

mellitus. **Current Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 20, n. 21, p. 2609–2625, 2013 a. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/0929867311320210001>

PANZHINSKIY, E.; REN, J.; NAIR, S. Protein tyrosine phosphatase 1B and insulin resistance: role of endoplasmic reticulum stress/reactive oxygen species/nuclear factor kappa B axis. **PloS One**, [S. l.], v. 8, n. 10, p. e77228, 2013 b. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077228>

PARADIS, V. *et al.* Hepatocellular carcinomas in patients with metabolic syndrome often develop without significant liver fibrosis: a pathological analysis. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, [S. l.], v. 49, n. 3, p. 851–859, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hep.22734>

PASARÍN, M. *et al.* Sinusoidal Endothelial Dysfunction Precedes Inflammation and Fibrosis in a Model of NAFLD. **PLOS ONE**, [S. l.], v. 7, n. 4, p. e32785, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0032785>

PASARÍN, M. *et al.* Intrahepatic vascular changes in non-alcoholic fatty liver disease: Potential role of insulin-resistance and endothelial dysfunction. **World Journal of Gastroenterology**, [S. l.], v. 23, n. 37, p. 6777–6787, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3748/wjg.v23.i37.6777>

PATEL, S. S.; SHAH, R. S.; GOYAL, R. K. Antihyperglycemic, antihyperlipidemic and antioxidant effects of Dihar, a polyherbal ayurvedic formulation in streptozotocin induced diabetic rats. **Indian Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 47, n. 7, p. 564–570, 2009.

PEARSON, E. R. Type 2 diabetes: a multifaceted disease. **Diabetologia**, [S. l.], v. 62, n. 7, p. 1107–1112, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-019-4909-y>

PEREIRA, A. C. *et al.* Inhibition of  $\alpha$ -glucosidase and hypoglycemic effect of stilbenes from the Amazonian plant *Deguelia rufescens* var. *urucu* (Ducke) A. M. G. Azevedo (Leguminosae). **Planta Medica**, [S. l.], v. 78, n. 1, p. 36–38, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1055/s-0031-1280199>

PEREZ-VIZCAINO, F. *et al.* Antihypertensive effects of the flavonoid quercetin. **Pharmacological Reports**, [S. l.], v. 61, n. 1, p. 67–75, 2009. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S1734-1140\(09\)70008-8](https://doi.org/10.1016/S1734-1140(09)70008-8)



PERNICOVA, I.; KORBONITS, M. Metformin—mode of action and clinical implications for diabetes and cancer. **Nature Reviews Endocrinology**, [S. l.], v. 10, n. 3, p. 143–156, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.256>

PHAM, A. T. *et al.*  $\alpha$ -Glucosidase inhibition, 15-lipoxygenase inhibition, and brine shrimp toxicity of extracts and isolated compounds from *Terminalia macroptera* leaves. **Pharmaceutical Biology**, [S. l.], v. 52, n. 9, p. 1166–1169, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.880486>

PILITSI, E. *et al.* Pharmacotherapy of obesity: Available medications and drugs under investigation. **Metabolism: Clinical and Experimental**, [S. l.], v. 92, p. 170–192, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.metabol.2018.10.010>

PI-SUNYER, X. The medical risks of obesity. **Postgraduate Medicine**, [S. l.], v. 121, n. 6, p. 21–33, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.3810/pgm.2009.11.2074>

POTENZA, M. A.; ADDABBO, F.; MONTAGNANI, M. Vascular actions of insulin with implications for endothelial dysfunction. **American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism**, [S. l.], v. 297, n. 3, p. E568-577, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/ajpendo.00297.2009>

POZZILLI, P. *et al.* The A1C and ABCD of glycaemia management in type 2 diabetes: a physician's personalized approach. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, [S. l.], v. 26, n. 4, p. 239–244, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/dmrr.1092>

PRASAD, G. V. R. Metabolic syndrome and chronic kidney disease: Current status and future directions. **World Journal of Nephrology**, [S. l.], v. 3, n. 4, p. 210–219, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.5527/wjn.v3.i4.210>

PRYOR, R.; CABREIRO, F. Repurposing metformin: an old drug with new tricks in its binding pockets. **The Biochemical Journal**, [S. l.], v. 471, n. 3, p. 307–322, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/BJ20150497>

PUNTHAKEE, Z.; GOLDENBERG, R.; KATZ, P. Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes, Prediabetes and Metabolic Syndrome. **Canadian Journal of Diabetes**, [S. l.], v. 42, p. S10–S15, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcjd.2017.10.003>

PURCELL, K. *et al.* The effect of rate of weight loss on long-term weight management: a randomised controlled trial. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, [S. l.], v. 2, n. 12, p. 954–962, 2014. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(14\)70200-1](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(14)70200-1)

QUINE, S. D.; RAGHU, P. S. Effects of (-)-epicatechin, a flavonoid on lipid peroxidation and antioxidants in streptozotocin-induced diabetic liver, kidney and heart. **Pharmacological reports: PR**, [S. l.], v. 57, n. 5, p. 610–615, 2005.

RAGHU, G. *et al.* Ellagic acid inhibits non-enzymatic glycation and prevents proteinuria in diabetic rats. **Food & Function**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 1574–1583, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1039/C5FO01372K>

RAHIMPOUR, S.; DEHKORDI, A. H. Antioxidant defense system versus 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine; a short look to recent findings. **Journal of Renal Injury Prevention**, [S. l.], v. 7, n. 3, p. 121–123, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.15171/jrip.2018.29>

RAJWANI, A.; CUBBON, R. M.; WHEATCROFT, S. B. Cell-specific insulin resistance: implications for atherosclerosis. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, [S. l.], v. 28, n. 8, p. 627–634, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/dmrr.2336>

RAMACHANDRAN, S.; RAJASEKARAN, A.; MANISENTHILKUMAR, K. T. Investigation of hypoglycemic, hypolipidemic and antioxidant activities of aqueous extract of Terminalia paniculata bark in diabetic rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, [S. l.], v. 2, n. 4, p. 262–268, 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(12\)60020-3](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(12)60020-3)

RAMACHANDRAPP, S.; FAROOQI, I. S. Genetic approaches to understanding human obesity. **The Journal of Clinical Investigation**, [S. l.], v. 121, n. 6, p. 2080–2086, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/JCI46044>

RAMAKRISHNAN, S. K. *et al.* HIF2 $\alpha$  Is an Essential Molecular Brake for Postprandial Hepatic Glucagon Response Independent of Insulin Signaling. **Cell Metabolism**, [S. l.], v. 23, n. 3, p. 505–516, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2016.01.004>

RAO, N. K.; NAMMI, S. Antidiabetic and renoprotective effects of the chloroform extract of Terminalia chebula Retz. seeds in streptozotocin-induced diabetic rats. **BMC**

**Complementary and Alternative Medicine**, [S. l.], v. 6, p. 17, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1472-6882-6-17>

REDONDO, M. J. LADA: time for a new definition. **Diabetes**, [S. l.], v. 62, n. 2, p. 339–340, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db12-1171>

RIBEIRO, R. de T. M.; LOIOLA, M. I. B.; SALES, M. F. de. Terminalia L. (Combretaceae) do Estado de Pernambuco, Brasil. **Hoehnea**, [S. l.], v. 45, n. 2, p. 307–313, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/2236-8906-63/2017>

RIDKER, P. M.; WILSON, P. W. F.; GRUNDY, S. M. Should C-reactive protein be added to metabolic syndrome and to assessment of global cardiovascular risk? **Circulation**, [S. l.], v. 109, n. 23, p. 2818–2825, 2004. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000132467.45278.59>

RINES, A. K. *et al.* Targeting hepatic glucose metabolism in the treatment of type 2 diabetes. **Nature Reviews. Drug Discovery**, [S. l.], v. 15, n. 11, p. 786–804, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrd.2016.151>

RISSE, M. A. *et al.* The Importance of Tubular Function in Chronic Kidney Disease. **International Journal of Nephrology and Renovascular Disease**, [S. l.], v. 12, p. 257–262, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/IJNRD.S216673>

RIYAPHAN, J. *et al.* Potent Natural Inhibitors of Alpha-Glucosidase and Alpha-Amylase against Hyperglycemia in Vitro and in Vivo. [S. l.], 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.20944/preprints201703.0116.v1>. Acesso em: 3 jun. 2020.

ROCKETTE-WAGNER, B. *et al.* The impact of lifestyle intervention on sedentary time in individuals at high risk of diabetes. **Diabetologia**, [S. l.], v. 58, n. 6, p. 1198–1202, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-015-3565-0>

ROLANDSSON, O.; PALMER, J. P. Latent autoimmune diabetes in adults (LADA) is dead: long live autoimmune diabetes! **Diabetologia**, [S. l.], v. 53, n. 7, p. 1250–1253, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-010-1713-0>

ROMAGNOLI, M. *et al.* Xanthine oxidase-induced oxidative stress causes activation of NF-kappaB and inflammation in the liver of type I diabetic rats. **Free Radical Biology &**

**Medicine**, [S. l.], v. 49, n. 2, p. 171–177, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.03.024>

ROMEO, G. R.; LEE, J.; SHOELSON, S. E. Metabolic syndrome, insulin resistance, and roles of inflammation--mechanisms and therapeutic targets. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, [S. l.], v. 32, n. 8, p. 1771–1776, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.111.241869>

RONDINONE, C. M. *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B reduction regulates adiposity and expression of genes involved in lipogenesis. **Diabetes**, [S. l.], v. 51, n. 8, p. 2405–2411, 2002. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/diabetes.51.8.2405>

RORSMAN, P.; RENSTRÖM, E. Insulin granule dynamics in pancreatic beta cells. **Diabetologia**, [S. l.], v. 46, n. 8, p. 1029–1045, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-003-1153-1>

ROS, S. *et al.* Restoration of hepatic glycogen deposition reduces hyperglycaemia, hyperphagia and gluconeogenic enzymes in a streptozotocin-induced model of diabetes in rats. **Diabetologia**, [S. l.], v. 54, n. 10, p. 2639–2648, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-011-2238-x>

ROY, S. *et al.* New insights into hyperglycemia-induced molecular changes in microvascular cells. **Journal of Dental Research**, [S. l.], v. 89, n. 2, p. 116–127, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1177/0022034509355765>

SAEED, A. *et al.* Glycogen storage disease type 1a is associated with disturbed vitamin A metabolism and elevated serum retinol levels. **Human Molecular Genetics**, [S. l.], v. 29, n. 2, p. 264–273, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/hmg/ddz283>

SAFHI, M. M. *et al.* Hepatoprotective Potential of Sargassum muticum against STZ-Induced Diabetic Liver Damage in Wistar Rats by Inhibiting Cytokines and the Apoptosis Pathway. **Analytical Cellular Pathology (Amsterdam)**, [S. l.], v. 2019, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1155/2019/7958701>. Acesso em: 3 jun. 2020.

SAGOO, M. K.; GNUDI, L. Diabetic nephropathy: Is there a role for oxidative stress? **Free Radical Biology and Medicine**, [S. l.], v. 116, p. 50–63, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2017.12.040>

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**, [S. l.], v. 414, n. 6865, p. 799–806, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/414799a>

SAMUEL, V. T. Fructose induced lipogenesis: from sugar to fat to insulin resistance. **Trends in Endocrinology and Metabolism: TEM**, [S. l.], v. 22, n. 2, p. 60–65, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2010.10.003>

SAMUEL, V. T.; SHULMAN, G. I. Mechanisms for insulin resistance: common threads and missing links. **Cell**, [S. l.], v. 148, n. 5, p. 852–871, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.017>

SANGWENI, N. F. *et al.* Lanosteryl triterpenes from *Protorhus longifolia* as a cardioprotective agent: a mini review. **Heart Failure Reviews**, [S. l.], v. 24, n. 1, p. 155–166, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10741-018-9733-9>

SANT'ANA PEREIRA, J. A. *et al.* Myosin heavy chain isoform expression and high energy phosphate content in human muscle fibres at rest and post-exercise. **The Journal of Physiology**, [S. l.], v. 496, n. Pt 2, p. 583–588, 1996.

SCHERNTHANER, G.; CURRIE, C. J.; SCHERNTHANER, G.-H. Do We Still Need Pioglitazone for the Treatment of Type 2 Diabetes? A risk-benefit critique in 2013. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 36, n. Supplement 2, p. S155–S161, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dcS13-2031>

SCHILLING, J. D.; MANN, D. L. Diabetic cardiomyopathy: bench to bedside. **Heart Failure Clinics**, [S. l.], v. 8, n. 4, p. 619–631, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.hfc.2012.06.007>

SCHULZE, M. B.; HU, F. B. Primary prevention of diabetes: what can be done and how much can be prevented? **Annual Review of Public Health**, [S. l.], v. 26, p. 445–467, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.26.021304.144532>

SCHULZE P. CHRISTIAN; DROSATOS KONSTANTINOS; GOLDBERG IRA J. Lipid Use and Misuse by the Heart. **Circulation Research**, [S. l.], v. 118, n. 11, p. 1736–1751, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.306842>

SCHWARTZ, S. S. *et al.* The Time Is Right for a New Classification System for Diabetes: Rationale and Implications of the  $\beta$ -Cell-Centric Classification Schema. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 179–186, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc15-1585>

SCHWARTZ, S. S. *et al.* A Unified Pathophysiological Construct of Diabetes and its Complications. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, [S. l.], v. 28, n. 9, p. 645–655, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.tem.2017.05.005>

SHAO, Y. *et al.* Serum uric acid as a risk factor of all-cause mortality and cardiovascular events among type 2 diabetes population: Meta-analysis of correlational evidence. **Journal of Diabetes and Its Complications**, [S. l.], v. 33, n. 10, p. 107409, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jdiacomp.2019.07.006>

SHARMA, H. *et al.* Pentacyclic triterpenes: New tools to fight metabolic syndrome. **Phytomedicine: International Journal of Phytotherapy and Phytopharmacology**, [S. l.], v. 50, p. 166–177, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.09.011>

SHARMA, R. *et al.* Comparison of the circulating metabolite profile of PF-04991532, a hepatoselective glucokinase activator, across preclinical species and humans: potential implications in metabolites in safety testing assessment. **Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals**, [S. l.], v. 43, n. 2, p. 190–198, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1124/dmd.114.061218>

SHAWKY, N. M. *et al.* Comparison of the effects of sulforaphane and pioglitazone on insulin resistance and associated dyslipidemia, hepatosteatosis, and endothelial dysfunction in fructose-fed rats. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, [S. l.], v. 66, p. 43–54, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.etap.2018.12.008>

SHIHABUDEEN, H.; HANSI PRISCILLA, D.; THIRUMURUGAN, K. Cinnamon extract inhibits  $\alpha$ -glucosidase activity and dampens postprandial glucose excursion in diabetic rats. **Nutrition & Metabolism**, [S. l.], v. 8, n. 1, p. 46, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/1743-7075-8-46>

SHOELSON, S. E.; LEE, J.; GOLDFINE, A. B. Inflammation and insulin resistance. **The Journal of Clinical Investigation**, [S. l.], v. 116, n. 7, p. 1793–1801, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1172/JCI29069>

SHUKLA, S. *et al.* Studies on anti-inflammatory, antipyretic and analgesic properties of Caesalpinia bonducella F. seed oil in experimental animal models. **Food and Chemical Toxicology: An International Journal Published for the British Industrial Biological Research Association**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 61–64, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.09.015>

SHYNI, G. L. *et al.* Chebulagic acid from Terminalia chebula enhances insulin mediated glucose uptake in 3T3-L1 adipocytes via PPAR $\gamma$  signaling pathway. **BioFactors (Oxford, England)**, [S. l.], v. 40, n. 6, p. 646–657, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/biof.1193>

SILVA, D. H. A. da *et al.* Hexane fraction from Brazilian Morus nigra leaves improved oral carbohydrate tolerance and inhibits  $\alpha$ -amylase and  $\alpha$ -glucosidase activities in diabetic mice. **Natural Product Research**, [S. l.], p. 1–4, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/14786419.2020.1723087>

SILVA, F. S. G.; OLIVEIRA, P. J.; DUARTE, M. F. Oleanolic, Ursolic, and Betulinic Acids as Food Supplements or Pharmaceutical Agents for Type 2 Diabetes: Promise or Illusion? **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [S. l.], v. 64, n. 15, p. 2991–3008, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.5b06021>

SIMMONS, R. K. *et al.* The metabolic syndrome: useful concept or clinical tool? Report of a WHO Expert Consultation. **Diabetologia**, [S. l.], v. 53, n. 4, p. 600–605, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00125-009-1620-4>

SINGH, G.; CORREA, R. Pioglitazone. *In: StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2020. *E-book*. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544287/>. Acesso em: 5 jul. 2020.

SOLTANI, Z. *et al.* Potential role of uric acid in metabolic syndrome, hypertension, kidney injury, and cardiovascular diseases: is it time for reappraisal? **Current Hypertension Reports**, [S. l.], v. 15, n. 3, p. 175–181, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11906-013-0344-5>

SONG, R. Mechanism of Metformin: A Tale of Two Sites. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 39, n. 2, p. 187–189, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dci15-0013>

SRINIVASAN, K. *et al.* Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabetes and pharmacological screening. **Pharmacological Research**, [S. l.], v. 52, n. 4, p. 313–320, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2005.05.004>

SRIVASTAVA, A.; JAGAN MOHAN RAO, L.; SHIVANANDAPPA, T. Isolation of ellagic acid from the aqueous extract of the roots of *Decalepis hamiltonii*: Antioxidant activity and cytoprotective effect. **Food Chemistry**, [S. l.], v. 103, n. 1, p. 224–233, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.010>

SRIVASTAVA, G.; APOVIAN, C. M. Current pharmacotherapy for obesity. **Nature Reviews. Endocrinology**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 12–24, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.122>

STACE, C. A. Combretaceae. **Flowering Plants · Eudicots**, [S. l.], p. 67–82, 2007. Disponível em: [https://doi.org/10.1007/978-3-540-32219-1\\_11](https://doi.org/10.1007/978-3-540-32219-1_11)

STIRBAN, A.; GAWLOWSKI, T.; RODEN, M. Vascular effects of advanced glycation endproducts: Clinical effects and molecular mechanisms. **Molecular Metabolism**, [S. l.], v. 3, n. 2, p. 94–108, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2013.11.006>

STRAIN, J. J. Disturbances of micronutrient and antioxidant status in diabetes. **Proceedings of the Nutrition Society**, [S. l.], v. 50, n. 3, p. 591–604, 1991. Disponível em: <https://doi.org/10.1079/PNS19910073>

STUMVOLL, M.; GOLDSTEIN, B. J.; VAN HAEFTEN, T. W. Type 2 diabetes: principles of pathogenesis and therapy. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 365, n. 9467, p. 1333–1346, 2005. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(05\)61032-X](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(05)61032-X)

SUNDARAM, R. *et al.* Efficacy of 20-OH-ecdysone on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in streptozotocin induced diabetic rats. **Phytomedicine**, [S. l.], v. 19, n. 8, p. 725–729, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2012.02.019>

SUNIL K. PANCHAL *et al.* High-carbohydrate high-fat diet-induced metabolic syndrome and cardiovascular remodeling in rats. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, [S. l.], v. 57, n. 1, p. 51–64, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1097/FJC.0b013e3181feb90a>



TABÁK, A. G. *et al.* Prediabetes: A high-risk state for developing diabetes. **Lancet**, [S. l.], v. 379, n. 9833, p. 2279–2290, 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60283-9](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60283-9)

TAHARA, A.; MATSUYAMA-YOKONO, A.; SHIBASAKI, M. Effects of antidiabetic drugs in high-fat diet and streptozotocin-nicotinamide-induced type 2 diabetic mice. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 655, n. 1–3, p. 108–116, 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2011.01.015>

TAHRANI, A. A. Novel therapies in type 2 diabetes: insulin resistance. **Practical Diabetes**, [S. l.], v. 34, n. 5, p. 161–166a, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/pdi.2109>

TANAKA, M.; IWAKIRI, Y. The Hepatic Lymphatic Vascular System: Structure, Function, Markers, and Lymphangiogenesis. **Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology**, [S. l.], v. 2, n. 6, p. 733–749, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2016.09.002>

TANAKA, T.; NONAKA, G.; NISHIOKA, I. Tannins and related compounds. XLII. Isolation and characterization of four new hydrolyzable tannins, terflavins A and B, tergallagin and tercatatin from the leaves of *Terminalia catappa* L. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, [S. l.], v. 34, n. 3, p. 1039–1049, 1986.

TAPPY, L. Fructose-containing caloric sweeteners as a cause of obesity and metabolic disorders. **The Journal of Experimental Biology**, [S. l.], v. 221, n. Pt Suppl 1, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1242/jeb.164202>

TAPPY, L.; LÊ, K.-A. Metabolic effects of fructose and the worldwide increase in obesity. **Physiological Reviews**, [S. l.], v. 90, n. 1, p. 23–46, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.00019.2009>

TATEYA, S. *et al.* **Endothelial NO/cGMP/VASP Signaling Attenuates Kupffer Cell Activation and Hepatic Insulin Resistance Induced by High-Fat Feeding**. [S. l.], 2011. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/db11-0255>. Acesso em: 29 jun. 2020.

TELAPOLU, S. *et al.* MD-1, a poly herbal formulation indicated in diabetes mellitus ameliorates glucose uptake and inhibits adipogenesis - an in vitro study. **BMC**

**complementary and alternative medicine**, [S. l.], v. 18, n. 1, p. 113, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2177-x>

TER HORST, K. W.; SERLIE, M. J. Fructose Consumption, Lipogenesis, and Non-Alcoholic Fatty Liver Disease. **Nutrients**, [S. l.], v. 9, n. 9, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu9090981>. Acesso em: 19 jul. 2020.

THILAGAM, E. *et al.*  $\alpha$ -Glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitory activity of *Senna surattensis*. **Journal of Acupuncture and Meridian Studies**, [S. l.], v. 6, n. 1, p. 24–30, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jams.2012.10.005>

THOMAIDOU, S.; ZALDUMBIDE, A.; ROEP, B. O. Islet stress, degradation and autoimmunity. **Diabetes, Obesity & Metabolism**, [S. l.], v. 20 Suppl 2, p. 88–94, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/dom.13387>

THOMAS, C. C.; PHILIPSON, L. H. Update on diabetes classification. **The Medical Clinics of North America**, [S. l.], v. 99, n. 1, p. 1–16, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2014.08.015>

TOIT, E. F. du; DONNER, D. G. Myocardial Insulin Resistance: An Overview of Its Causes, Effects, and Potential Therapy. **Insulin Resistance**, [S. l.], 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5772/50619>. Acesso em: 20 jun. 2020.

TRAN, L. T.; YUEN, V. G.; MCNEILL, J. H. The fructose-fed rat: a review on the mechanisms of fructose-induced insulin resistance and hypertension. **Molecular and Cellular Biochemistry**, [S. l.], v. 332, n. 1–2, p. 145–159, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s11010-009-0184-4>

TRAN, T. T. T. *et al.* Short Term Palmitate Supply Impairs Intestinal Insulin Signaling via Ceramide Production. **The Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 291, n. 31, p. 16328–16338, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.709626>

TSENG, C.-H. Correlation of uric acid and urinary albumin excretion rate in patients with type 2 diabetes mellitus in Taiwan. **Kidney International**, [S. l.], v. 68, n. 2, p. 796–801, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00459.x>

TUOMILEHTO, J. *et al.* Prevention of Type 2 Diabetes Mellitus by Changes in Lifestyle among Subjects with Impaired Glucose Tolerance. **New England Journal of Medicine**, [S. l.], v. 344, n. 18, p. 1343–1350, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1056/NEJM200105033441801>

TUSHUIZEN, M. E. *et al.* Pancreatic fat content and beta-cell function in men with and without type 2 diabetes. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 30, n. 11, p. 2916–2921, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc07-0326>

TUSHUIZEN, M. E.; DIAMANT, M.; HEINE, R. J. Postprandial dysmetabolism and cardiovascular disease in type 2 diabetes. **Postgraduate Medical Journal**, [S. l.], v. 81, n. 951, p. 1–6, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1136/pgmj.2004.020511>

UDLER, M. S. *et al.* Type 2 diabetes genetic loci informed by multi-trait associations point to disease mechanisms and subtypes: A soft clustering analysis. **PLoS medicine**, [S. l.], v. 15, n. 9, p. e1002654, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1002654>

UTTRA, K. M. *et al.* **Lipid Profile of Patients with Diabetes mellitus (A Multidisciplinary Study)**. [S. l.], 2011. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/267567571\\_Lipid\\_Profile\\_of\\_Patients\\_with\\_Diabetes\\_mellitus\\_A\\_Multidisciplinary\\_Study](https://www.researchgate.net/publication/267567571_Lipid_Profile_of_Patients_with_Diabetes_mellitus_A_Multidisciplinary_Study). Acesso em: 30 maio. 2020.

VALENTOVIC, M. A. *et al.* Streptozotocin (STZ) diabetes enhances benzo(alpha)pyrene induced renal injury in Sprague Dawley rats. **Toxicology Letters**, [S. l.], v. 164, n. 3, p. 214–220, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2005.12.009>

VAN DE LAAR, F. A. Alpha-glucosidase inhibitors in the early treatment of type 2 diabetes. **Vascular Health and Risk Management**, [S. l.], v. 4, n. 6, p. 1189–1195, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.2147/vhrm.s3119>

VAN GAAL, L. F.; MERTENS, I. L.; DE BLOCK, C. E. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. **Nature**, [S. l.], v. 444, n. 7121, p. 875–880, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature05487>

VIEIRA, D. R. P. *et al.* Plant species used in dental diseases: ethnopharmacology aspects and antimicrobial activity evaluation. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 155, n. 3, p. 1441–1449, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.07.021>

VIIGIMAA, M. *et al.* Macrovascular Complications of Type 2 Diabetes Mellitus. **Current Vascular Pharmacology**, [S. l.], v. 18, n. 2, p. 110–116, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1570161117666190405165151>

VINCIGUERRA, M.; FOTI, M. PTEN and SHIP2 phosphoinositide phosphatases as negative regulators of insulin signalling. **Archives of Physiology and Biochemistry**, [S. l.], v. 112, n. 2, p. 89–104, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/13813450600711359>

VIOLLET, B. *et al.* Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. **Clinical Science (London, England: 1979)**, [S. l.], v. 122, n. 6, p. 253–270, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1042/CS20110386>

VISSCHER, T. L.; SEIDELL, J. C. The public health impact of obesity. **Annual Review of Public Health**, [S. l.], v. 22, p. 355–375, 2001. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev.publhealth.22.1.355>

WADA, T. *et al.* Spironolactone improves glucose and lipid metabolism by ameliorating hepatic steatosis and inflammation and suppressing enhanced gluconeogenesis induced by high-fat and high-fructose diet. **Endocrinology**, [S. l.], v. 151, n. 5, p. 2040–2049, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1210/en.2009-0869>

WANG, C.-D. *et al.* Effect of a novel proteoglycan PTP1B inhibitor from *Ganoderma lucidum* on the amelioration of hyperglycaemia and dyslipidaemia in db/db mice. **The British Journal of Nutrition**, [S. l.], v. 108, n. 11, p. 2014–2025, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1017/S0007114512000153>

WANG, M.-X. *et al.* Nuciferine restores potassium oxonate-induced hyperuricemia and kidney inflammation in mice. **European Journal of Pharmacology**, [S. l.], v. 747, p. 59–70, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.11.035>

WANG, R. *et al.* Elevated serum uric acid and risk of cardiovascular or all-cause mortality in people with suspected or definite coronary artery disease: A meta-analysis. **Atherosclerosis**, [S. l.], v. 254, p. 193–199, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2016.10.006>

WANSI, J. D. *et al.* alpha-Glucosidase inhibitory constituents from stem bark of *Terminalia superba* (Combretaceae). **Phytochemistry**, [S. l.], v. 68, n. 15, p. 2096–2100, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2007.02.020>

WEIGERT, C. *et al.* The phosphorylation of Ser318 of insulin receptor substrate 1 is not per se inhibitory in skeletal muscle cells but is necessary to trigger the attenuation of the insulin-stimulated signal. **The Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 280, n. 45, p. 37393–37399, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M506134200>

WENDE, A. R.; ABEL, E. D. Lipotoxicity in the heart. **Biochimica Et Biophysica Acta**, [S. l.], v. 1801, n. 3, p. 311–319, 2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2009.09.023>

WHITEMAN, E. L.; CHO, H.; BIRNBAUM, M. J. Role of Akt/protein kinase B in metabolism. **Trends in endocrinology and metabolism: TEM**, [S. l.], v. 13, n. 10, p. 444–451, 2002. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1043-2760\(02\)00662-8](https://doi.org/10.1016/s1043-2760(02)00662-8)

WHO. **WHO | WHO traditional medicine strategy**. [s. l.], 2002. Disponível em: <https://www.who.int/medicines/publications/traditionalpolicy/en/>. Acesso em: 23 jun. 2020.

WHO. **WHO traditional medicine strategy: 2014-2023**. [s. l.], 2014. Disponível em: [http://www.who.int/medicines/publications/traditional/trm\\_strategy14\\_23/en/](http://www.who.int/medicines/publications/traditional/trm_strategy14_23/en/). Acesso em: 25 set. 2020.

**WHO | Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycaemia**. . [s. l.], 2006. Disponível em: [https://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis\\_diabetes2006/en/](https://www.who.int/diabetes/publications/diagnosis_diabetes2006/en/). Acesso em: 26 jun. 2020.

WHO, W. H. organization. **WHO global report on traditional and complementary medicine 2019**. [S. l.]: World Health Organization, 2019. *E-book*. Disponível em: <https://apps.who.int/iris/handle/10665/312342>. Acesso em: 23 jun. 2020.

WILBUR, K. M.; BERNHEIM, F.; SHAPIRO, O. W. The thiobarbituric acid reagent as a test for the oxidation of unsaturated fatty acids by various agents. **Archives of Biochemistry**, [S. l.], v. 24, n. 2, p. 305–313, 1949.

WILSON, R. D.; ISLAM, M. S. Fructose-fed streptozotocin-injected rat: an alternative model for type 2 diabetes. **Pharmacological reports: PR**, [S. l.], v. 64, n. 1, p. 129–139, 2012. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/s1734-1140\(12\)70739-9](https://doi.org/10.1016/s1734-1140(12)70739-9)

WU SY *et al.* Effect of geniposide, a hypoglycemic glucoside, on hepatic regulating enzymes in diabetic mice induced by a high-fat diet and streptozotocin. **Acta Pharmacologica Sinica**, [S. l.], v. 30, n. 2, p. 202–208, 2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/aps.2008.17>

WU, Y. *et al.* Hypoglycemic effect of Astragalus polysaccharide and its effect on PTP1B. **Acta Pharmacologica Sinica**, [S. l.], v. 26, n. 3, p. 345–352, 2005. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1745-7254.2005.00062.x>

WYSS, M.; KADDURAH-DAOUK, R. Creatine and creatinine metabolism. **Physiological Reviews**, [S. l.], v. 80, n. 3, p. 1107–1213, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1152/physrev.2000.80.3.1107>

YAMAMOTO, Y.; OUE, E. Antihypertensive effect of quercetin in rats fed with a high-fat high-sucrose diet. **Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry**, [S. l.], v. 70, n. 4, p. 933–939, 2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1271/bbb.70.933>

YANG, M. H. *et al.* Constituents from Terminalia species increase PPAR $\alpha$  and PPAR $\gamma$  levels and stimulate glucose uptake without enhancing adipocyte differentiation. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 149, n. 2, p. 490–498, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.07.003>

YANG, M. H. *et al.* Phenolic compounds with pancreatic lipase inhibitory activity from Korean yam (*Dioscorea opposita*). **Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry**, [S. l.], v. 29, n. 1, p. 1–6, 2014 a. Disponível em: <https://doi.org/10.3109/14756366.2012.742517>

YANG, W. *et al.* Acarbose compared with metformin as initial therapy in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: an open-label, non-inferiority randomised trial. **The Lancet. Diabetes & Endocrinology**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 46–55, 2014 b. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2213-8587\(13\)70021-4](https://doi.org/10.1016/S2213-8587(13)70021-4)

YANOVSKI, S. Z.; YANOVSKI, J. A. Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. **JAMA**, [S. l.], v. 311, n. 1, p. 74–86, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281361>

YUAN, H. *et al.* The Traditional Medicine and Modern Medicine from Natural Products. **Molecules**, [S. l.], v. 21, n. 5, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/molecules21050559>. Acesso em: 25 set. 2020.

YUSOFF, N. A. *et al.* Aqueous Extract of *Nypa fruticans* Wurmb. Vinegar Alleviates Postprandial Hyperglycemia in Normoglycemic Rats. **Nutrients**, [S. l.], v. 7, n. 8, p. 7012–7026, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/nu7085320>

ZABOLOTNY, J. M. *et al.* Protein-tyrosine phosphatase 1B expression is induced by inflammation in vivo. **The Journal of Biological Chemistry**, [S. l.], v. 283, n. 21, p. 14230–14241, 2008. Disponível em: <https://doi.org/10.1074/jbc.M800061200>

ZANGENEH, M. M. *et al.* Nephroprotective activity of *Alyssum meniocoides* Boiss aqueous extract on streptozotocin-induced diabetic nephrotoxicity in male mice. **Comparative Clinical Pathology**, [S. l.], v. 27, n. 5, p. 1147–1154, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00580-018-2712-7>

ZAPOTOCZNY, B. *et al.* Tracking Fenestrae Dynamics in Live Murine Liver Sinusoidal Endothelial Cells. **Hepatology (Baltimore, Md.)**, [S. l.], v. 69, n. 2, p. 876–888, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/hep.30232>

ZHANG, B.-W. *et al.* Pentacyclic triterpenes as  $\alpha$ -glucosidase and  $\alpha$ -amylase inhibitors: Structure-activity relationships and the synergism with acarbose. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, [S. l.], v. 27, n. 22, p. 5065–5070, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2017.09.027>

ZHANG, M. *et al.* Schisandra chinensis fruit extract attenuates albuminuria and protects podocyte integrity in a mouse model of streptozotocin-induced diabetic nephropathy. **Journal of Ethnopharmacology**, [S. l.], v. 141, n. 1, p. 111–118, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.02.007>

ZHANG, Q. *et al.* oxLDL induces injury and defenestration of human liver sinusoidal endothelial cells via LOX1. **Journal of Molecular Endocrinology**, [S. l.], v. 53, n. 2, p. 281–293, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.1530/JME-14-0049>

ZHANG, X. *et al.* The Genus Terminalia (Combretaceae): An Ethnopharmacological, Phytochemical and Pharmacological Review. **Natural Products and Bioprospecting**, [S. l.], v. 9, n. 6, p. 357–392, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s13659-019-00222-3>

ZHANG, Z.-Y.; LEE, S.-Y. PTP1B inhibitors as potential therapeutics in the treatment of type 2 diabetes and obesity. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, [S. l.], v. 12, n. 2, p. 223–233, 2003. Disponível em: <https://doi.org/10.1517/13543784.12.2.223>

ZHAO, B. T. *et al.* Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors from natural sources. **Archives of Pharmacal Research**, [S. l.], v. 41, n. 2, p. 130–161, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12272-017-0997-8>

ZHAO, G. *et al.* Baseline serum uric acid level as a predictor of cardiovascular disease related mortality and all-cause mortality: a meta-analysis of prospective studies. **Atherosclerosis**, [S. l.], v. 231, n. 1, p. 61–68, 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2013.08.023>

ZHAO, L.-R. *et al.* Quercetin protects against high glucose-induced damage in bone marrow-derived endothelial progenitor cells. **International Journal of Molecular Medicine**, [S. l.], v. 34, n. 4, p. 1025–1031, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2014.1852>

ZHENG, Y.; LEY, S. H.; HU, F. B. Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. **Nature Reviews Endocrinology**, [S. l.], v. 14, n. 2, p. 88–98, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nrendo.2017.151>

ZHOU, Y. T. *et al.* Lipotoxic heart disease in obese rats: implications for human obesity. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, [S. l.], v. 97, n. 4, p. 1784–1789, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1073/pnas.97.4.1784>

ZHUHUA, Z. *et al.* A novel mice model of metabolic syndrome: the high-fat-high-fructose diet-fed ICR mice. **Experimental Animals**, [S. l.], v. 64, n. 4, p. 435–442, 2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1538/expanim.14-0086>



ZINMAN, B. *et al.* Low-dose combination therapy with rosiglitazone and metformin to prevent type 2 diabetes mellitus (CANOE trial): a double-blind randomised controlled study. **Lancet (London, England)**, [S. l.], v. 376, n. 9735, p. 103–111, 2010. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(10\)60746-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(10)60746-5)

ZOPPINI, G. *et al.* Serum uric acid levels and incident chronic kidney disease in patients with type 2 diabetes and preserved kidney function. **Diabetes Care**, [S. l.], v. 35, n. 1, p. 99–104, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.2337/dc11-1346>