UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

MARINA TALAMINI PILTZ DE ANDRADE

EFEITO DO EXTRATO DE *Solanum sessiliflorum* Dunal (MANA-CUBIU) EM MODELOS EXPERIMENTAIS SUBMETIDOS À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA

CURITIBA

2023

MARINA TALAMINI PILTZ DE ANDRADE

EFEITO DO EXTRATO DE *Solanum sessiliflorum* Dunal (MANA-CUBIU) EM MODELOS EXPERIMENTAIS SUBMETIDOS À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná.

Orientador: Prof. Dr. Obdulio Gomes Miguel

Coorientadora: Profª Drª. Claudia Carneiro Hecke Kruger

CURITIBA

2023

Andrade, Marina Talamini Piltz de
Efeito do extrato de *Solanum sessiliflorum* Dunal (Maná-Cubiu) em modelos experimentais submetidos à dieta hipercalórica e hiperlídica [recurso eletrônico] / Marina Talamine Piltz de Andrade – Curitiba, 2023.
1 recurso online : PDF

Tese (doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná, 2023.

Orientador: Prof. Dr. Obdúlio Gomes Miguel
Coorientador: Profa. Dra. Claudia Carneiro Hecke Kruger

1. *Solanum*. 2. Dieta ocidental. 3. Composição corporal. I. Miguel, Obdúlio Gomes. II. Kruger, Claudia Carneiro Hecke. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 583.9593

Maria da Conceição Kury da Silva CRB 9/1275

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - 40001016042P8

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **MARINA TALAMINI PILTZ DE ANDRADE** intitulada: **EFEITO DO EXTRATO DE *Solanum sessiliflorum* Dunal (MANA-CUBIU) EM MODELOS EXPERIMENTAIS SUBMETIDOS À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA**, sob orientação do Prof. Dr. OBDULIO GOMES MIGUEL, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutora está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 28 de Abril de 2023.

OBDULIO GOMES MIGUEL
Presidente da Banca Examinadora

DEISE PREHS MONTRUCCHIO
Avaliador Externo (DEPARTAMENTO DE FARMáCIA (UFPR))

JOSIANE DE FÁTIMA GASPARI DIAS
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

BARBARA DAL MOLIN NETTO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DE SÃO PAULO)

LETÍCIA FUGANTI CAMPOS
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por me permitir aprender, vivenciar e concluir este trabalho. À minha família, principal incentivadora e suporte para todos os momentos da vida.

Aos amigos e colaboradores dessa pesquisa, colegas de profissão e estudos, em especial às doutorandas que compuseram este grupo de pesquisa: Aiane Sereno, Luciana Gibbert e Michelli Bertolazo.

Aos alunos de iniciação científica: Vinícius e Luely, pelas contribuições e disponibilidade em nos auxiliar.

Aos professores orientadores Obdulio Gomes Miguel e Claudia C. Hecke Kruger, que foram escolhidos por mim para me acompanharem desde o primeiro momento nessa trajetória, e que desde antes do ingresso no doutorado, me auxiliaram e conduziram os caminhos a serem trilhados. Meus sinceros agradecimentos por tê-los por tanto tempo ao meu lado. Terão sempre minha admiração.

Aos professores que contribuíram com suas expertises para o aprimoramento das técnicas e análise dos dados coletados: Profa. Thais Andrade e Profa Iara Messias.

Aos técnicos de laboratório das Universidades Positivo, Universidade Federal do Paraná e Pontifícia Universidade Católica do Paraná que foram fundamentais nas mais diversas etapas do trabalho.

Ao biotério da Universidade Positivo pelo fornecimento dos animais para o experimento e das instalações necessárias para todo o desenvolvimento da pesquisa experimental.

Às avaliadoras da banca de defesa Profa. Dra. Josiane de Fátima Dias Gaspari; Dra. Letícia Fuganti Campos; Profa. Dra. Deise Prehs Montrucchio; Profa. Dra. Marilis

Dallarmi Miguel; e Profa. Dra. Bárbara Dal Molin Netto pelo aceite e contribuições importantíssimas para refinamento do estudo.

À CAPES pelo auxílio financeiro.

E como não poderia deixar de ser, agradeço pelos animais que compuseram a amostra deste estudo, por doarem suas vidas em prol do avanço científico. Por eles foi honrado o total compromisso com a ética e bem-estar, durante e após os experimentos.

RESUMO

O estilo de vida ocidental é caracterizado pelo sedentarismo e pelo consumo de alimentos ricos em gorduras e açucares, podendo predispor o desenvolvimento de doenças crônicas como a obesidade e a síndrome metabólica. Modelos experimentais são fundamentais para elucidação da fisiopatologia, desenvolvimento e tratamento desta e de outras doenças. Assim como no desenvolvimento de novos métodos de tratamentos através de insumos naturais. Deste modo, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato de *Solanum sessiliflorum* Dunal em modelos experimentais submetidos à dieta hipercalórica e hiperlipídica. Ratos *Wistar* machos divididos em cinco grupos receberam a dieta durante 24 semanas, com exceção do grupo controle saudável (SA), que recebeu ração comercial AIN-93 e água filtrada durante todo o experimento. Após esse período, os três grupos com intervenção passaram a receber gavagens diárias: dois deles com o extrato do fruto nas doses de 150 mg/kg (MN150) e 300 mg/kg (MN300) e outro recebendo 150mg/kg de metformina (ME), durante 8 semanas. Para avaliação da composição corporal foram considerados o peso corporal, impedância bioelétrica (BIA), circunferências corporais e o índice de Lee. Também foram avaliados os parâmetros bioquímicos e o peso dos órgãos após eutanásia. Como resultado, os grupos tratados com o extrato em ambas as doses (MN 150 e MN300) apresentaram menor peso do fígado em comparação aos demais (11,3g e 12,5g, respectivamente). Estes mesmos grupos foram os que apresentaram menores valores séricos de LDL-colesterol, 9,25 e 8,0mg/dL, respectivamente, sugerindo que o fruto possui potencial de proteção hepática, mesmo com a continuidade da administração da dieta hipercalórica e hiperlipídica.

Palavras chaves: maná-cubiu; *Solanum sessiliflorum* dunal; dieta ocidental; composição corporal.

ABSTRACT

The Western lifestyle is characterized by a sedentary lifestyle and consumption of foods rich in fats and sugars, which may predispose to the development of chronic diseases such as obesity and metabolic syndrome. Experimental models are essential to elucidate the pathophysiology, development and treatment of this and other diseases. As well as new treatment methods through natural inputs. Thus, the aim of this study was to evaluate the effect of maná-cubiu extract (*Solanum sessiliflorum* Dunal) in experimental models submitted to a high-calorie and high-fat diet. Male Wistar rats divided into five groups received the diet for 24 weeks, with the exception of the healthy control group (SA), which received AIN-93 commercial chow and filtered water throughout the entire period. the experiment. After this period, the three intervention groups began to receive daily gavages: two of them with the fruit extract at doses of 150 mg/kg (MN150) and 300 mg/kg (MN300) and another receiving 150mg/kg of metformin (ME) for 8 weeks. For the assessment of body composition, body weight, bioelectrical impedance (BIA), body circumferences and the Lee index were considered. The biochemical parameters of lipid and liver profiles were also evaluated, as well as the weight of the organs after euthanasia. As a result, the groups treated with maná-cubiu extract at both doses (MN 150 and MN300) had lower liver weight compared to the other 11.3g and 12.5g, respectively. These same groups were the ones with the lowest serum levels of LDL-cholesterol, 9.25 and 8.0mg/dL, respectively, suggesting that the fruit has great potential for protection, even with continued administration of a high-calorie and high-fat diet.

Keywords: maná-cubiu; *Solanum sessiliflorum* dunal; western diet; body composition.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 1 – REGIÃO DE CULTIVO DO MANÁ-CUBIU NO ESTADO O PARANÁ 40

FIGURA 2 – MANÁ-CUBIU CULTIVADO NA MATA ATLÂNTICA PARANAENSE.....42

FIGURA 3 – DELINEAMENTO DO ESTUDO 43

FIGURA 4 – DELINEAMENTO DO ENSAIO EXPERIMENTAL IN VIVO 49

FIGURA 5 - DIETA COMERCIAL HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA 50

FIGURA 6 - PROCEDIMENTO DE MONITORAMENTO DO PESO CORPORAL .53

FIGURA 7 – TESTE DE BIOIMPEDÂNCIA (BIA) 54

FIGURA 8 – AFERIÇÃO DAGLICEMIA PARA O TESTE DE TOLERÂNCIA ORAL À GLICOSE (TOTG).....55

FIGURA 9 – ÓRGÃOS COLETADOS APÓS A EUTANÁSIA 78

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 1 – CURVA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH - CONTROLES 59

GRÁFICO 2 – CURVA DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH - AMOSTRA 60

GRÁFICO 3 -ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO MANÁ-CUBIU 62

LISTA DE QUADROS

QUADRO 1 – CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DE SÍNDROME METABÓLICA 28

QUADRO 2 – ENQUADRAMENTO TAXONÔMICO DO *Solanum sessiliflorum* DUNAL 37

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO INTERNACIONAL DA OBESIDADE SEGUNDO O ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E RISCO DE DOENÇA (OMS) QUE DIVIDE A ADIPOSIDADE EM GRAUS OU CLASSES 19

TABELA 2 – FATORES SECUNDÁRIOS DO ESTILO DE VIDA E CONDIÇÕES MÉDICAS ASSOCIADOS À DISLIPIDEMIA 23

TABELA 3 – CLASSIFICAÇÃO ETIOLÓGICA DO DIABETES 25

TABELA 4 – COMPOSIÇÃO DAS DIETAS EXPERIMENTAIS 51

TABELA 5 – DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA 57

TABELA 6 – INTENSIDADE DE OCORRÊNCIA DE DEFEITOS 58

TABELA 7 – CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DO EXTRATO DE MANÁ-CUBIU PELA REDUÇÃO DO RADICAL DPPH EXPRESSO PELA CE50 59

TABELA 8 – ENSAIO DE MORTALIDADE DE *Artemia salina* 61

TABELA 9 – ATIVIDADE HEMOLÍTICA 62

TABELA 10 – ATIVIDADE ALELOPÁTICA 63

TABELA 11 – CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO MANÁ-CUBIU 65

TABELA 12 – TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (TOTG) 66

TABELA 13 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE PERFIL GLICÊMICO 68

TABELA 14 – CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL 69

TABELA 15 – CIRCUNFERÊNCIA TORÁCICA 70

TABELA 16 – BIOIMPEDÂNCIA (BIA) 70

TABELA 17 – ÍNDICE DE LEE 71

TABELA 18 – MONITORAMENTO DO PESO CORPORAL 74

TABELA 19 – PESO DOS ÓRGÃOS 79

TABELA 20 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE PERFIL LIPÍDICO 81

TABELA 21 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE FUNÇÕES RENAL E HEPÁTICA 84

SUMÁRIO

1.INTRODUÇÃO 14
1.1 OBJETIVOS 15
1.1.1 Objetivo Geral 15
1.1.2. Objetivos específicos 15
2. REVISÃO DE LITERATURA 16
2.1 PADRÃO ALIMENTAR OCIDENTAL: RISCOS E CONSEQUÊNCIAS 16
2.2 OBESIDADE E COMPOSIÇÃO CORPORAL 18
2.3 ALTERAÇÕES METABÓLICAS E DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS 21
2.4 MODELOS EXPERIMENTAIS 30
2.5 COMPOSTOS BIOATIVOS COMO FORMA DE TRATAMENTO DE DOENÇAS CRÔNICAS 33
2.6 *Solanum sessiliflorum* DUNAL (MANÁ-CUBIU) 36
2.7 EFEITOS BIOLÓGICOS DO MANÁ-CUBIU 38
2.8 CULTIVO E ORIGEM DO FRUTO 39
3. MATERIAL E MÉTODOS 41
3.1 AMOSTRAGEM E COLETA 41
3.2 OBTENÇÃO DOS EXTRATOS 44
3.3 ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH 44
3.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE PRELIMINAR 44
3.4.1 Toxicidade preliminar por *Artemia salina* 44
3.4.2 Toxicidade preliminar pela Atividade Hemolítica 45
3.4.3 Toxicidade preliminar em sementes de *Lactuca sativa* 46
3.4.3.1 Germinação 46
3.4.3.2 Crescimento 46

3.5 ANÁLISES FISICO-QUÍMICAS 47
3.6 ENSAIO EXPERIMENTAL IN VIVO PARA AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DE MANÁ-CUBIU EM RATOS SUBMETIDOS À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA 48
3.6.1 Comitê de ética no uso de animais (CEUA).....48
3.6.2 Delineamento do estudo 48
3.6.3 Dieta e condições de alojamento 48
3.6.4 Obtenção dos extratos para gavagem 51
3.6.5 Avaliação da composição corporal.....52
3.6.6 Teste oral de tolerância à glicose (TOTG) 54
3.6.7 Eutanásia e análises bioquímicas.....55
3.6.8 Descarte das carcaças 56
3.7 ANÁLISES ESTATÍSTICAS 56
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO 57
4.1 AMOSTRAGEM.....57
4.2 DETERMINAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH 58
4.3 TOXICIDADE PRELIMINAR 61
4.4 ANÁLISES FÍSICO-QUÍMICAS 64
4.5 ENSAIO EXPERIMENTAL IN VIVO 65
4.5.1 Parâmetros relacionados ao perfil glicêmico.....66
4.5.2 Avaliação do peso e composição corporal 69
4.5.3 Peso dos órgãos 76
4.5.4 Parâmetros bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e função renal e hepática 80
5. CONCLUSÃO.....86
REFERÊNCIAS 87
ANEXOS 95

1 INTRODUÇÃO

Modelos experimentais permitem elucidar mecanismos de desenvolvimento de doenças não transmissíveis (DCNT), como o diabetes, obesidade e dislipidemias. Deste modo, os sinais e sintomas destas doenças acontecem de forma similar ao desenvolvido em indivíduos humanos (COSTA et al., 2014). Uma das espécies mais empregadas neste tipo de estudo é a *Rattus norvegicus albinus* da linhagem *Wistar*, devido à semelhança de seu DNA com o DNA humano (MATTARAIA e MOURA, 2012). Além disso, a espécie é bastante compatível com as mudanças realizadas na dieta para investigação de seus efeitos, um aspecto importante para experimentação na área de nutrição. Esta também é considerada uma das espécies mais resistentes aos experimentos, favorecendo as diferentes técnicas e análises as quais os animais possam ser submetidos ao longo dos experimentos (LOVEGROVE et al., 2015).

No caso dos modelos experimentais com condições associadas ao consumo alimentar, a indução de doenças como a síndrome metabólica (SM) é resultante de alterações como a resistência periférica à insulina, hipertensão arterial, hipercolesterolemia e aumento da atividade geral do sistema nervoso simpático, permitindo avaliar a influência destes fatores após a instalação da condição patológica e as consequentes estratégias de tratamento e intervenção (COSTA et al., 2014). Considerando que as DCNT acometem grande parte da população mundial e possuem como tratamento mais empregado o uso de fármacos, a ocorrência de reações adversas também está comumente relacionada, como aumento do apetite, ganho de peso, maior risco de doenças cardiovasculares e distúrbios gastrointestinais, tornando crescente a busca por métodos alternativos de tratamento ou terapias coadjuvantes para redução da dose destes medicamentos (GONDI e RAO, 2015; BOLAND, EDELMAN e WOLOSIN, 2013).

O maná-cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) é um fruto conhecido popularmente como cocona ou cubiu e proveniente da biodiversidade da Região Amazônica. Desde 2015 passou a ser cultivado em Antonina, no litoral Paranaense. Além da sua utilização como alimento, o fruto também é utilizado como cosmético e como remédio pela população produtora, com o objetivo de controlar doenças e sintomas como pruridos na pele, para redução dos níveis de colesterol, ácido úrico e glicemia (SERNA-COCK, 2015; YUYAMA et al, 2005; OLIVEIRA, 1999). Esta

possível atividade farmacológica do maná-cubiu pode estar relacionada aos compostos bioativos presentes no fruto, os quais desempenham atividade antioxidante, atuando na redução do estresse oxidativo (CERQUEIRA et al., 2007).

Desta forma, a realização deste trabalho justifica-se pela possibilidade de oferta de novos métodos de controle de DCNT, como o diabetes, obesidade e/ou dislipidemia, priorizando a qualidade de vida dos pacientes portadores destas desordens em minimizar ou evitar a presença de efeitos adversos e demais malefícios do uso prolongado de drogas farmacológicas. Outro importante aspecto é a possível utilização de frutos da biodiversidade brasileira como matéria-prima para novos suplementos alimentares ou em produtos farmacêuticos com a finalidade de controle glicêmico, agregando valor científico, social e também econômico pela geração de renda para a população que sobrevive e alimenta-se desses cultivos.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Analisar a composição centesimal, as atividades biológicas e o efeito da administração do extrato do *Solanum sessiliflorum* Dunal em modelos experimentais submetidos à dieta hipercalórica e hiperlipídica.

1.1.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Produzir extrato etanólico de maná-cubiu;
- Realizar a composição centesimal do fruto;
- Avaliar a toxicidade preliminar do extrato pelos métodos *Artemia salina*, hemólise e atividade alelopática em sementes de *Lactuca sativa*;
- Verificar o efeito do consumo do *Solanum sessiliflorum* Dunal sobre os parâmetros bioquímicos e composição corporal em ratos *Wistar* (*Rattus norvegicus albinus*) submetidos à dieta hipercalórica e hiperlipídica.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Padrão alimentar ocidental: Riscos e consequências

A dieta ocidental, apesar de não possuir uma definição específica, é descrita como sendo o hábito alimentar composto por lanches frequentes e excessivamente calóricos. Esse padrão se desenvolveu após mudanças comportamentais e de estilo de vida da população mundial, principalmente no ocidente, gerado pelo desenvolvimento agrícola e de tecnologias, reduzindo significativamente os custos da alimentação e aumentando sua disponibilidade. O aumento da ingestão calórica associado ao menor gasto calórico são os fatores determinantes para as alterações corporais e metabólicas encontradas atualmente, desencadeados pela maior inatividade física, menor exposição ao sol, sono insuficiente, aumento do estresse psicológico crônico, tabagismo e poluição ambiental. Nutricionalmente a dieta ocidental é caracterizada pela alta ingestão de açúcares refinados e gorduras saturadas, como alimentos processados, fritos e pré-embalados, e consequentemente, com baixa ingestão de alimentos *in natura*, como frutas, vegetais, grãos integrais, carnes magras, peixes, nozes e sementes, representando uma dieta pobre em fibras e micronutrientes (MALESZA et al., 2021; ZINÖCKER M.K. e LINDSETH, 2018).

Evolutivamente, essas mudanças são muito recentes, datadas há cerca de 250 anos, no período pós-revolução industrial. Deste modo, o genoma humano não sofreu adaptações para acompanhar estes processos, resultando na incompatibilidade entre a fisiologia humana e o estilo de vida adotado. Como consequência os quadros de hiperinsulinemia, resistência à insulina, dislipidemia, hiperestimulação do sistema nervoso simpático, inflamação sistêmica de baixo grau, disbiose e estresse oxidativo se tornam cada vez mais frequentes, relacionando-se com doenças como a obesidade, diabetes tipo 2 (DM2), neoplasias e doenças cardiovasculares (MALESZA et al., 2021). Além destas alterações, existe ainda a perda de diversidade da microbiota intestinal, que pode, inclusive, ser permanente, e possivelmente induzir alterações metabólicas hereditárias por meio do epigenoma. Portanto, as alterações da colonização intestinal causadas pela dieta ocidental são potencialmente seletivas em manter cepas bacterianas que promovem por diferentes meios o desenvolvimento de doenças relacionadas à inflamação (ZINÖCKER M.K. e LINDSETH, 2018).

O público jovem é um dos mais aderentes ao padrão alimentar ocidental e ao estilo de vida acelerado da atualidade global. Os alimentos descritos como “junk foods” estão presentes em pelo menos uma refeição em metade dessa população, ou seja, compreende o consumo diário de produtos de panificação, bebidas açucaradas e/ou com cafeína, batatas fritas, chocolates, macarrão, pizza, entre outros, em 50% do público infanto-juvenil. Outro aspecto recente que impactou negativamente os hábitos de vida e alimentares da população mundial foi a pandemia de COVID-19 em 2020, gerando mudanças drásticas na rotina diária nas mais diferentes culturas. A maior inatividade física ocasionada pelo confinamento transitório, a mudança no padrão alimentar, frequência das refeições, maior quantidade de lanches e maior consumo de “comfort foods” (alimentos que trazem conforto emocional) resultou no ganho de peso expressivo da população em geral, trazendo consequências para saúde no período pós-pandêmico. Como o consumo frequente de “junk food” tende a afetar o sistema imunológico, há um risco maior durante períodos como a pandemia, tornando crianças e adolescentes que apresentam este hábito, ainda mais vulneráveis nestas situações (SINGH S A, et al., 2021).

DUNFORD E.K., POPKIN B. e NG S.W. (2022) fizeram um levantamento do consumo alimentar de adultos americanos entre os anos de 2015 e 2018 e constataram que 47% da ingestão total de energia; 48% da ingestão de gordura saturada; 75% da ingestão de açúcar e 46% da ingestão de sódio consumidos derivam de “junk food”. Como conclusão, os autores enfatizam a necessidade de investigar a associação de aspectos sociais e familiares, assim como a exposição ao marketing de alimentos não saudáveis e níveis de atividade física destes consumidores, para compreender melhor este comportamento. Ainda assim, os resultados demonstraram diferenças entre os subgrupos sociodemográficos, destacando a necessidade de políticas públicas que auxiliem a reduzir o consumo deste grupo de alimentos para a população americana como um todo, mas considerando as disparidades raciais/étnicas na população.

Deste modo, é nítido o importante papel da nutrição, tanto na prevenção, como no tratamento da obesidade e complicações associadas, tornando-se o foco de pesquisas nessa área e evidenciando estratégias dietéticas para reduzir a gordura corporal através das diferentes recomendações de macronutrientes, teor de fibras e ingredientes alimentares bioativos. Dentre as principais recomendações dietéticas para o tratamento da obesidade e/ou promoção da perda de peso estão: Dieta com baixo teor de gordura;

Dieta com baixo teor de carboidratos e alto teor de gordura; Baixo teor de carboidratos e alto teor de proteína. De modo geral, o controle da ingestão alimentar é um dos fatores mais importantes na eficácia do tratamento dietético da obesidade devido à sua relação com o balanço energético. No entanto, a maioria dos indivíduos tem dificuldade em manter a perda de peso deste modo a longo prazo, devido ao aumento do apetite e às adaptações do gasto energético consequentes da restrição calórica. Sendo assim, o consumo alimentar é influenciado pela composição dietética, mas também por aspectos como a palatabilidade dos alimentos, como cheiro e sabor, influenciando diretamente na regulação do apetite e na patogênese da obesidade. Dietas ricas em açúcar e gorduras saturadas podem influenciar as funções hipotalâmicas relacionadas ao aprendizado e à memória, além de promover sensações de recompensa gerada por neurotransmissores como a dopamina, estimulando ainda mais o apetite. Deste modo, as mudanças de hábitos alimentares e de comportamento devem ser trabalhadas em conjunto e de modo consciente para haver eficácia (AASETH J, et al., 2021; ABETE et al., 2010).

O tratamento farmacológico é comumente iniciado quando as mudanças de estilo de vida não resultarem em melhora após doze meses de intervenção. Os medicamentos para controle de peso devem ser considerados para pacientes com IMC ≥30 kg/m2 ou IMC ≥27 kg/m2 associado à comorbidades relacionadas ao excesso de peso. Os agonistas de GLP-1 (Liraglutida) ou o inibidor de lipase (Orlistat) são as opções inicialmente prescritas para esta finalidade, mas também podem ser feitas combinações entre alguns fármacos, como a bupropiona e naltrexona ou a fentermina e o topiramato, aprovados em alguns países como os Estados Unidos (AASETH J, et al., 2021).

2.2. Obesidade e composição corporal

A obesidade se tornou um problema de saúde pública mundial e tem evoluído de maneira crescente nas últimas décadas. Trata-se de uma doença multifatorial, definida como o acúmulo excessivo de gordura corporal, causando consequências negativas à saúde. Os adipócitos, células do tecido adiposo, produzem várias citocinas, como adiponectina, leptina, interleucina (IL-6), adipsina, TNF-α, resistina e aromatase, que estão relacionadas tanto com a obesidade, como hipertensão, aterosclerose, diabetes e trombose. Estas por sua vez, estão fortemente associadas ao comportamento alimentar,

inflamação crônica e doenças metabólicas. Sendo assim, as causas da obesidade podem resultar de fatores ambientais como a dieta, com elevado consumo de alimentos ultraprocessados e “fast foods”, sedentarismo, alterações do microbioma e alterações da expressão gênica. Dietas ricas em gordura e hipercalóricas estão fortemente relacionadas ao aumento da prevalência de obesidade. Estudos comprovam a maior preferência de indivíduos obesos por gorduras, seja por suas propriedades sensoriais, ou pelos efeitos metabólicos de prazer e recompensa pós-ingestão (SPINELLI E MONTELEONE, 2021).

A classificação da obesidade é comumente realizada segundo o índice de massa corporal (IMC) (TABELA 1), com valores superiores a 30 kg/m². Entretanto, esse método indica apenas a relação de peso e estatura, sem considerar a composição corporal ou a distribuição do tecido adiposo. Segundo a ABESO (2016), a associação da medida da circunferência abdominal com o IMC fornece uma avaliação de risco mais precisa e reduz as limitações de cada uma das avaliações quando aplicadas de maneira isolada. O IMC pode ser utilizado isoladamente para o rastreamento inicial da obesidade, como método de prevenção primária.

TABELA 1 – CLASSIFICAÇÃO INTERNACIONAL DA OBESIDADE SEGUNDO O ÍNDICE DE MASSA CORPORAL E RISCO DE DOENÇA (OMS) QUE DIVIDE A ADIPOSIDADE EM GRAUS OU CLASSES.

IMC (kg/m2)	Classificação	Obesidade grau/classe	Risco de doença
<18,5	Magro ou baixo peso	0	Normal ou elevado
18,5-24,9	Normal ou eutrófico	0	Normal
25-29,9	Sobrepeso ou pré-obeso	0	Pouco elevado
30-34,9	Obesidade	I	Elevado
35-39,9	Obesidade	II	Muito elevado
40	Obesidade grave	III	Muitíssimo elevado

Fonte: ABESO, 2016.

As medidas de circunferências corporais exigem apenas uma fita métrica como ferramenta de avaliação e podem ser utilizados em conjunto ao IMC para complementar

este método avaliativo, como é o caso das circunferências corporais (MAYORAL et al., 2020). A circunferência da cintura é uma das medidas mais utilizadas e é considerada como critério para avaliação do excesso de adiposidade abdominal, definida por valores superiores a 80cm em mulheres e 94cm em homens para predição do risco aumentado para complicações metabólicas. A partir dessa aferição, podemos obter a relação cintura-quadril (RCQ) e relação cintura-estatura (RCEst), que indicam a adiposidade abdominal elevada para RCQ quando iguais ou superiores 0,85 em mulheres ou 0,90 em homens. Já para RCEst, este diagnóstico é referente a valores iguais ou superiores a 0,50 para mulheres e homens (HOLMES e RACETTE, 2021; SPINELLI e MONTELEONE, 2021; MAYORAL et al., 2020).

Apesar de muito utilizadas e de fácil aplicação, as circunferências corporais não avaliam a composição corporal. Para isso, métodos de avaliação individualizada e mais precisos já foram desenvolvidos e validados, como a pesagem hidrostática, que avaliar o peso corporal submerso em água; composição corporal por absorciometria com raios-X de dupla energia (DEXA) e técnicas de imagem como ressonância magnética, tomografia computadorizada e ultrassom. Estes últimos, porém, apresentam custo elevado, por necessitarem de equipamentos específicos e profissionais técnicos capacitados, limitando seu uso na prática clínica. Nesse contexto, as alternativas de avaliação mais empregadas são pela somatória de medidas de pregas cutâneas e a análise de bioimpedância. O primeiro método é realizado através da aferição das medidas com o uso de um adipômetro e equações de estimativa da densidade corporal e do percentual de gordura corporal. O resultado obtido é baseado na correlação entre a quantidade de tecido adiposo subcutâneo e a gordura corporal total, sendo que as dobras cutâneas mais utilizadas são: subescapular, triciptal, biciptal, suprailíaca e da coxa. Apesar de pratico e de baixo custo, esta avaliação tem sua limitação relacionada ao treinamento e capacitação do profissional avaliador e da equação de predição escolhida (ABESO, 2016).

A bioimpedância ou impedânciometria elétrica (BIA) fornece informações sobre os valores relativos à massa gorda e massa livre de gordura, assim como o acompanhamento de mudanças nos compartimentos corporais , os quais podem resultar em maior risco de doenças. A avaliação por BIA considera a composição hídrica do corpo humano, e os íons condutores elétricos. Deste modo, a corrente elétrica de baixa intensidade produzida pelo aparelho é submetida à maior resistência do tecido adiposo e

maior condução do tecido muscular esquelético. Levando em consideração as diferentes composições dos tecidos, são estimadas as medidas de resistência e a reatância, utilizadas para avaliação do percentual de cada compartimento corporal. Sendo, portanto, um método bastante prático e não dependente da habilidade técnica do profissional avaliador. Entretanto, como fatores limitantes, estão alguns critérios que exigem uma preparação prévia do indivíduo avaliado: jejum de pelo menos quatro horas; ausência de atividades físicas pelo período de 12 horas; abstinência alcoólica e de cafeína por 24 horas; limitação do uso de diuréticos por sete dias; e para mulheres, deve-se realizar a avaliação entre o 7º e 21°dia do ciclo menstrual (HOLMES e RACETTE, 2021; ABESO 2016).

De modo geral, a avaliação da composição corporal é fundamental para avaliação do estado nutricional e monitoramento da progressão da obesidade durante as intervenções médicas e dietéticas (HOLMES e RACETTE, 2021). Como muitos fatores e variáveis estão relacionados à obesidade, se faz necessário um acompanhamento interdisciplinar aos pacientes, permitindo a correta verificação de possíveis alterações e de comportamento alimentar com o objetivo de promover a alimentação mais saudável e prevenir a progressão da obesidade e do risco de desenvolvimento das doenças crônicas relacionadas (SPINELLI e MONTELEONE, 2021).

2.3. Alterações metabólicas e doenças crônicas não transmissíveis

2.3.1. Dislipidemias

A maioria das complicações relacionadas à obesidade resulta em condições que incluem: doença arterial coronariana; hipertensão; Diabetes tipo 2 (DM2), distúrbios respiratórios e dislipidemia. Esta última é definida pelos níveis alterados de colesterol e/ou triglicerídeos séricos, incluindo alterações de lipoproteínas. A obesidade por si só aumenta o risco cardiovascular, por meio de fatores de risco como aumento dos triglicerídeos plasmáticos em jejum, colesterol LDL elevado, colesterol HDL baixo, níveis elevados de glicose e insulina no sangue e pressão arterial elevada. Estas alterações lipídicas também são características do quadro de SM. Uma das ligações importantes entre obesidade, síndrome metabólica (SM) e dislipidemia parece ser o desenvolvimento de resistência à insulina nos tecidos periféricos, levando a um aumento do fluxo hepático de ácidos graxos de fontes alimentares, lipólise intravascular e tecido

adiposo resistente aos efeitos antilipolíticos da insulina. O quadro de dislipidemia associado ao excesso de peso é característico por promover a elevação sérica de triglicerídeos (TG), ácidos graxos livres (AGL), HDL-Colesterol diminuído e LDL-Colesterol normal ou levemente aumentado. As concentrações plasmáticas de apolipoproteína (apo) B também são frequentemente aumentadas, em parte devido à superprodução hepática. As principais diretrizes sugerem o uso de um perfil lipídico padrão em jejum ou não-jejum que inclua colesterol total (CT), LDL-C, HDL-C, não-HDL-C e TG como teste de triagem de escolha. E em casos de TG >4,5 mmol/L (>400 mg/dL), é preferível repetir o perfil lipídico em jejum (BERBERICH e HEGELE, 2022; KLOP et al., 2013).

De mesmo modo, a grande maioria dos casos de hipertrigliceridemia com início na idade adulta resultam de causas secundárias (TABELA 2) como é o caso do consumo de alto teor de energia, gordura e açúcares, consumo de álcool, presença de SM, DM2, doença renal e até o uso de alguns medicamentos, como corticosteroides, estrogênio oral, tamoxifeno, tiazidas, betabloqueadores não cardiosseletivos, sequestrantes de ácidos biliares, ciclofosfamida, antirretrovirais e agentes antipsicóticos, capazes de aumentar a produção de TG e/ou prejudicar sua depuração (BERBERICH E HEGELE, 2022).

O diagnóstico individualizado de hipercolesterolemia envolve primeiramente a avaliação dos níveis de colesterol, obtidos a partir do exame de perfil lipídico padrão, bem como uma avaliação do risco individual, através do uso de uma calculadora de risco cardiovascular validada, ou seja, avaliação do risco de Framingham, como SCORE, QRISK ou American College of Cardiology/American Heart Association. Nos casos de indivíduos diagnosticados com hipercolesterolemia, é importante considerar a correlação direta entre os níveis de colesterol e o risco de eventos de doença cardiovascular, principalmente doença arterial coronariana, mas também acidente vascular cerebral isquêmico e doença arterial periférica. Os níveis de LDL-Coslesterol mais baixos durante o tratamento está associado ao menor risco para complicações, sem efeitos negativos observados mesmo com os valores mais baixos de LDL-Colesterol obtidos em ensaios clínicos. Portanto, não havendo necessidade de reduzir o tratamento nos indivíduos que atingem níveis muito baixos de LDL. O tratamento com a dose máxima tolerada de uma estatina de alta intensidade é recomendado como tratamento de primeira linha para indivíduos com níveis de LDL acima de 194 mg/dL e fatores de

risco associado para doenças cardiovasculares. Considerando a redução dos níveis de TG, atualmente faltam evidências do benefício da farmacoterapia para melhorar os resultados dos riscos cardiovasculares, sendo que a maioria dos agentes que reduzem os TG também afeta outros componentes do perfil lipídico (BERBERICH E HEGELE, 2022).

TABELA 2- FATORES SECUNDÁRIOS DO ESTILO DE VIDA E CONDIÇÕES MÉDICAS ASSOCIADAS À DISLIPIDEMIA

Distúrbio lipídico primário associado	**↑ LDL-C**	**↑ TG**	**↓ HDL-C**
Estilo de vida			
Obesidade	x	x	x
Sedentarismo	x	x	x
Álcool em excesso		x	
Tabagismo			x
Fatores dietéticos			
Alto teor de gordura trans	x		
Alto teor de gordura saturada	x		
Alto teor de carboidratos		x	x
Condições médicas			
Doença hepática obstrutiva	x		
Hipotireoidismo	x		
Síndrome nefrótica	x		
Anorexia	x		
Síndrome metabólica		x	x
Resistência a insulina		x	x

Distúrbio lipídico primário associado	↑ LDL-C	↑ TG	↓ HDL-C
Diabetes melito		x	x
Doença hepática gordurosa não alcoólica		x	x

Fonte: Adaptado de BERBERICH E HEGELE, 2022.

2.3.2. Diabetes mellitus

O DM é um distúrbio metabólico caracterizado pelos níveis elevados de açúcar no sangue, resultante da inadequação ação da insulina. E atualmente é tido como a 5ª principal causa de morte no mundo. São descritos três principais tipos de DM: Tipo 1, 2 e diabetes gestacional, entretanto, a literatura científica recente sugere que mesmo alguns indivíduos classificados dentro destas classificações, podem apresentar variações etiológicas bem definidas, caracterizando subtipos clínicos desta doença (KHAN et al., 2019; SKYLER et al., 2017).

Simplificadamente, o DM é caracterizado pela hiperglicemia, mas existem múltiplos mecanismos que podem resultar no quadro de hiperglicemia. E são estas variações que justificam as diferentes apresentações da doença (TABELA 3), assim como sua progressão, resposta a medicamentos e as possíveis complicações. O DM do tipo 1 (DM1) é uma doença autoimune, em que as células β-pancreáticas são destruídas pelo próprio sistema imunológico, não havendo a produção de insulina (KHAN et al., 2019; PEARSON, 2019).

TABELA 3 - CLASSIFICAÇÃO ETIOLÓGICA DO DIABETES

Classificação etiológica do DM.	**Tipos de diabetes**
DM tipo 1	Tipo 1A: deficiência de insulina por destruição autoimune das células β comprovada por exames laboratoriais
	Tipo 1B: deficiência de insulina de natureza idiopática
DM tipo 2	Perda progressiva de secreção insulínica combinada com resistência à insulina
DM gestacional	Hiperglicemia diagnosticada durante a gestação, na ausência de critérios de DM prévio
Outros tipos de DM	Monogênicos (MODY); diabetes neonatal; secundário a endocrinopatias; secundário a doenças do pâncreas exócrino; secundário a infecções; secundário a medicamentos

Fonte: American Diabetes Association, 2019.

Já no diabetes tipo 2 (DM2), apesar de haver a produção da insulina, ela não é eficaz em controlar os níveis de glicose sanguínea. Por fim, o diabetes mellitus gestacional (DMG) refere-se ao desenvolvimento pontual da doença por mulheres durante o período de gestação, devido, principalmente, as variações hormonais envolvidas neste processo (KHAN et al., 2019; PEARSON, 2019). Cronicamente, a glicemia persistente no DM pode resultar em complicações como disfunção e falência de diferentes órgãos, especialmente olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos, como exemplos: retinopatia, insuficiência renal, infecções nos pés e pernas (pé diabético) e doenças cardiovasculares (KHAN et al., 2019). De acordo com a American Diabetes Association (ADA), existem quatro métodos para o diagnóstico da doença:

- Glicemia de jejum: Realizado com jejum sólido de 8 horas previamente ao exame. Valores igual ou superiores a 126 mg/dL;
- Teste oral de tolerância à glicose (TOTG): Através da administração de solução de xarope contendo 75 g de glicose, antes da qual é realizado um exame de sangue para determinar a glicose de jejum e após 2 horas da administração. Glicemia igual ou superior a 200mg/dL após 2h;

- Hemoglobina glicada (HbA1c): Valores refletem o histórico da glicemia de 120 dias. Hemoglobina glicada superior a 6,5%.
- Glicemia pós-prandial ou aleatório: maior ou igual a 200 mg/dL em pacientes que apresentaram sintomas de hiperglicemia ou crise hiperglicêmica.

Os hábitos alimentares, como a alta ingestão calórica, e os hábitos de vida, como o sedentarismo, são os principais fatores causais para o desenvolvimento do DM2 e por isso devem ser os principais alvos de intervenção no tratamento. Entre os objetivos do tratamento do DM estão a manutenção e restauração da qualidade de vida; redução do risco de complicações; satisfação com o tratamento; e a prevenção e tratamento das complicações crônicas através da melhoria do controle metabólico (PFEIFFER e KLEIN, 2017). Concomitantemente, se faz necessário o início do uso ou intensificação do tratamento medicamentoso. Dentre as opções mais usuais estão: metformina, sulfonilureias, tiazolidinedionas (TZDs) e inibidor de α-glucosidase (PFEIFFER e KLEIN, 2017; BABU, LIU e GILBERT, 2013).

Além da insulina e dos análogos da insulina, os tratamentos para o diabetes incluem fármacos que aumentam a secreção de insulina, que estimulam ou reduzem produção hepática e endógena de glicose. Existem ainda medicamentos que alteram a glicemia por diferentes mecanismos, como os hipoglicemiantes. Porém, sabe-se que características individuais de cada portador da doença resulta em diferentes respostas a estes tratamentos, reforçando a necessidade de um tratamento personalizado e compatível com as condições limitantes de cada caso (SKYLER et al, 2017). A metformina é um dos medicamentos mais populares e mais utilizados para esta finalidade. Este fármaco pertence à classe das biguanidas de medicamentos antidiabéticos. Seu mecanismo de ação é complexo e ainda não totalmente elucidado, porém, sabe-se que ela não é metabolizada no corpo humano e a concentração de metformina permanece alta no fígado, intestinos, rins e bexiga, órgãos de principal ação do medicamento. A metformina reduz a concentração de glicose plasmática em jejum e hemoglobina glicada. Consequentemente, ocorre a supressão da produção de glicose hepática, pela gliconeogênese, ou restaurando a função das células β-pancreáticas. Deste modo, esta droga funciona principalmente diminuindo a taxa de produção da glicose

hepática e aumentando a ação da insulina nos músculos esqueléticos (KHAN et al., 2019).

As principais vantagens do uso da metformina, que justificam sua ampla utilização, são a redução da mortalidade, a ausência de risco de hipoglicemia e o efeito anoréxico, que auxilia na promoção da perda de peso. Também são observados efeitos benéficos nas concentrações lipídicas dos indivíduos tratados por este método. Entretanto, apesar das vantagens, a metformina comumente apresenta efeitos colaterais gastrointestinais, principalmente na fase inicial do tratamento. Por este motivo, é recomendada uma dose mais baixa no início do tratamento, cerca de 500mg, por via oral, até duas vezes ao dia (PFEIFFER e KLEIN, 2017). Porém, devido suas reações adversas e dificuldade de adaptação de alguns indivíduos com o uso de fármacos sintéticos, a prevenção da doença, por meio de fontes naturais de tratamento, é um tema que devem estar em constante pesquisa. Os compostos presentes em plantas são opções de tratamento muito vantajosas, primeiramente por serem de natureza abundante e de baixo custo para produção, e também, por apresentarem reações adversas geralmente menores em comparação aos compostos sintéticos utilizados (BABU, LIU e GILBERT, 2013).

2.3.3. Síndrome metabólica

A síndrome metabólica (SM) ou síndrome X é definida pela Organização Mundial de Saúde (OMS) como uma condição patológica caracterizada pela obesidade abdominal, resistência à insulina, hipertensão e hiperlipidemia. Condições estas que estão inter-relacionadas e compartilham mecanismos fisiopatológicos em comum. Seu desenvolvimento está relacionado com hábitos alimentares, como a alta ingestão calórica, o baixo consumo de fibras e o estilo de vida sedentário. Com a globalização, estes comportamentos passaram a se tornar comuns no mundo todo e não apenas na população ocidental, como originalmente (SAKLAYEN, 2018). A definição da OMS foi a primeira a unir os principais componentes da resistência à insulina, obesidade, dislipidemia e hipertensão. Para estabelecer o diagnóstico de SM é obrigatório, segundo essa referência, que esteja presente o quadro de resistência à insulina ou DM2 (QUADRO 1). Caso contrário, mesmo que todos os demais critérios estejam presentes, o indivíduo não receberá o diagnóstico de SM (HUANG, 2009).

QUADRO 1 – CRITÉRIOS DIAGNÓSTICOS DE SÍNDROME METABÓLICA

Critérios	OMS	NCEP/ ATP III	IDF
Glicemia de jejum (mg/dL)	>110	>100	>100
Glicemia após 120min (TOTG) (mg/dL)	>140	N.A.	N.A.
HDL colesterol (mg/dL)			
Homens	<35	<40	<40
Mulheres	<40	<50	<50
Triglicerídeos (mg/dL)	>150	>150	>150
Relação cintura/quadril			
Homens	>0,9	N.A.	N.A.
Mulheres	>0,85		
Índice de massa corporal/IMC (kg/m)	>30	N.A.	N.A.
Pressão arterial (mmHg)	>140/90	>130/85 mmHg	>130/85 mmHg
Circunferência da cintura (cm)			
Homens	N.A.	>102	>94
Mulheres		>89	>80
Definição do diagnóstico	Alteração de glicemia associado com dois ou mais critérios	Três ou mais dos cinco critérios	Circunferência da cintura e mais dois dos quatro demais critérios

Fonte: A autora, 2023.
Legenda: OMS: Organização Mundial da Saúde; NCEP/ATPIII: National Cholesterol Education Program/Adult Treatment Panel III; IDF: International Diabetes Foundation.

A definição do NCEP ATP III é um dos critérios de síndrome metabólica mais utilizados. Ele incorpora as principais características de hiperglicemia/resistência à insulina, obesidade visceral, dislipidemia aterogênica e hipertensão. Assim, a definição não se baseia em nenhuma noção preconcebida da causa subjacente da síndrome metabólica, seja resistência à insulina ou obesidade. Já a IDF (International Diabetes Foundation) publicou outros critérios para a SM, que apesar de incluírem os mesmos critérios gerais das outras definições, não insere a presença obrigatória da resistência à insulina para diagnóstico, mas considera a presença de obesidade (HUANG, 2009).

De modo geral, a exigência de múltiplos critérios para definição do diagnóstico assegura que indivíduos portadores de um dos critérios, de maneira isolada, não sejam diagnosticados com as diferentes alterações fisiopatológicas que caracterizam a SM. E apesar das diferentes definições, todos os parâmetros utilizados relacionam as características centrais da síndrome (HUANG, 2009).

A fisiopatologia da SM engloba vários mecanismos complexos, também relacionados aos critérios diagnósticos, porém nem todos foram ainda totalmente elucidados. Além de fatores genéticos e epigenéticos, o estilo de vida e fatores ambientais são identificados como os principais contribuintes para o desenvolvimento da síndrome. Sendo assim, a elevada ingestão calórica também é considerada um dos fatores causais, uma vez que promove adiposidade visceral, resistência à insulina, inflamação crônica e ativação neuro-hormonal (FAHED et al, 2022; HUANG, 2009).

O acúmulo de gordura corporal está associado ao desenvolvimento de alterações com hipertensão arterial, aumento de triglicérides e glicemia, e a redução do HDL-colesterol (GOBATO et al, 2014). O próprio acúmulo de tecido adiposo exerce uma função endócrina que justifica mecanismos adicionais para o desenvolvimento da SM.

As adipocinas liberadas incluem hormônios, como a leptina e adiponectina, além de peptídeos que desempenham um papel importante na fisiopatologia da resistência à insulina e SM. Os níveis de leptina, por exemplo, são diretamente proporcionais à obesidade e aos níveis de gordura corporal. Consequentemente, em indivíduos obesos, o elevado nível de leptina sem o correto controle do apetite e o consequente controle glicêmico, sugere uma alteração denominada resistência à leptina. Além disso, o excesso do hormônio também está relacionado ao maior risco cardiovascular e inflamação, contribuindo para progressão da obesidade e SM (FAHED et al, 2022).

A insulina é um hormônio peptídico secretado pelas células β-pancreáticas em resposta à elevação da glicemia, exerce efeitos anabólicos inibindo a lipólise e a gliconeogênese hepática, aumentando a captação de glicose no fígado, músculos e tecidos adiposos. Quando a resistência à insulina (RI) se desenvolve nos tecidos adiposos, a inibição da lipólise mediada pela insulina é comprometida. A RI é caracterizada pela redução da capacidade da insulina em estimular a utilização da glicose. Sendo assim, as células β-pancreáticas aumentam a produção e a secreção de

insulina como mecanismo compensatório, enquanto a tolerância à glicose permanece normal. É possível detectar a RI pelos valores de glicemia e insulina sérica em jejum, através do índice de avaliação do modelo homeostático de resistência à insulina (HOMA-IR) e do índice de verificação quantitativa da sensibilidade à insulina (QUICKI) (FAHED et al, 2022; GOBATO et al, 2014).

Um estudo transversal com 79 adolescentes de 10 a 18 anos avaliou a associação de indicadores de composição corporal com RI e SM. Como resultado, o índice de massa corporal (IMC); a porcentagem de gordura corporal; a circunferência abdominal e a gordura subcutânea apresentaram correlação positiva com a RI, mas apenas o IMC correlacionou-se com os componentes da SM. O IMC mostrou-se ainda o indicador antropométrico mais efetivo na identificação da RI (GOBATO et al, 2014).

2.4. Modelos experimentais

Modelos experimentais são fundamentais para elucidação da fisiopatologia, desenvolvimento e tratamento de diferentes tipos de doenças, de maneira muito similar ao comportamento destas em organismos humanos (COSTA et al., 2014). Uma das espécies mais adequadas para estes estudos é a *Rattus norvegicus albinus*, por apresentar boa resistência às atividades experimentais e possuir grande semelhança genética aos seres humanos (LOVEGROVE et al., 2015; MATTARAIA E MOURA, 2012). Sendo que as espécies de roedores comumente utilizadas em modelos experimentais com indução de doenças por meio da dieta são os ratos *Sprague-Dawley,* ratos *Wistar*, camundongos C57BL/6 J e *hamster* sírio dourado (WONG et al., 2016).

Os modelos animais de obesidade podem ser geneticamente modificados, como os monogênicos, que possuem mutação em apenas um gene para produzir a doença, ou modelos de obesidade induzidos por dieta (*diet-induced obesity* - DIO). No primeiro caso, além de um período de indução muito mais rápida, quando comparado ao modelo DIO, é possível desenvolver alterações de fenótipos bem específicas, facilitando a análise de intervenções sobre a doença, reduzindo a variabilidade de resultados. Por outro lado, se distanciam da simulação do estado de obesidade em humanos, adquiridas por hábitos de vida e alimentares, capazes de promover a síndrome metabólica. As dietas utilizadas reproduzem a chamada “dieta de cafeteria”, que é altamente palatável e possui grande semelhança na composição nutricional com a dieta humana. A forma

comercial desta dieta é também hiperlipídica e hipercalórica e permite boa padronização do consumo alimentar dos diferentes grupos experimentais. Neste modelo experimental, os animais recebem alimentos calóricos, ricos em açúcar e/ou gorduras, *ad libidum*, promovendo a progressão da obesidade e de diabetes, de forma lenta e gradual. Desta forma, a patologia se desenvolve de maneira similar às condições de desenvolvimento em humanos, em resposta ao excesso de energia ingerida e gasto calórico insuficiente (DOULBERIS et al, 2020; FUCHS et al., 2018).

Para escolha do modelo de indução adequado é importante considerar os mecanismos subjacentes à hiperglicemia e o possível impacto para os resultados do estudo. Esses mecanismos podem incluir resistência à insulina e/ou falência das células beta. Basicamente, os modelos animais de DM2 podem ser obesos e não obesos, resultando ou não em alterações como dislipidemia e aterosclerose, nos casos da presença da obesidade (KING, 2012).

As diferentes dietas utilizadas para indução da SM incluem dieta rica em frutose; rica em sacarose; rica em gordura; rica em frutose/gordura ou rica em sacarose /ricas em gordura. Desta forma, os estudos visam avaliar as alterações metabólicas ocasionadas pelo consumo alimentar e os efeitos hormonais e do metabolismo da glicose de lipídeos envolvidos. A frutose é um monossacarídeo frequentemente usado como intensificador de sabor para tornar os alimentos mais palatáveis. Estudos sugerem que o consumo excessivo de frutose poderia favorecer o acúmulo de triglicerídeos e colesterol no fígado, devido suas propriedades lipogênicas, resultando na redução da sensibilidade à insulina, resistência à insulina e/ou intolerância à glicose. No fígado, a frutose é convertida em frutose-1-fosfato, com a consequente clivagem em gliceraldeído e fosfato de diidroxiacetona. A fosfofrutoquinase é um regulador negativo do metabolismo da glicose e permite que a frutose entre na via da glicólise continuamente. A frutose-1,6-bifosfato é então convertida em piruvato por meio do processo de glicólise, interferindo em diferentes processos do metabolismo da glicose simultaneamente. Considerando todos estes aspectos, é possível afirmar que a indução de SM com a frutose é mais eficiente em comparação com glicose ou amido, resultando em consequências ao peso corporal, adiposidade, hipertrigliceridemia, hiperlipidemia, hipertensão, intolerância à glicose e diminuição da sensibilidade à insulina em animais de laboratório. Doses relativamente baixas de frutose, cerca de 10%, acrescidas na água dos animais parecem ser suficientes para induzir a SM (WONG et al., 2016).

O modelo de indução com dietas de alto teor de gordura tem como objetivo o desenvolvimento de obesidade, hiperinsulinemia e a consequente alteração da homeostase da glicose devido à compensação insuficiente pelas ilhotas pancreáticas. A alimentação comercial utilizada para roedores contém, em média, 26% de proteína, 63% de carboidrato e 11% de gordura, enquanto que as dietas hiperlipídicas para indução de obesidade contém, aproximadamente, 58% de calorias proveniente dos lipídeos. As fontes de lipídeos das dietas são variadas, como óleos de milho, cártamo, azeite, banha de porco e sebo bovino, podendo variar em quantidades de 20 a 60%, sendo utilizadas tanto para modelos de SM, como para obesidade (WONG et al., 2016; KING, 2012).

O excesso calórico é essencial para o desenvolvimento da obesidade, tanto em humanos, como em modelos experimentais. Mesmo que as dietas hiperlipídicas apresentem alto potencial sacietogênico, reduzindo o consumo alimentar, o consumo de uma pequena quantidade da dieta rica em gorduras é capaz de aumentar de forma significativa o peso e a gordura corporal dos animais, devido ao seu alto aporte calórico. Além disso, o método de oferta da dieta *ad libitum,* ou seja, de livre acesso, afeta a ingestão alimentar, que tende a ser estimulada. O período de oferta é outro fator determinante para o desenvolvimento da obesidade, variando de oito dias a 27 semanas. Para escolher um modelo animal para um estudo de obesidade induzida por dieta, deve-se considerar que ratos e camundongos respondem diferentemente a esse tipo de dieta; além disso, estirpe, sexo e idade afetam a resposta à dieta obesogênica, sendo animais jovens e machos mais sensíveis às comorbidades relacionadas à obesidade. Considerando todos estes fatores, os marcadores que podem avaliar o desenvolvimento da obesidade, com base nos critérios metodológicos escolhidos, são o peso corporal; ganho de gordura; parâmetros relacionados à inflamação; concentração de hormônios; glicemia sanguínea; perfil lipídico; e marcadores de saúde hepática. Idealmente, estes marcadores devem ser utilizados em conjunto, caracterizando o perfil complexo da obesidade. Em animais, como não há pontos de corte específicos para estes parâmetros, é imprescindível que os estudos incluam um grupo controle não obeso (saudável), para que os resultados possam ser comparados (DE MOURA E DIAS et al. 2021).

A administração de frutose aos animais é um dos fatores para desenvolvimento do quadro de SM e obesidade, por favorecer a resistência à leptina e à insulina, promovendo aumento do peso corporal, da gordura abdominal, hiperglicemia e hiperinsulinemia em roedores. Modelos animais de obesidade (DIO) podem ser

induzidos por diferentes tipos de dieta e são utilizados para estudo do papel da alimentação, fisiopatologia e etiologia da doença, assim como também em testes farmacológicos. Mimetizando o estilo de vida ocidental, caracterizada pela dieta rica em açucares e gorduras, sendo o principal meio de indução da obesidade e DM2 em humanos (FUCHS, et al., 2018).

De modo geral, a frutose e a sacarose, amplamente utilizadas como adoçantes de alimentos ou bebidas, fornecem menos saciedade do que outros tipos de açúcar, incentivando assim a ingestão excessiva (GUNAWAN; AULIA e SOETIKNO, 2021). Entretanto, dietas obesogênicas nem sempre resultaram em aumento do peso corporal dos animais de grupos experimentais em comparação com os ratos que recebem dietas controle. Diferenças na ingestão de energia entre grupos dietéticos podem dificultar a interpretação das consequências metabólicas de uma determinada dieta ou de um composto terapêutico testado. De mesmo modo, as diferenças na composição da dieta têm um impacto direto nos resultados metabólicos e fisiopatológicos em modelos de roedores de obesidade induzidos por dieta (KOTZÉ-HÖRSTMANN et al., 2022).

Comparativamente, as dietas mais utilizadas para indução do modelo experimental DIO foram avaliadas quanto às consequências obesogênicas e inflamatórias. A dieta de cafeteria e a dieta hiperlipídica com 45% à base de gordura foram testadas em modelos de roedores *Wistar* machos, juntamente ao grupo controle, durante 15 semanas. Embora ambas as dietas ricas em gordura tenham resultado em aumento da adiposidade e esteatose hepática, o peso corporal dos animais do grupo que recebeu a dieta de cafeteria teve aumento significativo e mantiveram-se elevado em comparação aos outros dois grupos, assim como ocorreu com os valores obtidos na avaliação do TOTG (SAMPEY, et al., 2011).

2.5. Compostos bioativos como forma de tratamento de doenças crônicas

Agentes farmacológicos são a forma de tratamento mais empregada para SM e DM2, incluindo o controle de suas alterações, como hipertensão, dislipidemia e hiperglicemia. Apesar da eficácia, este método apresenta uma série de possíveis efeitos colaterais, como tontura, dores de cabeça, palpitação, angioedema, entre outros. Por este motivo, é crescente o interesse científico em estudar compostos bioativos e dietéticos

que atuem na prevenção e tratamento desta doença, amenizando seus sintomas e evitando complicações e agravamento (SAHELI, et al., 2019; ALAM, et al. 2014).

Produtos naturais, principalmente de origem vegetal, são o principal material de estudo para desenvolvimento de novos tratamentos, devido a grande disponibilidade e baixo custo das matérias-primas. E como mencionado, fornecem grande variedade de compostos bioativos, com menos reações adversas. Entre os fitocompostos que podem ser empregados estão os flavonóides, terpenóides, saponinas, carotenóides, alcaloides, polissacarídeos, estilbenos, taninos e glicosídeos. Os efeitos anti-hiperglicêmicos resultantes do tratamento com plantas são geralmente atribuídos à sua capacidade de melhorar o desempenho do tecido pancreático, pelo aumento da secreção de insulina ou pela redução da absorção intestinal de glicose (SAHELI, et al. 2019).

Os polissacarídeos dietéticos são compostos comestíveis provenientes de plantas, grãos, frutas, vegetais e cogumelos comestíveis e suas atividades farmacológicas vem sendo estudadas, devido sua baixa toxicidade. Dentre os benefícios associados ao composto estão a ação anti-inflamatória, proteção da pele, ação antioxidante, modulação imunológica, efeito hipolipemiante e controle do DM. Os taninos, por sua vez, são compostos polifenólicos complexos e classificados como taninos hidrolisáveis e condensados. Entre os benefícios à saúde relacionados à estes compostos, são citados sua capacidade sequestradora de radicais livres e ativação de enzimas antioxidantes, sendo, portanto, utilizados no controle de doenças crônicas, como o DM. Um dos mecanismos de ação para tal efeito é sua ação em aumentar as vias de sinalização de insulina e a translocação de GLUT-4, aumentando a captação de glicose. Outra forma de controle é a partir da redução na absorção intestinal de glicose e a indução da regeneração das células β pancreáticas, também inibem a atividade da α-amilase e α-glicosidase e aumentam a atividade da insulina nas células adiposas (SHEHADEH, SUAIFAN E ABU-ODEH, 2021).

Terpenóides são metabólitos secundários constituídos a partir de unidades de isopreno e por isso, são categorizados em hemiterpenos, monoterpenos, sesquiterpenos, diterpenos, sesterpenos, triterpenos, tetraterpenos e poli-isoprenos. Possuem significativa atividade antioxidante e ação inibitória da α-glicosidase. Além disso, são capazes de promover o aumento dos níveis de insulina e a captação de glicose nos tecidos, podendo inibir várias vias de sinalização no metabolismo de carboidratos e

proteger as células pancreáticas, resultando em um eficaz controle das alterações relacionadas ao diabetes (SHEHADEH, SUAIFAN E ABU-ODEH, 2021).

Da mesma forma, o uso de plantas para o tratamento da obesidade, além de considerar suas causas, tem como possibilidades diferentes formas de intervenção, incluindo terapias medicinais, comportamentais e físicas, além de intervenções cirúrgicas, entre outras. Como modalidades de medicina complementar e alternativa são utilizados, principalmente, suplementos de ervas e estratégias dietoterápicas para perda de peso. O uso de plantas medicinais, seja com compostos puros ou extratos, incluem espécies já estudadas para o tratamento da obesidade, entre elas: *Aloe vera, Achyranthes aspera, Panax japonicu, Aegle marmelos, Citrus paradisi, Cucurbita moschata, Ilex paraguariensis, Achyrocline satureioides, Annona montana, Artemisia princeps, Artemisia princeps, Camellia the, Carica papaya, Dioscorea nipponica, Garcinia cambogi, Hunteria umbellata, Moringa oleífera, Nelumbo nucifera, Persea americana, Punica granatum L., Taraxacum officinale,* entre outras (HERNÁNDEZ BAUTISTA et al., 2019; GAMBOA-GÓMEZ, et al., 2015).

O benefício do consumo frequente de frutas e vegetais no tratamento de doenças crônicas é amplamente conhecido e recomendado por profissionais da saúde. Muito destes efeitos benéficos estão relacionados aos nutrientes e compostos presentes nestes alimentos, como os polifenóis, incluindo flavonóides, antocianinas e ácidos fenólicos, por exemplo. Estes estão presentes em grande quantidade nas plantas cítricas, que também contém naringina, naringenina, nobelitina, narirutina e hesperidina, os quais apresentam importante atividade antioxidante e anti-inflamatória (ALAM, et al. 2014). A toranja (*Citrus paradisi*) e o limão (*Citrus limon L.)* são frutas pertencentes à família *Rutaceae* e representantes dessa classe. A toranja é resultante da hibridização natural de pomelo e laranja. Já o limão é a terceira espécie cítrica mais prevalente, depois da laranja e da tangerina. O efeito anti-obesidade de toranja já foi avaliado em diferentes formas de utilização, desde o fruto *in natura*, na forma de suco, infusão e também em cápsulas. O uso destes frutos mostrou-se eficiente na redução do risco cardiovascular e diabetes (GAMBOA-GÓMEZ, et al., 2015).

O abacate (*Persea americana*) pertence à família *Lauraceae* e nativo da América Central e do Sul. Suas folhas têm sido utilizadas como tratamento alternativo para doenças como hipertensão, diarreia, hemorragia e dor de garganta. Alguns estudos sobre

seus efeitos anti-obesidade foram relacionados ao uso tanto das folhas, como do fruto. Os extratos aquoso, metanólico e hidroalcoólico foram testados em ensaios experimentais, sendo os principais constituintes químicos relatados pela literatura: os alcanóis, glicosídeos terpenoides, derivados contendo anel furano, flavonoides e cumarina (GAMBOA-GÓMEZ, et al., 2015).

2.6. *Solanum sessiliflorum* Dunal (Maná-cubiu)

O maná-cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) é um fruto originário da região amazônica, tanto brasileira, quanto peruana e colombiana. O fruto pertence à família *Solanaceae,* assim como a batata (*Solanum tuberosum* L.), a pimenta (*Capsicum* spp), a berinjela (*Solanum melongena* L.) e o tomate (*Solanum lycopersicum*) (SEQUI, 2016). O enquadramento taxonômico é apresentado no Quadro 2. Alguns compostos já foram identificados nesta espécie, presentes principalmente em seu exocarpo, como o ácido *p*-cumárico, ácido *p*-hidroxidihidrocumárico, naringenina, salicilato de metila, ácidos graxos, como ésteres metílicos e etílicos (CARDONA; CUCA e BARRERA, 2011). Solanaceae é uma das famílias botânicas mais diversas presente nas Américas, na Argentina, por exemplo, a Solanaceae representa a quarta família em número de espécies, correspondendo à 1611 espécies só na América do Sul. O Peru e o Equador são os locais com maior diversidade por área, enquanto o Chile e o Brasil têm a maior porcentagem de espécies endêmicas (PALCHETTI, BARBOZA e CANTERO, 2020).

A caracterização fenotípica e genotípica do maná-cubiu foi realizada por Silva Filho et al. (2005), estudo em qual avaliaram a estrutura genética relacionada ao processo produtivo e de 28 etnovariedades do fruto. Dentre elas, nove diferentes fenótipos foram identificados, sendo que a maior parte dos frutos possuíam formato globular de tamanho classificado como médio, similar a um limão (SILVA FILHO et al., 1998). De modo geral, todas as variedades apresentaram grande variabilidade agronômica e genética (SILVA FILHO et al., 2005).

As diferentes etnovariedades do maná-cubiu foram estudadas por Yuyama (2007) segundo sua composição centesimal, e como características da espécie, foram encontrados elevado teor de umidade (aproximadamente 90%) e baixa concentração de proteínas (de 0,4 a 0,7%) e lipídios (de 0,3 a 1,8%). Neste mesmo estudo, avaliou-se a

composição de minerais do fruto, sendo que o potássio foi aquele encontrado em maior quantidade, enquanto o sódio foi o mineral menos abundante. Por este motivo, o maná-cubiu torna-se uma boa opção alimentar para indivíduos em dietas com restrição de sódio (SILVA FILHO et al., 2005). Além disso, as fibras insolúveis são as mais presentes no fruto, contribuindo também para sua inclusão dietética em populações com dietas hipocalóricas, devido sua baixa densidade energética avaliada (MAIA et al., 2015; YUYAMA, 2007).

QUADRO 2 – ENQUADRAMENTO TOXONÔMICO DO *Solanum Sessiliflorum* Dunal

HIERARQUIA	TAXONOMIA
Reino	*Plantae*
Filo	*Magnoliophyta*
Classe	*Magnoliopsida*
Ordem	*Solanales*
Família	*Solanaceae*
Gênero	*Solanum*
Espécie	*S. sessiliflorum*

Em análise quanto a atividade antioxidante do maná-cubiu, foi realizado um estudo com sua triagem fitoquímica *in vitro*, com a finalidade de identificação dos principais compostos antioxidantes presentes em seu extrato hidroetanólico. Foram detectados alcaloides, ácidos orgânicos, fenóis e flavonoides. Já em seu extrato aquoso, foi identificada a presença de antocianinas, gomas, taninos e mucilagem (MASCATO et al., 2015). A capacidade antioxidante de frutas e vegetais é fortemente relacionada ao seu teor de fenólicos totais, que pode ser influenciado pelas condições agronômicas, como o cultivo e pós-colheita, assim como pelo estádio de maturação dos frutos. A estrutura dos compostos fenólicos e o número de grupos hidroxila também interferem na capacidade antioxidante da substância presente no alimento (PALAFOX-CARLOS; YAHIA E GONZÁLEZ-AGUILAR, 2012).

Os flavonoides representam uma grande classe de compostos fenólicos encontrados em frutas e vegetais e são constituídos por dois anéis aromáticos ligados por uma cadeia de três carbonos, que formam um anel heterocíclico oxigenado. Os

flavonoides são classificados como flavan-3-óis, flavanonas, flavonóis, antocianidinas, flavonas e isoflavonas de acordo com diferenças na estrutura genérica do anel C, grupos funcionais nos anéis e a posição em que o anel B está ligado ao anel C. A ingestão de flavonoides está relacionada com a redução do desenvolvimento de doenças como o câncer, doenças cardiovasculares, osteoporose, doenças neurodegenerativas e o diabetes. Neste último caso, por apresentarem influência na digestão de carboidratos, assim como na secreção e sinalização de insulina e absorção de glicose (FARIA, et al. 2021; BABU, LIU e GILBERT, 2013).

Os flavonoides, assim como clorofilas, carotenoides e ácido cítrico, foram detectados no maná-cubiu. Este último em maior concentração, seguido do ácido clorogênico, ácidos cafeico e quínico, os quais permanecem circulantes no plasma humano após metabolização, mantendo seu potencial antioxidante *in vivo* (NASCIMENTO, et al., 2022; FARIA, et al., 2021). Estudos evidenciam a capacidade de reversão dos efeitos da SM pelo ácido cafeico, por meio da redução de marcadores inflamatórios, como o TNFα e outros parâmetros de estresse oxidativo. Sugerindo ser um potencializador de drogas mais comumente usadas para este tratamento, devido suas atividades anti-obesidade, antidiabética, hipolipidêmica e hipotensora (MUHAMMAD ABDUL KADAR, et al., 2021).

2.7. Efeitos biológicos do maná-cubiu

O efeito hipoglicemiante do maná-cubiu foi investigado em experimento com ratos diabéticos, através da sua administração como suplemento alimentar. Os animais foram induzidos ao diabetes pela injeção de estreptozotocina na dose de 40 mg/kg. Após o período de duas semanas, os animais foram selecionados de acordo com a concentração de glicose sérica (valores superiores a 300 mg/dL) e distribuídos em dois grupos com dez ratos em cada. A dieta base para os animais foi a ração de caseína, variando apenas a fonte de fibra alimentar da dieta. Após as quatro semanas de tratamento, os ratos que receberam a fibra do maná-cubiu apresentaram uma redução de glicose sérica, quando comparado com o grupo controle, sugerindo a influência do fruto na redução da concentração de glicose no sangue (YUYAMA et al., 2005).

Além da possibilidade de controle do diabetes, o maná-cubiu foi avaliado como matéria-prima na elaboração de geleia dietética, com o objetivo de atender as

necessidades de consumo de indivíduos diabéticos. O maná-cubiu e outros frutos e vegetais como a uva, morango, alface, e cenoura são fontes naturais de xilitol, que é um álcool pentahidroxilado que possui metabolismo independente de insulina e capaz de substituir a glicose em diferentes preparações. Como resultado, a geleia dietética mostrou ser bem aceita e com caraterísticas sensoriais satisfatórias segundo a pesquisa, mesmo contendo baixo valor energético, mostrando ser um potencial substituto ao produto convencional rico em açucares (YUYAMA et al., 2005).

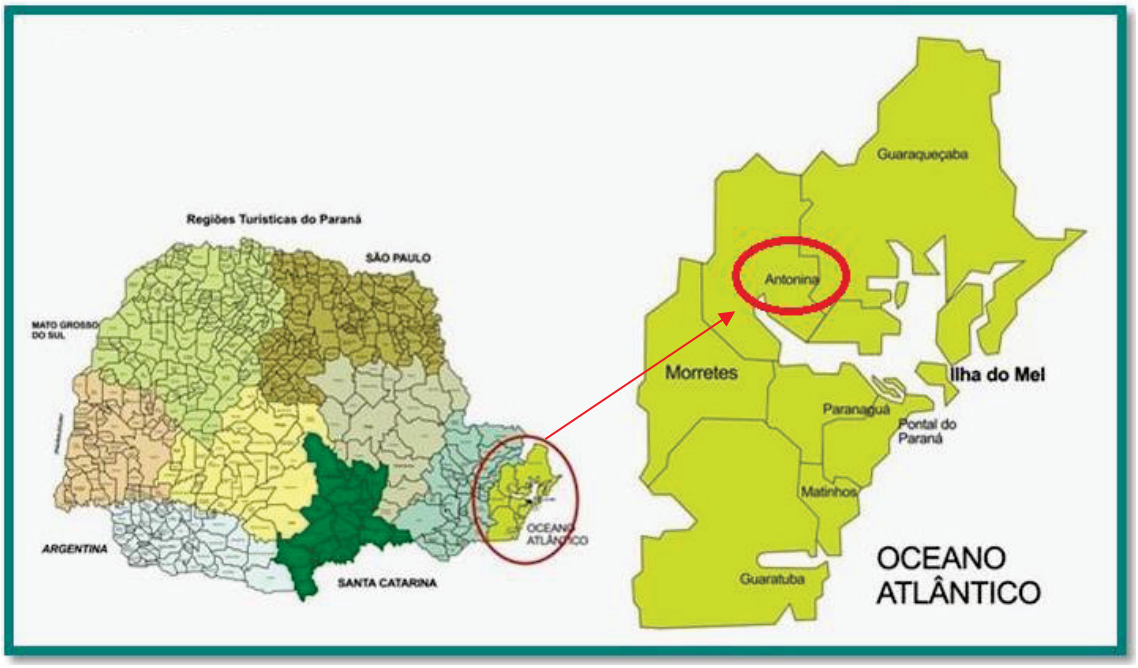
Como descrito, a dislipidemia também pode ser caracterizada como uma doença crônica que pode ser ocasionada pelos hábitos de vida e hábitos alimentares dos indivíduos, e assim como o diabetes, pode ser controlada com o uso de plantas, visando a redução do uso de fármacos em longo prazo (MAIA et al, 2015). Com esta perspectiva, o efeito hipolipemiante do maná-cubiu também vem sendo explorado por pesquisas científicas, em estudo a respeito do efeito do fruto sobre os marcadores do perfil lipídico, foi avaliada a ação da farinha de maná-cubiu sobre a lipemia de ratos hipercolesterolêmicos. A administração da farinha do fruto reduziu as concentrações de colesterol total, LDL-colesterol e colesterol hepático, além de aumentar a excreção de colesterol pelas fezes e os níveis HDL-colesterol nos ratos. Sendo assim, os resultados apresentados confirmam a hipótese levantada como hipocolesterolemiante, conforme o uso popular do fruto (MAIA et al., 2015). Além dos efeitos relacionados a doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), o maná-cubiu possui ainda resultados promissores em seu uso na cicatrização de feridas quando testado em coelhos (GONÇALVES, et al., 2013). Assim como em seu potencial de fitorremediação resultantes da exposição ao metilmercúrio (MeHg). O tratamento com o maná-cubiu revelou um efeito protetor desta fruta diante dos danos causados por MeHg, que é capaz de reduzir a concentração espermática e os níveis de testosterona, possivelmente causados pelas espécies reativas de oxigênio (SILVA et al., 2014).

2.8. Cultivo e origem do fruto

Somado aos benefícios alimentares e relacionados à saúde, o fruto também se tornou um bom recurso econômico para os produtores, principalmente por ser de fácil cultivo e muito produtivo (SILVA FILHO et al., 1996). Apesar de ter origem amazônica, o maná-cubiu passou a ser produzido no litoral paranaense no ano de 2015,

graças ao projeto Restauração de Áreas de Preservação Permanente (RAPPs) que o inseriu na Mata Atlântica do Paraná (FIGURA 1). Seu meio de cultivo ainda é em pequena escala, pois é produzido por agricultores locais e utilizado como matéria-prima na elaboração de subprodutos comercializáveis na região, como sucos, geleias, compotas e molhos. Por este motivo, o fruto apresenta vasto potencial para sociobiodiversidade local, com potencial de ser popularizado à diversidade brasileira (BIASSIO, 2011). Popularmente, o fruto já é consumido com as finalidades testadas (controle glicêmico e lipidêmico) em experimentos científicos, sem que houvesse ainda a devida comprovação (SILVA FILHO et al., 2002).

FIGURA 1 – REGIÃO DE CULTIVO DO MANÁ-CUBIU NO ESTADO DO PARANÁ



FONTE: Adaptado de Google Images (2019).

O método de produção de frutos, utilizando meios de cultivo agrícola que respeitam a produção local, agrega valor socioambiental e gera renda às comunidades regionais e de agricultores familiares, caracterizando o conceito de sociobiodiversidade. Consequentemente, os frutos cultivados com tais características, apresentam elevado valor nutricional, em relação às produções de larga escala. O cultivo sazonal tem menor produtividade, mas respeita a demanda natural do solo, os fatores ambientais e

climáticos, que são fatores determinantes para a composição nutricional dos frutos que serão colhidos (GRISA, 2007).

O Brasil é considerado o terceiro maior produtor de frutas do mundo, ao mesmo tempo que um dos maiores problemas de saúde do país são as DCNT. O consumo de frutas contribui diretamente na prevenção destas doenças, por apresentarem compostos bioativos e diversidade de nutrientes (BRASIL, 2011).

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 AMOSTRAGEM E COLETA

A espécie foi coletada durante o período de safra do ano de 2019, na Associação de Produtores Rurais de Antonina – Paraná (APRAN), situada na estrada Rio Pequeno, s/n, Cachoeira, no município de Antonina, no litoral do estado do Paraná, Brasil (Latitude 25º 16'31'' S e Longitude 4º 41'55'' O). O total de 5kg foi armazenado em caixas isotérmicas e transportados até o laboratório de fitoquímica do Departamento de Farmácia da Universidade Federal do Paraná, campus Botânico, em um período de até 2 horas. Os frutos foram higienizados em água corrente, sanitizados com solução de hipoclorito (200 ppm) por um período de 15 minutos e submetidos a secagem em temperatura ambiente ($\pm 22^0$C), em seguida, foram removidos os pedúnculos, folhas e talos (FIGURA 2).

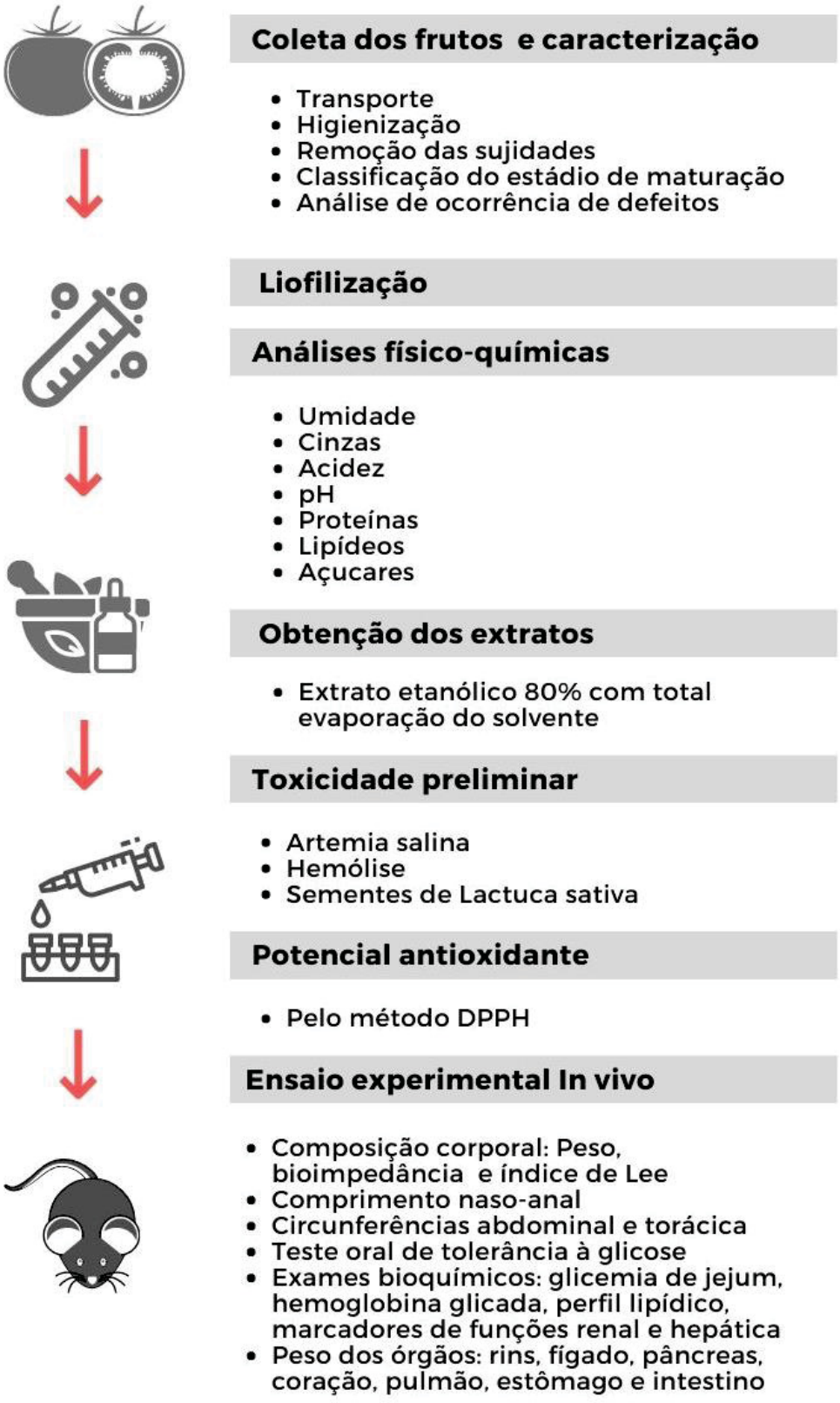
A etapa seguinte, conforme descrito na Figura 3, foi a etapa de avaliação física dos frutos, classificando-os segundo seu estádio de maturação e intensidade de ocorrência de defeitos. Os frutos em grau de maturação intermediário, entre o fruto verde e maduro, foram selecionados para obtenção dos extratos. Posteriormente, os frutos foram fatiados para então serem liofilizados. Após a liofilização, passaram pelo processo de moagem, dando origem à amostra com característica de pó.

O material possui autorização prévia de acesso ao patrimônio genético com número 010004/2015-7 (ANEXO 1) e foi anteriormente identificado no Museu Botânico de Curitiba mediante depósito de uma exsicata no Herbário Municipal sob o número 379033 (ANEXO 2).

FIGURA 2 – MANÁ-CUBIU DA MATA ATLÂNTICA PARANAENSE

Fonte: A autora, 2019.

FIGURA 3 – DELINEAMENTO DO ESTUDO



Fonte: A Autora, 2023.

3.2. OBTENÇÃO DOS EXTRATOS

O extrato etanólico foi preparado a partir do fruto liofilizado e triturado, em sistema fechado a quente em aparelho de Soxhlet, utilizando o solvente etanol 80% v/v, (CARVALHO, 2001). Após a adição da amostra e de álcool etílico no Soxhlet, todo o sistema foi levado ao aquecimento (80ºC) e deixado em refluxo contínuo para que o solvente pudesse realizar a adequada extração dos compostos bioativos do fruto. Após a obtenção do extrato, o mesmo foi concentrado em rotaevaporador e levado à secura em banho-maria a 50ºC, para completa evaporação do solvente. Para completa extração de água, o extrato seco foi liofilizado (CARVALHO, 2009).

3.3. ANÁLISE DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE PELO MÉTODO DPPH

O potencial antioxidante foi determinado pelo método descrito por Brand-Willians; Cuvelier e Berset (1995), com modificações propostas por Rufino et al. (2007), por meio da avaliação da capacidade dos antioxidantes presentes nos extratos em sequestrar o radical estável DPPH. Para isso, uma solução de metanol contendo 0,06 mmol/L de DPPH foi preparada e, em seguida, armazenada a 20 ºC até o momento de sua utilização. A solução de trabalho foi obtida por diluição em metanol da solução estoque de DPPH (0,06 mmol/L) até obtenção de uma solução com absorbância de aproximadamente 0,980 ± 0,02 a 515 nm. As amostras dos extratos foram testadas nas concentrações de 100, 200, 300, 400 e 500μg/mL. Para calcular a atividade antioxidante foi substituída a inibição de 50% do radical DPPH e analisado o resultado correspondente a concentração do extrato para reduzir 50% da concentração do radical inicial (EC 50). Foram utilizados como padrões a vitamina C e rutina.

3.4 AVALIAÇÃO DA TOXICIDADE PRELIMINAR

3.4.1. Toxicidade preliminar por *Artemia salina*

A avaliação da toxicidade preliminar dos extratos foi realizada pelo ensaio com *Artemia salina*, conforme metodologia proposta Meyer et al. (1982). A solução salina foi preparada dissolvendo 14,31g de sal marinho em 400 mL de água purificada

destilada, com pH ajustado para 9,0, utilizando uma solução de carbonato de sódio (99% m/m).

Os ovos de *Artemia salina* (200 mg/ 400mL) foram adicionados à solução para serem eclodidos por um período de 48 horas, sob aeração contínua e exposição à luz. A temperatura foi controlada entre 27 e 30ºC, e o pH entre 8-9. Os extratos contendo 20 mg das amostras foram diluídos em lauril sulfato de sódio (SDS) até obtenção de concentração inicial de 10mg/mL. Após, volumes de 2,5, 25 e 250µL foram transferidos para tubos de ensaio, correspondendo respectivamente a 10, 100 e 1000µg/mL e o solvente foi evaporado em estufa a temperatura de 35ºC.

Logo após a eclosão dos ovos, 10 náuplios de *Artemia salina* foram transferidos para cada tubo de ensaio contendo as amostras e para os tubos controles. Os controles negativos consistiram de tubos com o solvente solubilizador da fração, o qual foi evaporado juntamente com as amostras. Foi realizado o ajuste do volume de todos os tubos de água do mar artificial para 2,5 mL. Após 24 horas os náuplios mortos e vivos foram contados com auxílio de lupa e iluminação incandescente. As frações das espécies foram consideradas tóxicas quando a CL_{50} for menor que 1000 µg/mL.

3.4.2. Toxicidade preliminar por hemólise

A determinação da atividade hemolítica com sangue de carneiro foi realizada conforme adaptações de ASLAM et al. (2011) e RASOOL et al. (2015). Foram transferidos 3 mL de sangue de carneiro, previamente homogeneizado sob leve agitação, para um tubo de ensaio e centrifugados durante cinco minutos a 3000 rpm com PBS gelado. Foram realizadas lavagens seguidas com PBS, descartando sempre o sobrenadante. Os eritrócitos precipitados foram diluídos a 2%. Para realizar a prova de hemólise foram preparados eppendorfs com hemólise a 100% (controle positivo); hemólise basal (branco); controle solvente e os testes (amostras). Foram preparadas soluções do extrato nas concentrações de 1000 µg/mL, 750 µg/mL, 500 µg/mL, 250 µg/mL, 100 µg/mL e 75 µg/mL em 200 µL de solução de eritrócito a 2%. Todas as amostras, os controles e o branco foram realizados em triplicatas. Os eppendorfs foram incubados em estufa com temperatura controlada de (37 ± 0,5) °C por 30 minutos.

Após, foram centrifugados a 3000 rpm durante cinco minutos e posteriormente foi realizada a leitura da absorbância em microplaca de Elisa de 96 poços a 576 nm.

A porcentagem de hemólise em relação ao controle foi calculada de acordo com a seguinte equação:

% hemólise = $(Abs_A / Abs_T)*100$

Em que: Abs_A = Absorbância da amostra;
Abs_T absorbância do triton.

3.4.3. Toxicidade preliminar em sementes de *Lactuca sativa*

Para essa análise foram colocados 5 mL da solução do extrato nas concentrações de 250 µg/mL, 500 µg/mL e 1.000 µg/mL em placas de Petri, contendo duas folhas de papel filtro Whatman nº. 6. Sobre cada disco de papel filtro, foram semeadas cinquenta diásporas da alface (*Lactuca sativa*), com quatro repetições para cada solução, segundo Brasil (2009). O controle foi realizado com o mesmo procedimento, utilizando somente água destilada. Após, as placas foram levadas a uma câmara de germinação (BOD), em condições de luz constante (160W), temperatura de 25ºC e umidade relativa (± 80%).

3.5.1 Germinação

Para essa análise foram realizadas leituras diárias no período de sete dias, no mesmo horário, abrindo-se as placas em fluxo laminar. O teste foi realizado em quatro repetições. As sementes foram consideradas germinadas quando a protrusão da radícula através do tegumento tornou-se visível (LABORIAU, 1983). As médias dos índices de velocidade de germinação foram submetidas ao Teste Scott-Knott ($p<0,05$).

3.5.2 Crescimento

Os bioensaios de crescimento foram realizados de acordo com a metodologia descrita por Barnes et al. (1987) e Macias et al. (2000), onde após três dias da protrusão radicular, o alongamento da raiz (radícula) e do hipocótilo (dez plântulas por placa)

foram medidos utilizando papel milimetrado. Os resultados das leituras de crescimento foram submetidos ao Teste de Scott-Knott para comparação das médias.

3.5. ANÁLISES FISICO-QUÍMICAS

O teor de sólidos solúveis totais do fruto foi determinado por meio de leitura direta do suco da espécie (filtrado em papel filtro) em refratômetro digital, a 20 °C (IAL, 2005). O pH foi determinado de acordo com a metodologia AOAC nº 942.15 (2000), com medidor digital de pH, calibrado com tampões de pH 4 e 7 (AOAC, 2000). A acidez titulável (ATT) foi quantificada com solução de NaOH 0,1 mol/L (AOAC, 2000; método 942.15) e o resultado expresso como g de ácido cítrico/100 g de amostra. A determinação de umidade foi realizada por secagem em estufa a 105 ± 5 °C até peso constante (AOAC, 2005; método 925.09). A determinação do resíduo mineral fixo foi realizada por incineração em mufla a 550 ± 5 °C por 5 horas (AOAC, 2005; método 923.03).

Os lipídios totais foram obtidos a partir de extração etérea por fluxo intermitente, utilizando éter etílico como solvente sob refluxo, em aparelho Soxhlet (AOAC, 2005; método 920.85). A determinação das proteínas foi realizada pelo método de Kjeldahl (AOAC, 2005; método 920.87). O teor de fibra alimentar total foi determinado pelo método enzimático gravimétrico, separando-se fibra solúvel e insolúvel, de acordo com a metodologia n° 985.29 (AOAC, 2000).

O valor energético total foi calculado segundo a conversão de Atwater. Os teores de proteínas e de carboidratos foram multiplicados por 4 quilocalorias (kcal), e o teor de lipídios foi multiplicado por 9 kcal (OSBORNE; VOOGT, 1978). O valor energético total corresponde à soma de todos esses resultados.

3.6. ENSAIO EXPERIMENTAL *IN VIVO* PARA AVALIAÇÃO DO EFEITO DO EXTRATO DE MANÁ-CUBIU EM RATOS SUBMEDITOS À DIETA HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA

3.6.1 Comitê de ética no uso de animais (CEUA)

O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Experimentação Animal do Setor de Ciências Biológicas da UFPR e ao Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Positivo, ambos aprovados, sob os números 978B e 501, respectivamente (ANEXOS 3 E 4).

3.6.2 Delineamento do estudo

O ensaio experimental foi realizado em parceria com a Universidade Positivo, local de origem e alojamento dos animais durante todo o período de experimento. Os ratos da linhagem *Wistar* eram todos machos e foram fornecidos pelo biotério com aproximadamente 90 dias de vida. Após a chegada dos animais à sala de experimentação, os mesmos permaneceram em ambientação durante 72h, antes do início da oferta da dieta hipercalórica (FIGURA 4).

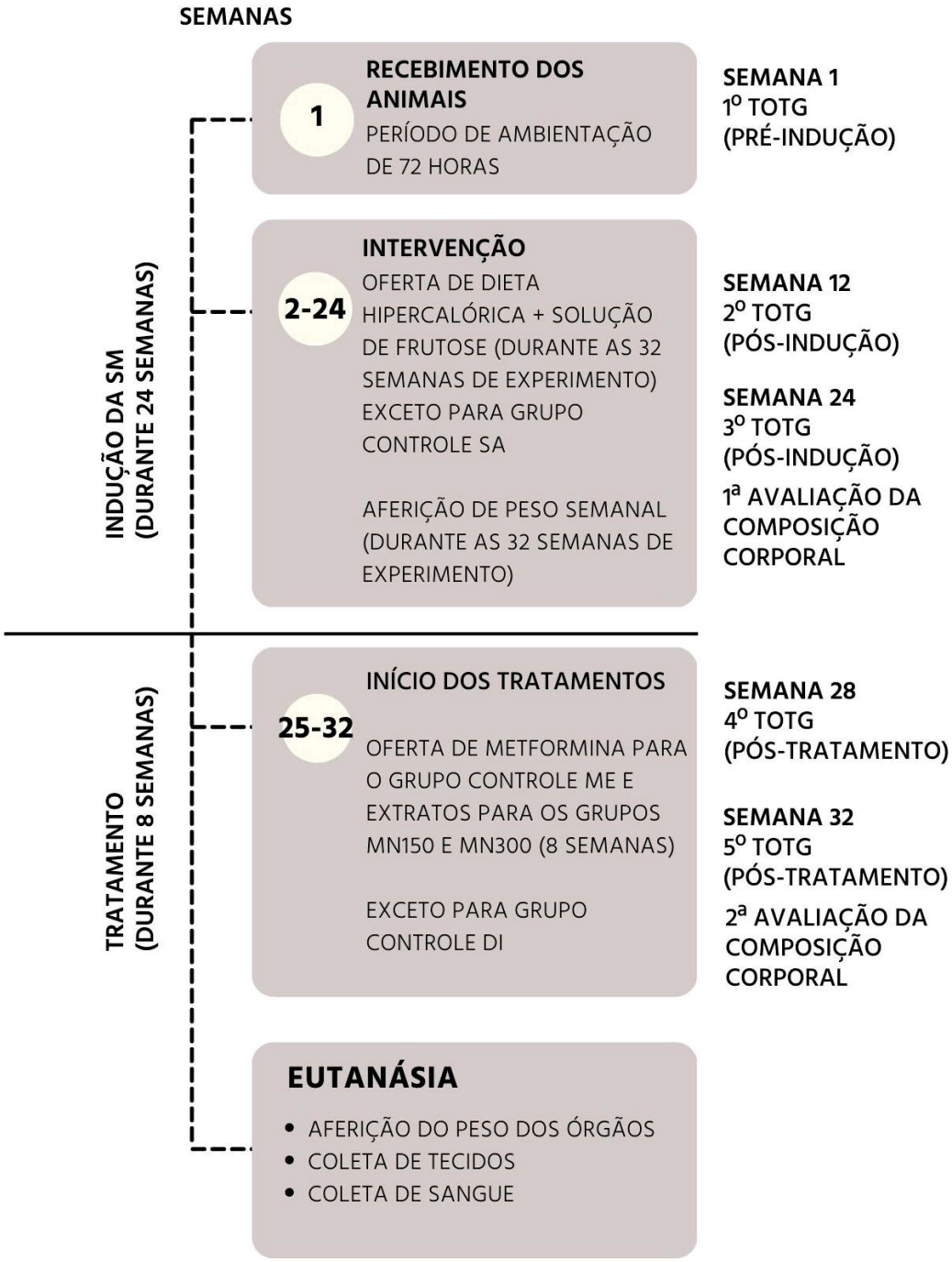
Logo após o recebimento, os animais foram divididos aleatoriamente nos seguintes grupos:

1º - Controle SA: grupo controle saudável, recebeu dieta padrão e sem tratamento;
2º - Controle DI: grupo controle que recebeu a dieta hipercalórica, sem tratamento;
3º - Controle ME: grupo com síndrome metabólica recebendo metformina (150mg/kg);
4º - MN150: grupo que recebeu a dieta hipercalórica e extrato na dose de 150 mg/kg;
5º - MN300: grupo que recebeu a dieta hipercalórica e extrato na dose de 300 mg/kg.

O tempo total de oferta da dieta, antes da intervenção de tratamento, foi de 24 semanas (seis meses) e o tempo que compreendeu o tratamento dos grupos intervenção e controles foi de oito semanas, totalizando 32 semanas (oito meses) de experimentação. Todos os grupos foram pesados semanalmente para mensurar as variações de peso. Também foram submetidos aos testes de impedância bioelétrica (BIA), sob sedação, para análise da composição corporal em dois momentos: antes do início da administração dos extratos e após as oito semanas de intervenção. Os animais também foram submetidos ao teste de tolerância oral a glicose (TOTG) para avaliação da

resposta glicêmica em cinco momentos: semanas 1, 12 , 24, 28 e 32. Os demais exames laboratoriais foram feitos apenas após a eutanásia.

FIGURA 4 – DELINEAMENTO DO ENSAIO EXPERIMENTAL IN VIVO



Fonte: A autora, 2022.

3.6.3. Dieta e condições de alojamento

Os ratos foram mantidos durante todo o experimento em condições controladas de temperatura (~22ºC), umidade (~50%) e iluminação (ciclo claro-escuro de 12h/12h), em ambiente com sistema de exaustão de ar. As gaiolas foram higienizadas a cada dois dias, sendo forradas com maravalha e abrigando apenas dois animais em cada.

O ensaio experimental *in vivo* em animais seguiu o protocolo de modelo experimental de obesidade em ratos *Wistar* estabelecido pela Universidade Positivo, com duração de 24 semanas, durante as quais os ratos receberam dieta comercial hipercalórica e hiperlipídica (FIGURA 5) (PragSoluções®, Brasil), contendo 5,9 kcal/g, destas 18,2% correspondente a proteínas; 66,8%, a gorduras; e 15% de carboidratos (TABELA 4). A água ofertada para estes grupos era acrescida de frutose em uma concentração de 20% (4 kcal /mL – Lowçucar®, Brasil), *ad libitum*. Os animais dos grupos controle saudável receberam apenas a ração comercial AIN-93 (Presence®, Brasil), composta por 3,9 kcal/g, contendo 20% de proteínas; 10% de gorduras; e 70% de carboidratos, associada à oferta de água filtrada, sem adição de frutose.

FIGURA 5 – DIETA COMERCIAL HIPERCALÓRICA E HIPERLIPÍDICA

Fonte: A Autora, 2019.

TABELA 4 - COMPOSIÇÃO DAS DIETAS SEGUNDO INFORMAÇÕES DOS FORNECEDORES

Ingredientes	**Dieta padrãoAIN-93 (®Presence)**		**Dieta obesogênica (®Pragsolution)**	
	g/Kg	%	g/Kg	%
Umidade	130.00	13.00	150.50	15.50
Proteínas				
Proteína pura	225.00	22.50	ND	
Proteína isolada de soja	ND		209.00	20.90
Lipídeos				
Óleo de soja	35.00	3.5	10.00	1.00
Banha	ND		490.00	49.00
Carboidratos				
Sacarose	100.00	10.00	100.00	10.00
Amido de milho	184.30	18.43	ND	
Maltodextrina	63.00	6.3	ND	
Fibras	110.00	11.00	ND	
Mix de minerais	100.00	10.00	10.0	1.00
Mix de vitaminas	10.00	1.00	20.0	2.00
Metionina	30.2	3.02	3.0	0.300
Lisina	12.50	1.25	3.0	0.300
Total	1.000	100	1.000	100

Legenda: ND - Não descrito pelos fornecedores.

3.6.4 Obtenção do extrato para gavagem

Os extratos etanólicos foram obtidos através da amostra liofilizada com adição do solvente extrator (etanol 80%), posteriormente filtrados, concentrados em rota-evaporador, e levado à secura em chapa elétrica de aquecimento à 50ºC e para total evaporação do solvente. Após o processo, para eliminação da água, os extratos foram liofilizados e armazenados sob refrigeração até o momento de uso. Para administração a via escolhida foi a gavagem esofágica, para possibilitar a completa ingestão da dose estabelecida. Portanto, os extratos foram pesados semanalmente de acordo com a doses

ajustadas por quilo de peso corporal nas concentrações de 150 mg/kg e 300 mg/kg de animal e então diluídos em água destilada em temperatura ambiente, para oferta aos animais.

3.6.5 Avaliação da composição corporal

Para avaliação da composição corporal foram avaliados os parâmetros de peso corporal, impedância bioelétrica (BIA), circunferências corporais e cálculo de estimativa do índice de Lee, antes do início da administração dos extratos e após as oito semanas de intervenção.

O peso corporal dos animais foi aferido em balança digital GEHAKA® – BG 8000 com auxílio de um recipiente plástico para acondicionamento dos animais enquanto era realizada a leitura do peso (FIGURA 6). Os animais foram pesados individualmente, no período da manhã e com a balança tarada, para descontar o peso do aparato.

Para realização da bioimpedância, foi seguido o protocolo descrito por Hall, Lukaski & Marchello (1989), com algumas modificações, os animais foram sedados com uso de isofluorano inalatório (2,5%) e imobilizados em decúbito ventral sobre uma estrutura rígida não condutora para melhor posicionamento dos eletrodos. Foi utilizado gel condutor Mercur® para posicionar os eletrodos nas quatro extremidades corporais dos animais (membros inferiores e superiores) ligados ao aparelho (RJL Systems BIA Analyzer, modelo Quantum X) para realização da leitura das medidas de Reactância e Resistência, utilizadas para calcular o percentual da massa livre de gordura, sólidos corporais totais e gordura corporal total (FIGURA 7).

A partir destes dados, foi possível obter o percentual de gordura corporal a partir da seguinte equação:

$$\% \text{ Gordura Corporal} = (\text{Gordura Corporal Total} \times 100) / \text{Peso}$$

FIGURA 6 – PROCEDIMENTO DE MONITORAMENTO DO PESO CORPORAL

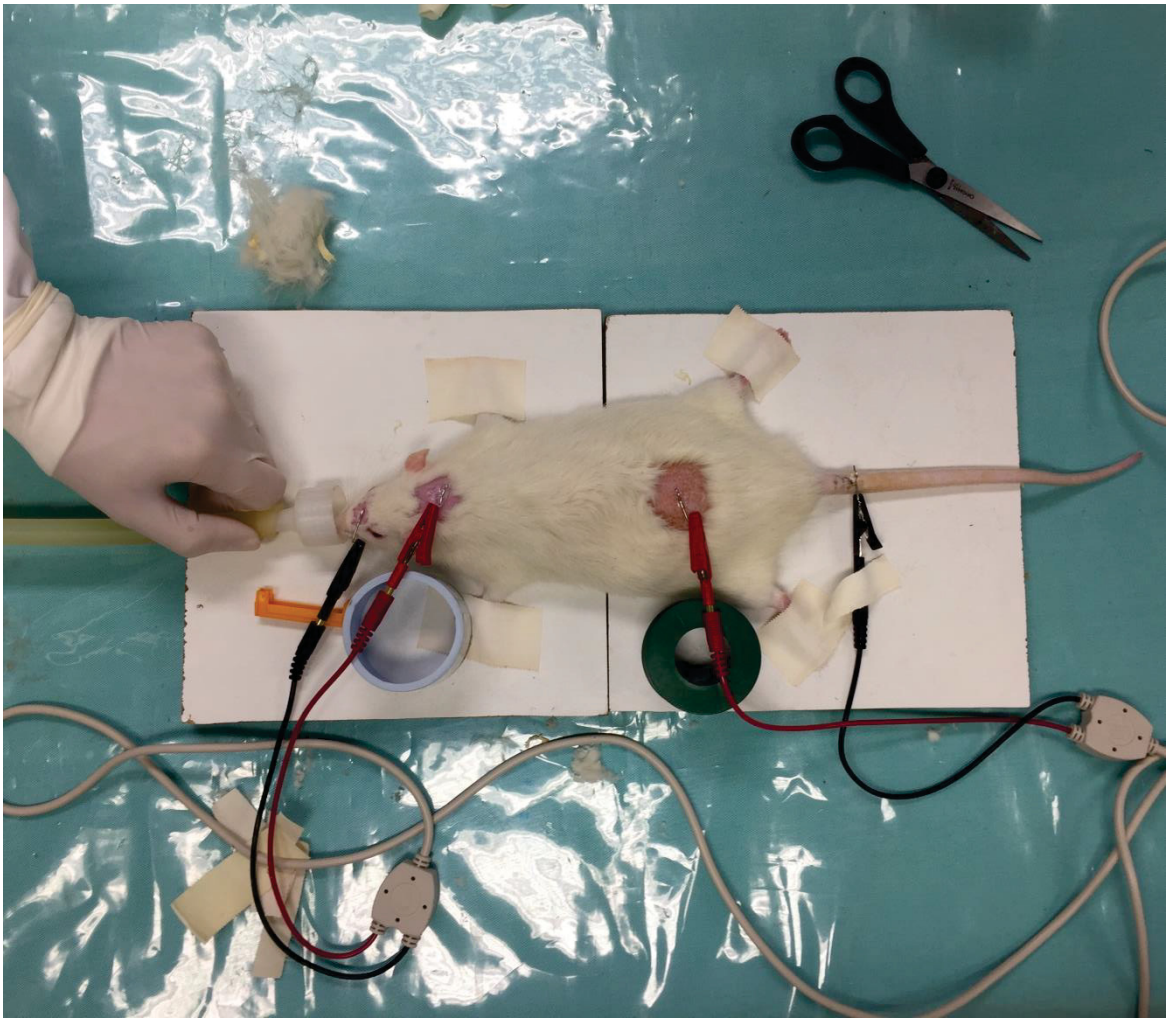
Fonte: A Autora, 2019.

No mesmo momento em que os animais foram mantidos sedados para realização da BIA, foram aferidas as medidas de circunferência torácica e abdominal e do comprimento naso-anal, com o uso de uma fita métrica inelástica. A medida da circunferência torácica foi realizada na região das costelas do animal, e a circunferência abdominal em seu maior diâmetro. Ambas as avaliações foram realizadas em dois momentos, após o período de sem intervenção (apenas recebendo a dieta) e após o período de tratamento.

O índice de Lee foi obtido através da divisão da raiz cúbica do peso corporal em gramas pelo comprimento naso-anal em milímetros e multiplicado por 1000. Este

parâmetro é considerado para avaliação de obesidade e correlação com a massa adiposa corporal.

FIGURA 7 - TESTE DE BIOMPEDÂNCIA (BIA)



Fonte: A autora, 2019.

3.6.6 Teste Oral de Tolerância à Glicose (TOTG)

Para mensuração da glicemia (TOTG) a coleta de sangue foi realizada pela veia da cauda, através de uma pequena perfuração feita com uso de agulha, após a assepsia com álcool 70%. A gota de sangue obtida foi transferida para a fita glicêmica acoplada ao glicosímetro portátil Accu-chek Active - Roche®. Para aferição os animais foram mantidos em jejum de oito horas e a coleta foi realizada no momento zero, ao início do procedimento e após 120 minutos da administração de glicose por via oral, através de gavagem (FIGURA 8).

O procedimento foi realizado em diferentes momentos durante o experimento: antes da administração da dieta; 12 semanas após o início da dieta; 24 semanas após o início da dieta (antes do início do tratamento); quatro semanas pós-tratamento e oito semanas pós-tratamento.

FIGURA 8 – AFERIÇÃO DA GLICEMIA PARA O TESTE ORAL DE TOLERÂNCIA À GLICOSE (TOTG)

Fonte: A Autora, 2019.

3.6.7 Eutanásia e análises bioquímicas

Após o final do período da administração dos extratos (tratamento), os animais foram mantidos em jejum por 8 horas e foram eutanasiados utilizando uma overdose de isoflurano inalatório, seguido de exsanguinação por punção cardíaca.

O sangue foi coletado, por meio de punção cardíaca e centrifugado durante cinco minutos, a 3.000 rpm, para a separação do soro. O soro foi conservado em gelo, para realização das análises bioquímicas que incluíram: perfil lipídico (colesterol total,

LDL, HDL e triglicerídeos), glicemia de jejum, enzimas hepáticas (AST e ALT), uréia e creatinina. Os kits comerciais Anality Ci-Series (Abbott Park, Illinois, EUA) correspondentes foram utilizados para realização das análises.

Os órgãos dos animais (fígado, rim, pâncreas, coração, estômago e intestino) também foram retirados no momento da eutanásia, lavados em solução salina (0,9%) e pesados um a um (balança analítica Bel M214-AIH, Brasil).

3.6.8 Descarte das carcaças

Após eutanásia e coleta de órgãos e sangue, as carcaças foram descartadas como material de risco biológico em dias e horários disponibilizados pela direção do biotério da Universidade Positivo.

3.7. ANÁLISES ESTATÍSTICAS

As análises de composição físico química e capacidade antioxidante foram expressos em media e desvio padrão, analisados pelo software GraphPad Prism 6 (Graphpad Software*, Inc, San Diego, CA). As diferenças entre as médias seguiram a análise de variância ANOVA seguida pelo teste Tukey ($p<0,01$).

Para o teste de toxicidade preliminar por *Artemia salina* utilizou-se o teste de Probits com regressão linear pelo software SPS5 Statistics", num intervalo de confiança de 95% E para os resultados de atividade alelopática foram analisados pelo teste de Scott-Knott, pelo programa Sisvar 5.7.

Os dados do ensaio experimental foram analisados pelo Software GraphPad Prism 6 (Graphpad Software*, Inc, San Diego, CA) utilizando o teste estatístico ANOVA, seguido por Bonferoni, com nivel de significância de 5%.

4. RESULTADOS

4.1 Amostragem

O dimensionamento da amostra coletada foi realizado a partir de 25 unidades dos frutos, escolhidas aleatoriamente no momento da higienização. A média de peso das 25 unidades foi de 79,3 g ± 23,14 (TABELA 5). O diâmetro máximo, que corresponde a maior medida entre as extremidades do fruto, no sentido horizontal, teve uma média de 5,42cm, enquanto o diâmetro mínimo, menor medida entre as mesmas extremidades, foi de 4,12 cm, apresentando, portanto, a média de 4,77 cm entre esses valores. A altura, distância entre as extremidades do fruto no sentido vertical, foi de 5,43 cm.

Em análise similar, Sereno e colaboradores (2018) avaliaram o dimensionamento do fruto obtiveram como diâmetro mínimo 4,95 cm e máximo de 6,04 cm, valores muito próximos aos encontrados nesse estudo.

TABELA 5 - DIMENSIONAMENTO DA AMOSTRA

Dimensionamento	**Média e DP***
Peso (g)	79,30 ± 23,14
Diâmetro máx (cm)	5,42 ± 0,63
Diâmetro min (cm)	4,12 ± 0,51
Média diâmetro (cm)	4,77 ± 0,54
Altura (cm)	5,43 ± 0,56

Legenda: *Valores obtidos a partir de 25 amostras e representados como média ± desvio padrão.

As mesmas 25 unidades de frutos, utilizadas para caracterização da amostra foram analisadas segundo a intensidade de ocorrência de defeitos. Os defeitos apresentados pela amostra foram: manchas, amassados e sinais de apodrecimento. Os frutos amassados podem ter sofrido choque mecânico durante o transporte ou acondicionamento nas caixas, já as manchas e sinais de apodrecimento, são defeitos

naturalmente esperados em frutos pelo processo de deterioração. Não foram encontradas deformações em nenhuma das 25 unidades dos frutos (TABELA 6).

TABELA 6 - INTENSIDADE DE OCORRÊNCIA DE DEFEITOS

Ocorrência de defeitos	Número de frutos	Percentagem*
Manchas	2	8%
Deformações	0	0%
Amassados	3	12%
Apodrecimento	2	8%
Total	7	28%

LEGENDA: *Valores obtidos a partir de 25 amostras e representados em número total e porcentagem.

4.2 Determinação do potencial antioxidante pelo método DPPH•

Para a avaliação dos resultados da análise da atividade antioxidante pelo método de redução do radical DPPH, após o cálculo da porcentagem de inibição do DPPH e da concentração efetiva para redução de 50% do radical DPPH (CE50), por meio de regressão linear. Realizou-se a comparação das amostras com os padrões utilizados: vitamina C e rutina e segundo os resultados obtidos (TABELA 7), o extrato analisado reduziu 32,42 μg/mL (± 12,89) do radical. Os GRÁFICOS 1 e 2 apresentam os pontos das concentrações realizadas para cada amostra e controles, com sua respectiva porcentagem de atividade antioxidante do radical DPPH.

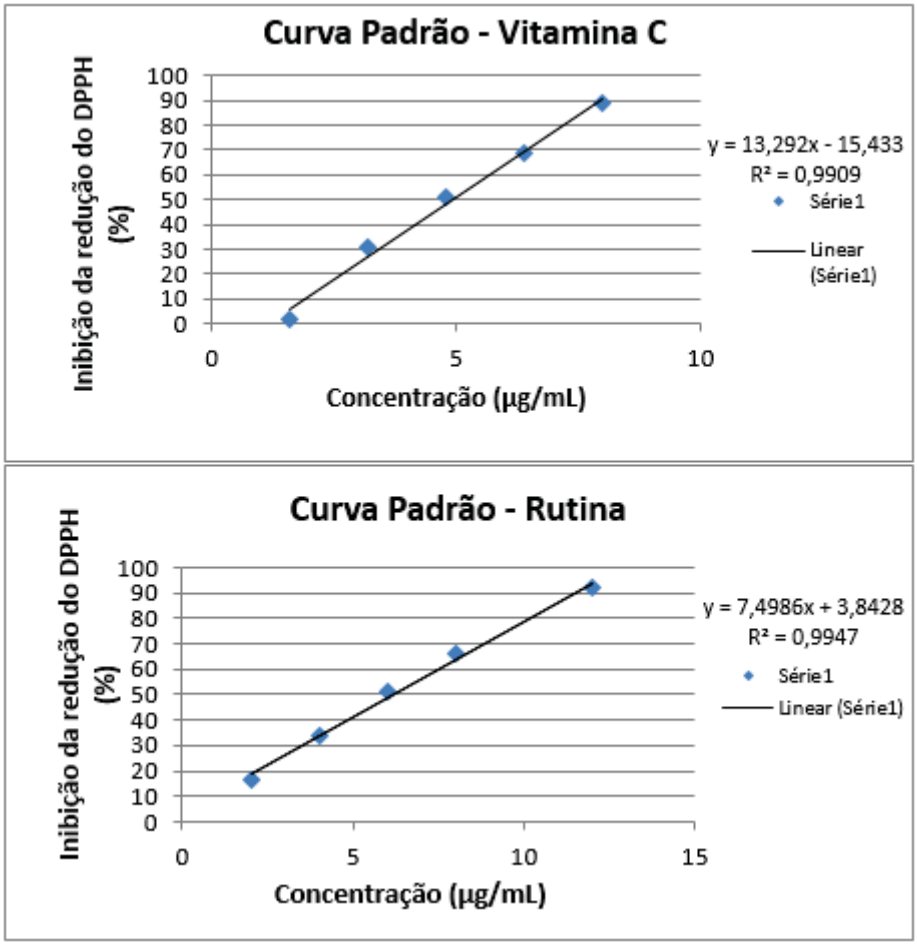
Em estudo sobre a capacidade antioxidante do maná-cubiu, o fruto demonstrou ser necessária uma pequena concentração (19,84 g/L), para redução de 50% do radical DPPH. Comparativamente, a casca foi a fração com maior teor de fenólicos totais, assim como foi a parte do fruto com maior capacidade antioxidante detectada pelo método de captura radical livre de 2,2'-azinobis (3-etilbenzothiazolina-6-sulfônica) (ABTS). Portanto, os autores concluíram que os resultados sugerem um potencial preventivo do fruto sobre danos oxidativos, justificando parcialmente seu uso tradicional no controle glicêmico (SERENO et al, 2020).

TABELA 7 - CAPACIDADE ANTIOXIDANTE DOS EXTRATOS DE MANÁ-CUBIU PELA REDUÇÃO DO RADICAL DPPH EXPRESSOS PELA CONCENTRAÇÃO EFETIVA EM 50% (CE50)

Amostra	CE_{50} (µg/mL) ± DP
Vitamina c	4,92 ± 0,06 [a]
Rutina	7,18 ± 0,07 [a]
Maná-cubiu	32,42 ± 12,89 [b]

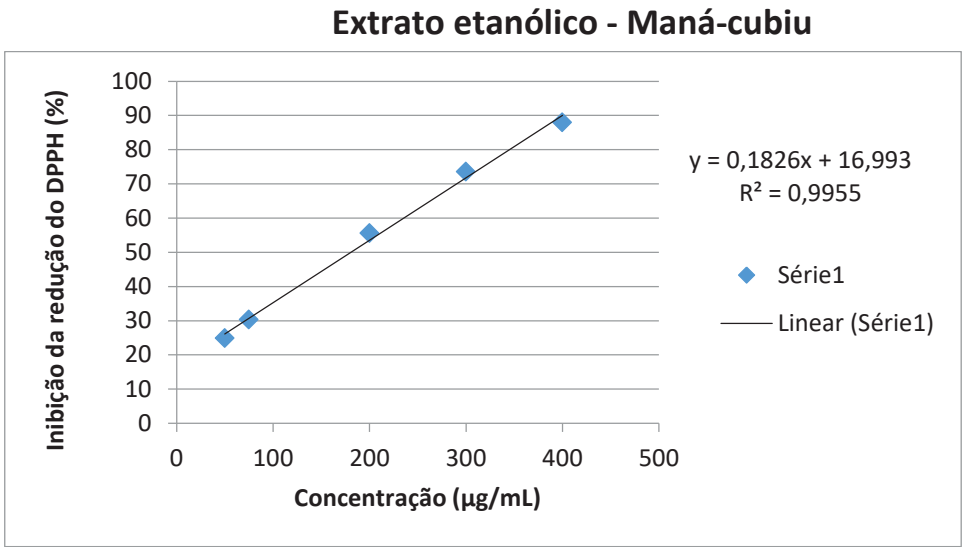
LEGENDA: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA, seguido de Tukey ($p<0,05$).

GRÁFICO 1 – CURVAS DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELA INIBIÇÃO DO RADICAL DPPH DOS PADRÕES VITAMINA C E RUTINA



FONTE: A autora, 2019.

GRÁFICO 2 – CURVAS DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE PELA INIBIÇÃO DO RADICAL DPPH DO EXTRATO ETANÓLICO DE MANÁ-CUBIU



FONTE: A autora, 2019.

Diferentes estudos associaram compostos antioxidantes a benefícios para a saúde. Ácidos fenólicos simples, ácidos hidroxicinâmicos, flavonóides, flavan-3-óis, isoflavonóides, antocianidinas, cumarinas, lignanas e taninos são exemplos de classes de compostos com potencial contra o diabetes (FARIA, et al. 2021). Entre os principais compostos bioativos presentes no maná-cubiu citados pela literatura estão os carotenóides (β-caroteno e licopeno); vitamina C; clorofilas; flavonóides; e pectina (NASCIMENTO, et al., 2022). O maná-cubiu apresenta maior teor de carotenóides na casca do fruto (13,74 µg/g), quando comprado à sua polpa (7,44 µg/g) e é relatado um aumento dos teores de β-caroteno e licopeno conforme o avanço do estádio de maturação do fruto (SERENO et al., 2018).

O ácido cítrico foi encontrado como o composto antioxidante com maior concentração no maná-cubiu, assim como o ácido clorogênico, um éster de ácidos cafeico e quínico. É importante mencionar que dos ácidos fenólicos detectados na maioria das frutas, os ácidos ferúlico e cafeico, permanecem circulantes no plasma humano em suas formas conjugadas após metabolizados, mantendo atividade antioxidante também *in vivo* (FARIA, et al. 2021).

O *Lycium* é um dos gêneros pertencentes à família *Solanaceae* e compreende aproximadamente 80 espécies. Qian e colaboradores (2017) em um trabalho de revisão fizeram o levantamento de 355 constituintes químicos e nutrientes presentes neste

gênero, entre eles: 22 glicerogalactolipídeos, 29 fenilpropanoides, 10 cumarinas, 13 lignanas, 32 flavonoides, 37 amidas, 72 alcaloides, quatro antraquinonas, 32 ácidos orgânicos, 39 terpenoides , 57 esterois, esteroides e seus derivados, cinco peptídeos e três outros constituintes, além dos polissacarídeos. Entre as ações farmacológicas relatadas na literatura, destacam-se a ação antiglaucomáticas, imunorreguladoras, antitumorais, antioxidantes, antienvelhecimento, neuroprotetoras e redutoras do nível de açúcar no sangue (QIAN, et al., 2017).

4.3. Toxicidade preliminar

A toxicidade preliminar utilizando o microcrustáceos *Artemia salina* permite determinar a concentração média letal (CL50) a partir de diferentes concentrações (10, 100, 500 e 1000 µg/mL), como uma etapa prévia a realização do experimento com animais. Para que uma amostra seja considerada tóxica segundo a metodologia, é necessário que os resultados de letalidade sejam em concentrações inferiores a 1000µg/mL de extrato. Portanto, conforme os dados apresentados na tabela 4, o extrato testado como amostra não possui toxicidade, apresentando a CL50 superior a 1000µg/mL (TABELA 8).

TABELA 8 – ENSAIO DE MORTALIDADE DE *Artemia salina* e CL_{50}

AMOSTRA	MORTALIDADE CONCENTRAÇÃO (µg/mL)				CL_{50} (µg/mL)	INTERVALO DE CONFIANÇA DE 95% (µg/mL)
	10	100	500	1000		
Extrato etanólico de maná-cubiu	1	0	2	3	>1000	-
Metanol	0	0	0	0	>1000	-

LEGENDA: Resultados expressos em número de obtidos de *Artemias* por concentração de extratos (µg/mL).

Segundo o ensaio da análise da atividade hemolítica (TABELA 9), o extrato etanólico de maná-cubiu também obteve ausência de toxicidade, uma vez que os valores obtidos (4,10 a 6,64%) foram inferiores aos do controle (6,47 a 7,57%), sem que houvesse diferença estatística entre os mesmos. A variação de concentrações não

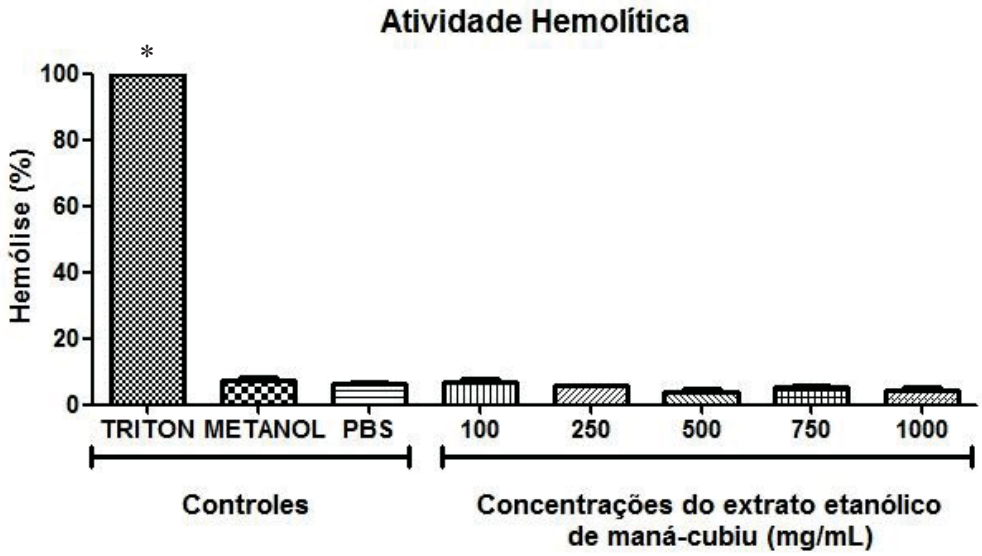
apresentou atividade crescente em relação à concentração do extrato testada, permitindo considerar-se que o fruto não apresenta toxicidade significativa (GRAFICO 4).

TABELA 9 – ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO MANÁ-CUBIU

Amostra	Atividade Hemolítica (%)
Controle Triton	100 ± 2,00 [a]
Controle Metanol	7,57 ± 7,57[b]
Controle PBS	6,47 ± 6,47[b]
100 mg/mL	6,64 ± 2,09[b]
250 mg/mL	5,72 ± 0,24 [b]
500 mg/mL	3,95 ± 1,76 [b]
750 mg/mL	5,37 ± 0,49 [b]
1000 mg/mL	4,10 ± 2,00 [b]

LEGENDA: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA, seguido de Tukey ($p<0,05$).

GRÁFICO 3 – ATIVIDADE HEMOLÍTICA DO MANÁ-CUBIU



Em outros estudos, com diferentes métodos de avaliação, pesquisadores apresentaram dados que contribuem para os achados nas análises apresentadas por ambos os métodos citados. Hernandes e colaboradores (2014) estudaram a citotoxicidade do maná-cubiu em células de medula óssea, demonstrando resultados seguros em ratos da linhagem *Wistar*, ou seja, com ausência de efeitos genotóxicos. Os

achados a respeito desta investigação sugerem o consumo seguro do maná-cubiu para animais e humanos.

Outro estudo avaliou o potencial citotóxico de nove extratos de frutas de Manaus (Amazonas/Brasil), entre eles o maná-cubiu. A análise foi realizada pelo ensaio de viabilidade celular com fibroblastos humanos. Os extratos foram testados nas concentrações de 100 e 200 μg/mL em DMSO e se mostraram não citotóxicos pela viabilidade das células MRC 5. Este fenômeno é frequentemente observado em altas concentrações de compostos antioxidantes, como relatado anteriormente para ácido ascórbico, tocoferóis, carotenóides e alguns flavonoides, como é o caso do maná-cubiu (FARIA, et al., 2021).

Para análise do ensaio de atividade alelopática, o comprimento do hipocótilo das sementes de alface (*Lactuca sativa*) mantidas em contato com o extrato do fruto testado foi superior (8,3 a 8,8mm), quando comparado aos controles (4,1 a 5,7mm). Da mesma forma, todas as concentrações do extrato auxiliaram ainda na velocidade de germinação das sementes, apresentando um IVG até 6,39% superior aos controles, demonstrando assim a possível ausência de fitotoxicidade sobre a espécie analisada (TABELA 10).

TABELA 10– ATIVIDADE ALELOPÁTICA DO MANÁ-CUBIU

Amostra	Velocidade de germinação – IVG (%)	Crescimento hipocótilo (mm)	Crescimento Radícula (mm)
Água	12,58 ± 0,53[a]	5,78 ± 0,57[a]	14,65 ± 1,25 [a]
Metanol	14,44 ± 0,53 [a]	4,66 ± 0,57[a]	18,51 ± 1,25 [a]
Maná-cubiu 100 mg/mL	19,66 ± 0,53 [b]	8,33 ± 0,57[b]	16,26 ± 1,25 [a]
Maná-cubiu 250 mg/mL	19,66 ± 0,53 [b]	8,73 ± 0,57 [b]	15,40 ± 1,25 [a]
Maná-cubiu 500 mg/mL	19,66 ± 0,53 [b]	9,68 ± 0,57 [b]	13,63 ± 1,25 [a]
Maná-cubiu 750 mg/mL	20,0 ± 0,53 [b]	8,78 ± 0,57 [b]	17,21 ± 1,25 [a]
Maná-cubiu 1000 mg/mL	20,33 ± 0,53 [b]	4,11 ± 0,57[a]	17,21 ± 1,25 [a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA, seguido de Tukey ($p<0,05$).

Segundo Rezende et al. (2003), os metabólitos secundários liberados por determinada planta, quando geram efeitos inibitórios ao desenvolvimento de outra espécie vegetal, ou seja, tem efeito prejudicial sobre ela, podem ser classificados como fitotoxinas. A alelopatia é definida como um mecanismo de influência, positiva ou

negativa, entre plantas que crescem em uma mesma região, devido a produção de compostos químicos com ação direta ou indireta, que podem estimular o crescimento de outras espécies vegetais próximas, ou inibi-lo (RICE, 1984; CHOU, 1999).

Em estudo com 55 plantas chinesas foram avaliadas a capacidade antioxidante e efeitos alelopáticos das espécies para avaliação da relação entre os dados. A capacidade antioxidante foi definida pelos métodos ORAC e DPPH, além da quantificação de fenólicos totais. A alelopatia foi descrita como os efeitos inibitórios ou estimuladores de amostras de plantas secas em estufa no crescimento da alface e como resultados, os pesquisadores concluíram que a atividade alelopática teve uma correlação positiva com a capacidade antioxidante, sugerindo que a capacidade antioxidante das plantas pode ser usada como um indicador para selecionar plantas para triagem de potenciais espécies alelopáticas (ANIYA, et al., 2022).

4.4 Análises físico-químicas

Os resultados obtidos nas análises físico-químicas corroboram com as características sensoriais apresentadas pelo maná-cubiu, com sabor ácido e adstringente, como verificado no valor apresentado para pH, correspondente a 3,86. Assim como o teor determinado para açucares totais, relativamente baixo, com média de 1,28g/100g, conforme TABELA 11.

Uma avaliação do pH, considerando as diferentes frações do fruto, foram obtidos valores de 3,33 e 5,23, para polpa e casca, respectivamente, ressaltando a informação característica sensorial do fruto (SERENO et al., 2018). Esta característica também é observada em outros frutos da família *Solanaceae*, ainda com maior intensidade, como é o caso do pimentão doce (*Capsicum annuum* L.), e do comarim (*Capsicum frutescens* L.) que apresentam frutas com grande quantidade de polpa e sabor bastante picante. O maná-cubiu, por apresentar menor picância, é usado comumente na elaboração de compotas doces e geleias (TEIXEIRA, et al., 2019).

TABELA 11 - CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DO MANÁ-CUBIU

Análise	Resultado
Acidez	1,43 ± 0,20
pH	3,86
Proteínas (g/100g)	0,57 ± 0,15
Lipídeos (g/100g)	1,17 ± 0,33
Umidade (%)	7,4 ± 0,24
Cinzas (%)	0,08 ± 0,02
Açucares Totais (g/100g)	1,03 ± 0,005

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão.

A avaliação da quantidade proteica do fruto difere em suas frações, a casca do maná-cubiu apresentou 1,28g de proteínas/100g, enquanto sua polpa contém 0,83g/100g (SERENO, et al, 2018). Quando comparado o teor proteico do fruto inteiro (0,57g/100g) encontrado no maná-cubiu com outros frutos representantes da família *Solanaceae,* o tomate (1,1g/100g) e a berinjela (1,2g/100g) apresentam teor relativamente maior do que o analisado (TACO, 2017).

4.5 Ensaio experimental *in vivo*

Os resultados obtidos para os experimentos foram seccionados em diferentes etapas para melhor correlação dos dados. Para avaliação do impacto da dieta ofertada e dos tratamentos sobre o perfil glicêmico, foram analisados os resultados obtidos para o teste oral de tolerância à glicose (TOTG); glicemia de jejum; hemoglobina glicada; e glicose média estimada.

Para avaliação da composição corporal e o impacto da intervenção realizada (extratos e metformina) foram consideradas as circunferências abdominal e torácica; teste de bioimpedância; índice de Lee; e o semanal monitoramento do peso corporal dos animais.

Os demais parâmetros bioquímicos foram seccionados em perfil lipídico, considerando os níveis séricos de colesterol total; triglicerídeos; HDL colesterol; VLDL colesterol; e LDL colesterol. E parâmetros de funções renal e hepática, compreendido pela determinação das enzimas AST e ALT; ureia; creatinina; e o cálculo da relação ureia/creatinina (relação U/C).

4.5.1. Parâmetros relacionados ao perfil glicêmico

O efeito do uso do extrato de maná-cubiu sobre os parâmetros bioquímicos dos animais portadores de síndrome metabólica foi avaliado segundo o controle glicêmico. O efeito hipoglicêmico do extrato, segundo o teste oral de tolerância à glicose (TOTG) na última semana de avaliação, demonstrou que os valores de glicemia dos animais que receberam o extrato na dose de 150mg/kg apresentaram valores (76mg/dL e 110mg/dL) mais próximos aos animais pertencentes ao grupo controle saudável (72mg/dL e 102mg/dL). Esse padrão de variação foi observado tanto no momento zero, quanto após 120 minutos da última aferição glicêmica e, novamente, após as oito semanas de administração do extrato (TABELA 12).

TABELA 12- TESTE ORAL DE TOLERÊNCIA A GLICOSE (TOTG)

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
Jejum*	74±11,4 [a]	77±8,5 [a]	81±10,1 [a]	82±6 [a]	84±6 [a]
120 min*	93±21,2 [a]	85±5,7 [a]	98±14,3 [a]	83±4 [a]	86±7 [a]
Jejum**	77±14 [a]	94±8 [a]	71±9 [a]	90±7 [a]	88±17 [a]
120 min**	122±20 [a]	127±7 [a]	107±15 [a]	117±11 [a]	117±13 [a]
Jejum***	95±9 [a]	91±8 [a]	81±8 [a]	90±11 [a]	92±11 [a]
120 min***	124±33 [a]	114±7 [a]	83±7 [a]	115±26 [a]	137±10 [a]
Jejum^{+}	96±7 [a]	90±11 [a]	86±7 [a]	83±5 [a]	95±10 [a]
120 min^{+}	150±41 [a]	121±11 [a]	100±12 [a]	117±14 [a]	127±12 [a]
Jejum^{++}	83±10 [a]	81±8 [a]	72±11 [a]	76±5 [a]	83±8 [a]
120 min^{++}	113±11[b]	114±13[b]	102±13 [b]	110±17[b]	120±12[b]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA seguido de Bonferroni ($p<0,05$). *Antes da dieta; **12 semanas pós-dieta; ***Pré-tratamento; +Pós-tratamento de 4 semanas com extratos; ++Pós-tratamento de 8 semanas com extratos. Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

Apesar dos grandes benefícios na utilização dos modelos experimentais induzidos por dieta, estudos com ratos DIO costumam ser mais extensos e demorados, podendo promover diferentes fatores adicionais que podem limitar a interpretação dos

resultados obtidos. Como ainda não há uma padronização nos modelos DIO, grande parte dos experimentos faz uso de dietas que contém elevados teores de lipídeos, sendo a maioria composta de 45 e 60% das calorias do valor energético total ingerido (DOULBERIS et al., 2020). Sendo a linhagem *Wistar* a mais utilizada para estudos de obesidade induzida por dieta, e comumente apresenta resultados positivos relacionados ao aumento de peso corporal, porém, para as alterações na insulinemia e intolerância à glicose ainda são pouco relatados um padrão de apresentação (FUCHS, et al., 2018).

Observando individualmente o efeito da dieta hiperlipídica sobre o ganho de peso e alterações metabólicas em camundongos, o estudo realizado por Pereira e colaboradores (2018), também não observou diferenças estatisticamente comprovadas nos resultados obtidos para o TOTG. Segundo os autores, apesar da ausência da diferença significante, o estudo verificou uma tendência ao desenvolvimento de DM nos camundongos e ressalta a importância deste parâmetro na avaliação bioquímica do experimento. Visto que para o diagnóstico do DM, além dos sintomas clínicos de poliúria, polidipsia e perda ponderal, o teste de glicemia de jejum e o TOTG são alguns dos parâmetros de diagnóstico.

O efeito do extrato aquoso das folhas de *Witheringia solanacea*, também da família *Solanaceae* foi testado em ratos saudáveis nas doses de 250, 500 e 1000 mg/kg, indicando a redução significativa dos níveis de glicose no sangue após 1 hora de TOTG, nas duas maiores doses testadas. A dose de 500mg/kg reduziu ainda os níveis de glicose no sangue em ratos hiperglicêmicos, induzidos por aloxano em quatro e cinco horas de tratamento, indicando um possível efeito agudo do extrato sobre os parâmetros avaliados (SAHELI, et al. 2019).

Com objetivo de identificar o potencial terapêutico de frutas tropicais consumidas em Manaus, no Brasil, foi realizada uma avaliação comparativa da composição química e atividades biológicas dos frutos por Faria e seus colaboradores (2021). Os nove frutos avaliados, incluindo o maná-cubiu, foram submetidos à análise de inibição da α -glicosidase, o maná-cubiu, o murici e o jenipapo foram ativos, apresentando valores de IC 50 (14,5 – 38,8 μg/mL) melhores que o controle positivo (acarbose, 62,3 μg/mL). A atividade antiglicação relaciona-se com a atenuação de problemas de saúde como DM, pela aplicação de antagonistas de produto final de

glicação avançada (AGE), demonstrando efeito benéfico no modelo experimental induzido por frutose.

A fim de investigar as consequências obesogênicas e inflamatórias da dieta de cafeteria em comparação com uma rica em gorduras (contendo 45% de banha) em modelos de roedores, Sampay e colaboradores (2011) utilizaram ratos *Wistar* machos para monitoramento do peso corporal, que aumentou dramaticamente e permaneceu significativamente elevado em ratos alimentados com a dieta de cafeteria. Assim como nos testes de tolerância à glicose e à insulina, que demonstraram hiperinsulinemia, hiperglicemia e intolerância à glicose exageradas nos ratos alimentados com esta dieta. Segundo os autores, essa diferença entre os resultados obtidos é justificada pelo fato de os macrófagos se infiltram nos tecidos metabólicos no início do ganho de peso e contribuem diretamente para a inflamação, resistência à insulina e obesidade.

Para os resultados obtidos no presente estudo, os parâmetros bioquímicos relacionados ao perfil glicêmico (TABELA 13) também não tiveram um padrão de apresentação, assim como relatado na literatura.

TABELA 13 – PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE PERFIL GLICÊMICO APÓS AS OITO SEMANAS DE INTERVENÇÃO

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
Hemoglobina Glicada (%)	4,25±0,26 [a]	4,07±0,10 [a]	4,30±0,25 [a]	4,05±0,08 [a]	4,19±0,30 [a]
Glicose média estimada (mg/dL)	75,28±7,43 [a]	70,15±2,73[a]	76,71±7,22 [a]	69,54±2,17 [a]	73,48±8,74 [a]
Glicemia de jejum (mg/dL)	84,57±15,99 [a]	71,0±9,04 [a]	87,0±9,07 [a]	76,5±8,30 [a]	82,0±9,64 [a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

4.5.2. Avaliação do peso e composição corporal

Os dados obtidos na análise de medidas corporais demonstraram menores valores para circunferência abdominal nos ratos do grupo controle saudável (SA) (20,29cm ±2,36) em relação aos grupos tratados com metformina e com o extrato do fruto em sua maior dose (MN300) no segundo momento de avaliação (TABELA 14). Para os dados obtidos na aferição da circunferência torácica dos animais, observou-se uma redução nestas medidas entre os dois momentos de avaliação em todos os grupos, com exceção ao grupo controle SA (16,43cm e 17,36cm, nos dois momentos avaliados, respectivamente) (TABELA 15).

Os resultados referentes ao teste de bioimpedância (BIA) revelaram que os grupos de animais diabéticos tratados com o extrato do fruto na concentração de 300mg/kg (MN 300) e o grupo tratado com metformina (controle ME) foram os únicos que obtiveram redução no percentual de gordura corporal, comparando os dois momentos de avaliação. Mesmo o grupo tratado com a menor dose do extrato (MN 150) teve uma pequena alteração deste parâmetro, enquanto que os grupos que não receberam nenhum tipo de tratamento (controles DI e SA) aumentaram significativamente seus percentuais de massa adiposa (TABELA 16).

Segundo os dados obtidos pela análise do índice de Lee houve uma discreta elevação dos resultados entre os dois momentos de avaliação para todos os grupos do experimento (TABELA 17).

TABELA 14- CIRCUNFERÊNCIA ABDOMINAL

Circunferência abdominal	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
Pré-tratamento	23,75±2,62[a]	24,56±2,88[a]	21,8±1,64[a]	22,56±3,02[a]	24,4±2,37[a]
Pós-tratamento	26,5±3,46[a]	23,13±3,4[a]	20,29±2,36[b]	23,06±2,73[a]	25,06±2,74[a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA de duas vias, seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

TABELA 15- CIRCUNFERÊNCIA TORÁCICA

Circunferência torácica	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
Pré-tratamento	18,8±1,42[a]	24,5±1,04[a]	16,43±0,93[a]	17,29±1,29[a]	18,06±1,35[a]
Pós-tratamento	17,5±1,83[a]	17,25±1,04[a]	17,36±1,55[a]	16,88±0,74[a]	17,4±1,47[a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA de duas vias, seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

TABELA 16- BIOIMPEDÂNICA (BIA)

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
% Gordura pré-tratamento	60,97±8,02[b]	40,44±11,6[a]	27,35±9,13[ab]	45,45±5,04[ab]	49,59±8,54[b]
% Gordura pós-tratamento	42,40±18,07[b]	59,54±8,57[a]	48,39±8,03[ab]	46,15±11,03[ab]	47,54±10,91[ab]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA de duas vias, seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

TABELA 17- ÍNDICE DE LEE

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
Índice de Lee pré-tratamento	222,13±22,20[a]	224,22±21,53[a]	199,09±16,34[a]	208,08±23,29[a]	218,31±17,85[a]
Índice de Lee pós-tratamento	230,04±19,18[a]	231,22±23,69[a]	212,65±17,23[a]	212,30±20,57[a]	227,21±13,75[a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA de duas vias, seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

A bioimpedância foi um dos parâmetros avaliados por Angéloco e colaboradores (2012) em ratos tratados com dietas ricas em lipídeos e sacarose com intuito de correlacionar a análise direta da carcaça, os parâmetros bioquímicos e antropométricos observados. No estudo foram utilizados 24 ratos machos *Wistar*, alimentados com dieta padrão, rica em lipídeos ou rica em sacarose por um período de quatro semanas. O grupo controle recebeu dieta padrão AIN-93; o grupo com dieta rica em gorduras recebeu dieta contendo 50% de lipídeos, sendo 70% proveniente de gorduras saturadas; e o grupo com dieta rica em sacarose foi alimentado com maior proporção de carboidratos simples, contendo 3,50% de amido de milho e 59,85% de sacarose. A maior ingestão de lipídeos levou a um aumento do percentual de gordura hepática e de colesterol e reduziu a quantidade de água corporal total no grupo com dieta rica em gorduras, mas sem que houvessem alterações nas avaliações antropométricas ou alterações nos parâmetros da bioimpedância. No grupo alimentado com dieta rica em sacarose, também não foram observadas mudanças na antropometria e bioimpedância. Porém, observou-se uma associação positiva entre a gordura da carcaça e os índices de massa corporal, de Lee e circunferência abdominal. Diferentemente do observado neste estudo.

Como forma de determinar a composição corporal e o teor de água corporal, a análise de bioimpedância é amplamente utilizada em seres humanos, por ser um método rápido, não invasivo e reprodutível. Porém, poucos estudos utilizaram essa técnica em animais de laboratório. Resultados apresentados previamente em outros estudos demonstraram que os dados de resistência não se correlacionam com a gordura da carcaça determinada quimicamente, sugerindo que a BIA não é suficientemente sensível para medir a composição corporal de ratos ou detectar as diferenças em grupos recebendo diferentes dietas. Além disso, a reatância se correlacionou negativamente com a gordura da carcaça e encontrou ampla variação intragrupo, mostrando a heterogeneidade desses animais e suas diferentes respostas à mesma dieta (ANGÉLOCO, et al. 2012). Devido à ausência de um marcador específico e de consenso, tanto para camundongos quanto para ratos, que defina a presença ou ausência de obesidade, alguns estudos estabeleceram parâmetros próprios, como a diferença de 15% ou 20g no peso corporal entre grupos de teste e controle; determinação do índice de adiposidade; criação de pontos de corte; e o cálculo do índice de massa corporal. Sendo que a maioria dos estudos considera as diferenças no ganho de peso corporal total como o principal parâmetro para avaliar o desfecho do desenvolvimento da obesidade (DE MOURA E DIAS, et al., 2021).

Com o objetivo de comparar a massa corpórea e o índice de Lee em ratos submetidos à dieta comercial em relação à dieta suplementada com sacarose, Malafaia e colaboradores (2013) utilizaram uma amostra de 40 animais dividida em dois grupos, com duração de três meses para intervenção. Vinte animais do grupo controle receberam apenas dieta de ração comercial e água e os outros vinte animais, do grupo experimento, receberam a mesma ração suplementada com sacarose 300 g/L na água, ambos os grupos submetidos ao monitoramento do peso corporal semanalmente. Como resultado, verificou-se diferença estatisticamente significativa entre o 14º até o 78º dia, indicando que a sacarose interferiu no ganho de peso dos ratos. A média de peso foi maior no grupo experimento em todos os períodos, tendo como referência o peso inicial, entretanto, não houve diferença significativa na comparação do índice de Lee (grupo controle 322,3 ±11,4; grupo experimental 323,9 ± 12,3).

A influência do sabor doce da dieta também foi avaliada em ratos obesos alimentados com uma dieta de cafeteria em três diferentes grupos experimentais: o primeiro, recebeu apenas a dieta de cafeteria; o segundo, recebeu a mesma dieta, com

redução calórica de 30%; e o último grupo, com dieta de cafeteria associada a prática de atividade física moderada em esteira. O experimento de nove semanas demonstrou maior ganho de peso corporal e o índice de Lee em animais que receberam apenas a dieta de cafeteria isolada, em ambos os sexos. A dieta de cafeteria com restrição calórica diminuiu significativamente o ganho de peso e o índice de Lee especialmente em fêmeas, enquanto essa relação foi observada apenas para o índice de Lee nos machos (ALVAREZ-MONELL, et al. 2022).

O acúmulo de gordura corporal depende da interação entre diferentes vias metabólicas, assim como entre genes e a dieta. Ratos linhagem *Wistar* apresentam expressão diferencial de genes no tecido adiposo subcutâneo em comparação com ratos *Sprague-Dawley*, resultando em maiores acúmulo de gordura corporal. O consumo de uma dieta hiperlipídica gera a maior captação de ácidos graxos e a maior lipogênese, aumentando o tamanho e a quantidade de células do tecido adiposo, prejudicando a secreção de hormônios como a leptina, adiponectina e grelina, intimamente ligados à obesidade. Deste modo, o modelo experimental DIO é capaz de causar as alterações metabólicas e morfológicas que caracterizam a obesidade humana (DE MOURA E DIAS, et al., 2021).

Considerando que um pico de peso corporal dos animais pode ser obtido entre a 16ª e a 20ª semana a partir do início da administração da dieta hipercalórica/hiperlipídica, optou-se no presente estudo pelo período de 24 semanas para então ser iniciada a fase de intervenção, com a administração dos extratos e medicamento para o grupo controle, correspondendo a oito semanas, totalizando assim, as 32 semanas de experimentação. Neste estudo, a avaliação do peso corporal dos animais foi avaliada durante os oito meses de duração, e os resultados foram crescentes no aumento de peso para todos os grupos, porém com oscilações. Considerando apenas o período de tratamento, ou seja, os dois últimos meses de experimento, o único grupo que apresentou perda de peso após os 60 dias de ingestão do extrato de maná-cubiu, foi o grupo MN300 (passando de 592,3g±70,7 para 583g ±70,8). Os demais grupos experimentais, assim como os grupos controles, apresentaram ganho de peso entre o 30º e 60º dias de tratamento (TABELA 18).

É possível observar também que os animais do grupo controle tratados com metformina (controle ME) obtiveram crescente ganho de peso nos meses que antecederam a administração do fármaco, enquanto que o grupo controle que recebeu a dieta hipercalórica/hiperlipídica e sem tratamento (controle DI) manteve este ganho ponderal em todos os procedimentos de pesagem até o último mês do experimento. Em relação aos grupos que receberam o extrato do fruto, o grupo MN150 apresentou redução de peso no primeiro mês de tratamento, seguido de uma redução de, em média, 54 gramas por animal. Enquanto que o grupo MN 300 sofreu redução de peso, só após o segundo mês de tratamento, com uma redução de, em média, 9 gramas por animal.

TABELA 18- MONITORAMENTO DO PESO CORPORAL

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
1º mês	321,2±41,3 [a]	335,9±20,9 [a]	313,4±34,9 [a]	315,7±41,2 [a]	318,1±37,4 [a]
2º mês	355,4±48,5 [a]	388,2±24 [a]	353,4±32,9 [a]	357,9±57,3 [a]	363±28,6 [a]
3º mês	408,2±61,6 [a]	449,6±40,2 [a]	378,8±49 [a]	386,9±56,2 [a]	402,7±44,3 [a]
4º mês	477,5±69,2 [a]	524,3±44,5 [a]	420,9±61,6 [a]	438,8±71,6 [a]	473,9±54,1 [a]
5º mês	528,4±83,9 [a]	590,3±57,1 [a]	445,9±64,4 [a]	476,7±89,6 [a]	519,8±71,8 [a]
6º mês	553,9±97,6 [a]	624,3±61,9 [a]	548,1±68,3 [a]	508,4±99,5 [a]	561±81,3 [a]
7º mês*	458,4±88,5 [a]	689,7±81,9 [a]	517,2±74,4 [a]	435,9±55,9 [a]	592,3±70,7 [a]
8º mês*	470,2±91,3 [a]	691,5±84,3 [a]	526,8±76,1 [a]	490,6±55,9 [a]	583±70,8 [a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA de duas vias, seguido de Bonferroni ($p<0,05$). *Período de administração dos extratos. Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

Para o grupo controle tratado com metformina (controle ME), a redução de peso corporal observada no primeiro mês após início do tratamento (7º mês), pode ser resultante da ação do próprio medicamento. A metformina foi desenvolvida na década de 50 como um fármaco hipoglicemiante oral utilizado no tratamento de diabetes do tipo 2, ou seja, não dependente de insulina. Além do efeito direto no controle glicêmico, esse fármaco é capaz de inibir a ingestão de alimentos em pacientes obesos,

tanto naqueles portadores de diabetes, do tipo 1 e 2, quanto nos não diabéticos. Esta ação poderia ser explicada pelos reações adversas do seu uso, como náuseas, vômitos, diarreia, dor abdominal e alterações do paladar ou, ainda, como resposta ao aumento do peptídeo-1 semelhante ao glucagon (GLP-1). Como terceira hipótese, a metformina parece atuar no sistema nervoso central (SNC) inibindo a expressão do neuropeptídeo Y (NPY) e da proteína relacionada à agouti (AgRP) no hipotálamo, substâncias conhecidamente reguladoras do apetite (WEN-SHAN, et al., 2012).

Lobato e colaboradores (2012) também utilizaram metformina (300mg/kg por 15 dias) como tratamento em modelos experimentais, para os autores o medicamento melhorou alterações em ratos *Wistar* machos que receberam injeções subcutâneas de glutamato monossódico (4,0g/kg de peso corporal) para indução da obesidade, reduzindo a resposta induzida por norepinefrina, que se mostrou aumentada no leito arteriolar mesentérico dos ratos obesos. Entre os resultados decorrentes do uso do medicamento estão o menor índice de Lee, menor acúmulo de gordura, controle da dislipidemia, da resistência à insulina e da hiperinsulinemia. O peso da massa magra dos ratos tratados com metformina não foi diferente dos ratos controle, mas os níveis de colesterol, triglicerídeos e colesterol LDL foram restaurados aos níveis de controle após o tratamento com o fármaco.

Estudos demonstram que a elevada ingestão de gorduras e de sacarose, por si só, também pode resultar em uma menor ingestão alimentar em grupos experimentais, mesmo que o consumo de energia se mantenha equivalente aos grupos controle. Essa mudança na ingestão de alimentos pode ser resultante do mecanismo de regulação da ingestão alimentar em ratos em resposta a maior a maior densidade energética da dieta. A ingestão de gordura resulta no aumento da gordura hepática e do colesterol sérico, além da redução da água corporal total, demonstrando que dietas ricas em gordura alteram o perfil lipídico dos animais. No entanto, essas mudanças bioquímicas nem sempre refletem em variáveis antropométricas, podendo depender da duração da intervenção do estudo ou da variação dietética com diferentes proporções de gordura à título de comparação (ANGÉLOCO, et al. 2012). Em modelos animais DIO, uma diminuição no comportamento motivacional em relação ao paladar doce e a redução do respectivo consumo foram relatados para ratos machos. Assim como o aumento da preferência por baixas concentrações de sacarose e a perda de peso induzida por dieta (ALVAREZ-MONELL, et al. 2022).

A idade e o sexo dos animais são fatores que podem interferir no desenvolvimento da obesidade, em modelos DIO a doença se desenvolve melhor em animais mais jovens, por isso a importância de iniciar a oferta da dieta ainda nos primeiros dias de vida. O ganho de peso também parece ser mais rápido em animais mais jovens. Em roedores considerados idosos, ocorre menos inflamação, causando menos alterações glicêmicas e hepáticas (DE MOURA E DIAS, et al., 2021). Como a espécie atinge a idade adulta próximo aos dois meses de vida e o tempo de oferta da dieta utilizado neste estudo foi de seis meses, após o período de tratamento os animais já se encontravam em idade mais avançada, totalizando 11 meses, o que pode justificar o comportamento mais lento no ganho de peso corporal, inclusive dos animais do grupo SA, para o qual não houve intervenção.

SKALICK; NARATH E VIIDIK (2001) investigaram a influência das condições de alojamento na composição corporal de ratos idosos. Os ratos *Sprague-Dawley* machos foram divididos em 2 grupos de 32 animais cada, um grupo com 4 animais em cada caixa e outro com apenas um animal alojado. Ambos os grupos foram mantidos com oferta de alimentação *ad libitum* dos cinco aos 23 meses de idade, com monitoramento mensal do peso corporal e trimestral para composição corporal por análise de bioimpedância. Como resultado, o peso corporal aumentou em ambos os grupos ao longo do tempo, entretanto, a partir dos seis meses de idade, o grupo com mais animais por alojamento obteve ganho de peso mais significativo. Tanto a massa livre de gordura quanto a gordura corporal total aumentaram em ambos os grupos, principalmente após os oito meses de idade. A quantidade de gordura, expressa em porcentagem do peso corporal, aumentou com a idade, mas se estabilizou após os 14 meses de idade. A diferença entre os grupos foi significativa para as idades de 11 a 20 meses, concluindo que os animais perdem tecido magro e ganham gordura à medida que envelhecem.

4.5.3. Peso dos órgãos

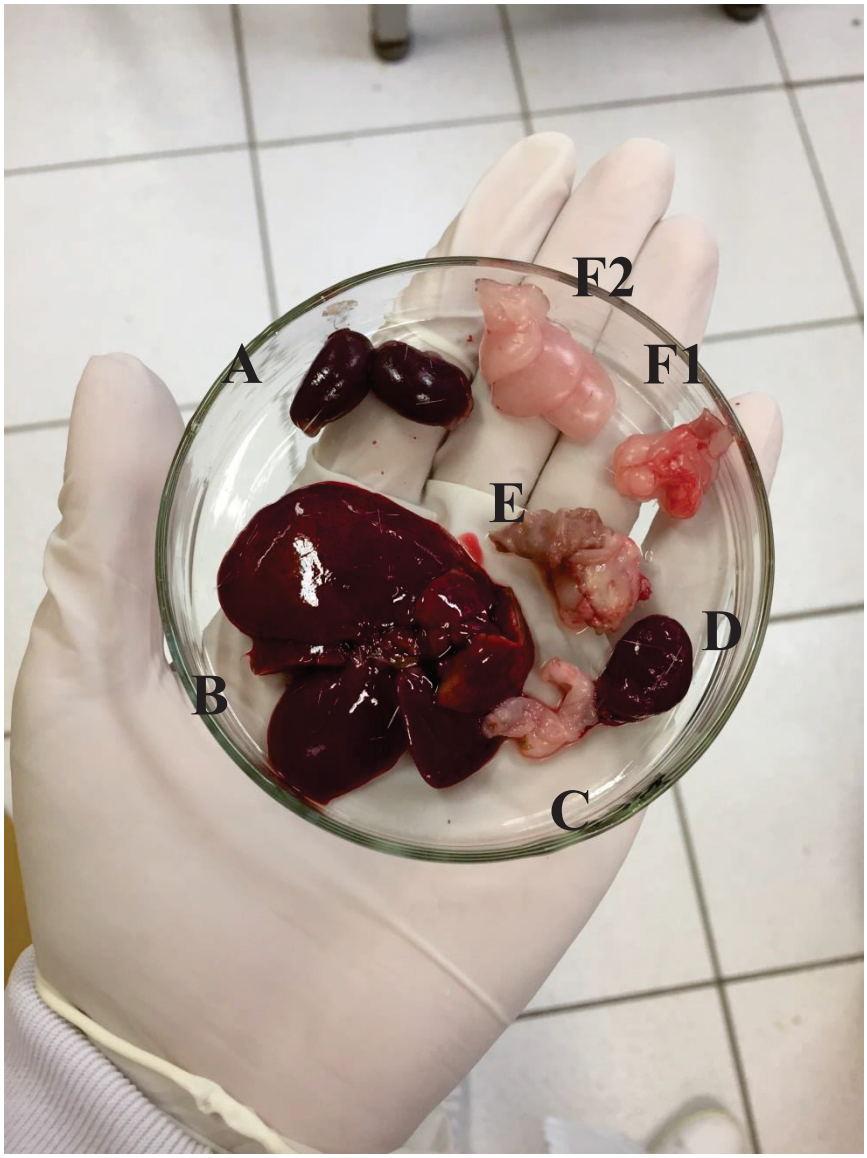
Com relação ao peso dos órgãos coletados após a eutanásia (FIGURA 9), os resultados demonstram semelhanças principalmente em relação ao peso do fígado dos animais tratados com o fruto (MN150 e MN300) 11,30g ± 2,35 e 12,50g ± 3,32,

respectivamente e o grupo controle SA 14,42g ± 2,06 ($p<0,01$), os quais diferiram estatisticamente dos demais grupos que receberam a dieta hiperlipídica, tanto sem tratamento (controle DI) 17,70g ± 4,52, quanto o grupo tratado com metformina (controle ME) 15,90g ± 2,46 (TABELA 19), destacando positivamente os possíveis efeitos protetores do consumo do fruto. De maneira oposta, os resultados para os grupos controle DI e ME podem ser justificados pelo efeito do consumo habitual do padrão de dieta ocidental, composta por alimentos ricos em gorduras saturadas e açucares, em promover o aumento da deposição de lipídios em tecido hepático e muscular. O acúmulo de gordura hepática, por sua vez, prejudica a depuração de insulina e pode resultar em resistência à insulina, tanto hepática, como do tecido adiposo, favorecendo, inclusive, o quadro de DM2. Estes resultados sugerem a existência de múltiplas manifestações e mecanismos fisiopatológicos do quadro de obesidade (ALWAHSH et al., 2017). E um potencial protetor do extrato com relação a estes fatores.

O peso médio do fígado observado no estudo de Santana et al. (2017) foi de 11,3 gramas (± 0,4) e 12,8 gramas (± 0,4) para os grupos controle e intervenção, respectivamente. Os autores investigaram os efeitos terapêuticos do óleo de cártamo em modelo experimental de síndrome metabólica em ratos *Wistar* alimentados com dieta altamente palatável pelo período de 10 semanas. Na fase pré-tratamento, os animais que receberam a dieta palatável mostraram ganho de peso, adiposidade visceral, glicemia e triglicerídeos séricos significativamente mais elevados do que aqueles do grupo controle, com foco nos resultados para o peso do fígado.

O estudo de Gaiva e colaboradores (2003), que avaliou ratos *Wistar* machos, recém-desmamados, alimentados *ad libitum* por oito semanas com diferentes dietas (ração comercial; ração comercial com 15% de óleo de soja; ração comercial com 15% de óleo de peixe; e ração comercial com 15% de soja e óleo de peixe) obteve como resultado o ganho de peso corporal maior em ratos que receberam a ração com óleo de peixe e com a combinação óleo de soja mais óleo de peixe, assim como o peso do fígado, o conteúdo lipídico e a taxa de lipogênese aumentaram nos animais destes mesmos grupos.

FIGURA 9 – ÓRGÃOS COLETADOS APÓS EUTANÁSIA



Fonte: A Autora, 2019.
Legenda: A- Rins; B- Fígado; C-Pâncreas; D- Coração; E- Estômago; F1- Tecido adiposo abdominal; F2- Tecido adiposo epididmal

TABELA 19- PESO DOS ÓRGÃOS (g)

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
Fígado	17,70±4,52 [a]	15,90±2,46 [a]	14,42±2,06 [b]	11,30±2,35 [b]	12,50±3,32 [b]
Rim direito	1,50±0,16 [a]	1,45±0,19 [a]	1,62±0,22 [a]	1,50±0,25 [a]	1,40±0,24 [a]
Rim esquerdo	1,54±0,21 [a]	1,44±0,12 [a]	1,59±0,15 [a]	1,50±0,20 [a]	1,50±0,34 [a]
Pâncreas	0,94±0,27 [a]	1,09±0,37 [a]	0,95±0,34 [a]	0,83±0,52 [a]	0,90±0,53 [a]
Estômago	2,40±0,32 [a]	2,14±0,20 [a]	2,44±0,15 [a]	1,90±0,16 [a]	2,10±0,33 [a]
Coração	1,73±0,25 [a]	1,51±0,19 [a]	1,64±0,20 [a]	1,50±0,18 [a]	1,50±0,17 [a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

Outro órgão que parece ser afetado pela SM é o pâncreas, tecido com maior peso médio obtido para o grupo controle DI (1,09g ± 0,37) neste estudo. A comparação entre animais com SM e saudáveis, também foi realizada por Auberval e colaboradores (2014), em que os animais foram divididos em grupos que recebiam dieta hiperlipídica (21% de lipídeos) e ração comercial (3% de lipídeos), respectivamente. Após dois meses de experimento, a dieta hiperlipídica induziu o aumento do peso corporal, insulina e triglicerídeos séricos. Também houve aumento na deposição de gorduras e glicogênio no fígado. E hiperplasia no pâncreas dos animais com dieta rica em gorduras, decorrente do aumento do volume das ilhotas pancreáticas em resposta à hiperinsulinemia, com achados que incluíram células aumentadas, orifícios e um aumento na área de superfície das ilhotas. O estresse oxidativo tecidual também foi elevado no fígado, pâncreas e vasos sanguíneos, sem que houvesse alteração do estresse oxidativo plasmático.

A resistência à insulina (RI) é definida como a incapacidade da insulina em manter a homeostase da glicose e é considerada um fator causal não apenas para a SM, mas também para doença hepática gordurosa não alcoólica, síndrome dos ovários policísticos (SOP), obesidade, DM2 e doenças cardiovasculares, como a aterosclerose.

Uma justificativa para o efeito direto entre a RI e estas doenças é hiperresponsividade das células beta-pancreáticas às condições metabólicas desfavoráveis, como estilo de vida ocidentalizado. A falha das células beta no DM2 e na obesidade é uma consequência da incapacidade em sustentar secreção de insulina elevada. Sendo assim, ao contrário de o papel das células beta em compensar a RI, ela se torna o principal causador da hipersecreção de insulina. Essa mudança de panorama influencia inclusive novas abordagens de tratamento do DM2 e da SM, em que o foco passa a ser a prevenção da ação hipersecretora das células beta e não mais o controle glicêmico por si só, como abordado tradicionalmente (NOLAN e PRENTKI, 2019; JI HYE HUH, et al., 2017).

As células beta das ilhotas pancreáticas são definidas por sua capacidade de produzir, armazenar e secretar insulina em resposta a nutrientes como glicose, lipídios e um subconjunto de aminoácidos. São células extremamente sensíveis ao ambiente de nutrientes e pode responder a pequenas mudanças nas concentrações de glicemia, desencadeando mudanças significativas na secreção de insulina em apenas alguns minutos através do complexo processo de acoplamento estímulo-secreção. Devido a adaptação destas células serem ajustadas pelas oscilações agudas nas concentrações glicose e ácidos graxos livres, de maneira crônica, como ocorre na SM, a resposta das células beta aos estados fisiológicos e fisiopatológicos de excesso destes nutrientes podem variar, gerando as respostas adaptativas tanto na quantidade, como na função das células. Entretanto, em alguns indivíduos, este processo tem início com a resposta periférica da insulina, gerando a RI e posteriormente a resposta compensatória das células beta. Independentemente de o início do processo ser resultante do excesso de nutrientes, resistência à insulina ou ambos, o processo de transição entre a resposta adaptativa de células beta para uma resposta patológica é determinante para a progressão do diabetes (HUDISH, REUSCH e SUSSEL, 2019).

4.5.4. Parâmetros bioquímicos relacionados ao perfil lipídico e funções renal e hepática

Nos exames bioquímicos realizados após a finalização do experimento, observaram-se valores inferiores de LDL colesterol nos animais pertencentes aos grupos MN150 e MN300 em comparação aos demais grupos avaliados (TABELA 20).

Estes achados corroboram com os dados encontrados por Maia e colaboradores (2015) no estudo sobre o efeito hipolipemiante do maná-cubiu. Segundo os autores, os tratamentos com farinha de maná-cubiu reduziram as concentrações de colesterol total (-21,6%), LDL colesterol (-56,8%), colesterol hepático (-32,1%) e aumentaram a excreção de colesterol fecal (+116%)

TABELA 20- PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE PERFIL LIPÍDICO

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
Colesterol Total (mg/dL)	53,14±10,85 [a]	63,67±30,53 [a]	49,71±17,09 [a]	40,13±13,84 [a]	33,88±15,04 [a]
Triglicerídeos (mg/dL)	61,67±6,86[b]	121,40±40,51[a]	62,43±18,49[b]	91,71±50,09[a]	53,14±22,74[b]
HDL Colesterol (mg/dL)	20,86±4,74 [a]	22,50±4,93 [a]	18,0±6,32 [a]	16,0±5,53 [a]	14,63±5,78 [a]
VLDL Colesterol (mg/dL)	11,29±2,69 [a]	24,20±,23 [a]	12,43±3,60 [a]	22,13±13,93 [a]	12,5±6,55 [a]
LDL Colesterol (mg/dL)	21,0±7,77 [a]	26,5±24,75 [a]	19,29±8,98 [a]	9,25±7,72 [a]	8,0±6,66 [a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

O aumento do LDL colesterol é um conhecido risco em portadores da SM, assim como a obesidade, a resistência insulínica, a hipertensão arterial sistêmica (HAS) e a dislipidemia (SZABO et al., 2008). Desta forma, entende-se que esta alteração bioquímica é resultante do processo de indução da doença nos modelos experimentais deste estudo. A concentração sérica de colesterol é um indicador da deposição de ácidos graxos no tecido adiposo e no fígado, por isso, quando apresentado em valores elevados no sangue, demonstra maior deposição hepática e adiposa. Assim como os triglicerídeos sérios, os quais são o principal componente do tecido adiposo e, por essa razão, podem indicar alterações metabólicas (DE MOURA e DIAS, et al., 2021).

Neste último caso, os resultados observados pelos grupos experimentais correspondentes aos níveis séricos de triglicerídeos demonstraram diferenças significativas entre o grupo controle DI (121,40 mg/dL ± 40,51) em relação aos demais, com exceção do grupo MN 150. Indicando o impacto da doença na promoção da hipertrigliceridemia e a potencial proteção a partir dos tratamentos com metformina e o extrato do fruto na dose de 300mg/kg. (53,14mg/dL) ($p<0,01$), os quais não diferiram ao grupo controle saudável (SA).

Um estudo com o objetivo de caracterizar e comparar diferenças nas respostas metabólicas induzidas por dietas, em modelos animais de obesidade, avaliou associações entre medidas de composição corporal e o metabolismo. As dietas utilizadas eram com baixo teor de gordura; médio teor de gordura associado ao alto teor de açúcar; e alto teor de gordura, e foram comparadas através de modelagem estatística multivariada. Para o experimento, ratos *Wistar* machos jovens foram aleatoriamente distribuídos entre os três grupos com 24 animais cada, por um período de 17 semanas. Os resultados demonstraram que o aumento da adiposidade visceral e a hipertrigliceridemia foram as únicas consequências metabólicas comuns nos grupos que receberam as dietas com médio teor de gorduras e alto em açúcar e dieta com alto teor de gorduras. Entretanto, nenhum destes dois grupos apresentou alterações de glicemia de jejum, justificada pela ausência de outras variáveis que também permaneceram inalteradas como ingestão calórica e peso corporal final. As alterações relacionadas à insulina e ao tecido adiposo foram mais significativas no grupo que recebeu a dieta com médio teor de gorduras e alto em açúcar, assim como as concentrações séricas de leptina e adiponectina, sugerindo que o elevado teor de açúcar teria mais influencia nestes parâmetros do que o teor alto em gorduras. Já as alterações de função hepática e do metabolismo de colesterol foram predominantes no grupo alimentado com dieta de alto teor de gorduras. Sendo a ingestão calórica similar entre os três grupos avaliados, resultando em uma discreta variação de peso corporal final (KOTZÉ-HÖRSTMANN, et al., 2022).

A prevalência de doença hepática gordurosa não alcoólica que acomete adultos obesos é cerca de 80%. Acometendo também mais da metade de indivíduos portadores de DM2 ou com hiperlipidemia. Naturalmente, tanto a quantidade de energia ingerida, quanto a qualidade da dieta, associados aos hábitos de vida de sedentarismo, são os fatores que mais impactam no aumento de peso corporal, no acúmulo de gordura

hepática e na hiperglicemia. A ingestão de frutose, em longo prazo, promove o aumento do acúmulo de gordura nos tecidos adiposo e hepático, dados que estão associados ao maior risco de DM (ALWAHSH, et al., 2017).

O papel do fígado e do pâncreas no desenvolvimento da hiperinsulinemia em diferentes modelos experimentais de obesidade foi estudado por Alwahsh e colaboradores (2017). Ratos sedentários foram alimentados com uma dieta com baixo teor de gordura, contendo 13% kcal de gordura; dieta rica em gordura, contendo 35% da composição da dieta; e dieta rica em gordura, contendo 22% de gordura, com associação de etanol e frutose (30%). Os animais foram eutanasiados em períodos de uma, quatro e oito semanas após indução da obesidade. E após o maior período (oito semanas) o peso corporal dos animais com dieta de baixo teor de gorduras aumentou três vezes, enquanto o grupo com dieta de alto teor de gorduras teve um aumento de peso de 2,8 e 2,4 vezes para dietas rica em gordura e acrescida de etanol e frutose. Neste último grupo, entretanto, os animais apresentaram maior peso de fígado e com menor consumo alimentar no período entre quatro e oito semanas. Os níveis séricos de triglicerídeos aumentaram em todos os grupos experimentais, com maior destaque para o grupo com dieta rica em gordura e acrescida de etanol e frutose, após as oito semanas, assim como a glicemia e os níveis de leptina. Por fim, a avaliação da expressão gênica de insulina pancreática demonstrou resultados superiores para os grupos de ambas as dietas com alto teor de gorduras, em comparação com a dieta pobre em gorduras, sugerindo a maior predisposição ao DM e/ou SM.

O elevado consumo de frutose gera acúmulo de triglicerídeos e colesterol no fígado, em resposta aos efeitos estimulantes da lipogênese, reduzindo a sensibilidade à insulina. Dietas de indução de SM contendo 60% de frutose do total de calorias é capaz de causar hipertensão e aumentar a glicemia de jejum, assim como o ganho de peso e dislipidemia, tornando-se um importante fator no desenvolvimento de doença hepática gordurosa. As dietas hiperlipídicas, que contem entre 30 e 70% de gorduras em sua composição, também promovem aumento do peso corporal, hiperglicemia, resistência à insulina e dislipidemia, aumentando os ácidos graxos livres no sangue. No metabolismo lipídico, os triglicerídeos são hidrolisados em glicerol e três ácidos graxos, que se difundem livremente na corrente sanguínea, tornando-se os principais substratos para a produção hepática de lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL). Sendo assim, uma dieta que combina a administração de altos teores de frutose e gorduras se torna um

modelo que mais se assemelha à tendência atual de hábitos alimentares, contendo altas concentrações de gorduras saturadas e carboidratos refinados, fator essencial no desencadeamento da SM, obesidade e DM2 (GUNAWAN; AULIA e SOETIKNO, 2021).

À medida que a quantidade de gordura hepática armazenada aumenta, este órgão é exposto ao maior dano oxidativo, gerando lise em suas células, e consequentemente, elevando as concentrações séricas das enzimas AST e ALT. Deste modo, o aumento nas concentrações de ambas as aminotransferases pode estar associado ao aumento do peso do fígado e à esteatose hepática. A dieta rica em gordura (71% do valor calórico ingerido) predispõe o desenvolvimento de padrões semelhantes à esteatose e níveis de triglicerídeos hepáticos elevados em ratos das linhagens *Wistar* e *Sprague-Dawley*, sendo os machos mais suscetíveis que as fêmeas (DE MOURA e DIAS, et al., 2021).

De modo a confirmar estes dados, os resultados obtidos no presente estudo referentes às enzimas hepáticas, alanina aminotransferase (AST) e aspartato aminotransferase (ALT) foram superiores para o grupo com a SM sem tratamento e melhores para os grupos MN150 em comparação aos demais grupos. O grupo MN150 é o que mais se aproxima aos parâmetros encontrados para o controle saudável (99,5 U/L) ($P<0,01$), com diferença estatística significativa (TABELA 21).

TABELA 21- PARÂMETROS BIOQUÍMICOS DE FUNÇÕES RENAL E HEPÁTICA

	Controle ME	Controle DI	Controle SA	MN 150	MN 300
AST (U/L)	79,14±18,99[b]	138,00±54,12[a]	99,50±25,49[b]	75,00±34,49[b]	133,0±63,19[a]
ALT (U/L)	37,43±7,18[a]	57,40±28,40[a]	54,67±17,43[a]	31,0±18,20[a]	65,38±51,05[a]
Ureia (mg/dL)	24,29±6,24[a]	39,33±15,11[a]	24,14±7,82[a]	20,88±10,37[a]	18,25±4,74[a]
Creatinina (mg/dL)	0,44±0,09[a]	0,43±0,13[a]	0,47±0,17[a]	0,30±0,09[a]	0,34±0,09[a]
Relação U/C	55,29±7,32[a]	89,0±18,47[a]	52,0±7,35[a]	61,86±9,94[a]	54,13±6,71[a]

Legenda: Resultados expressos em média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma linha representam diferença estatística segundo teste estatístico ANOVA seguido de Bonferroni ($p<0,05$). Grupo que recebeu a dieta e tratado com metformina (Controle ME); Grupo que recebeu a dieta e sem tratamento (Controle DI); Grupo que recebeu a dieta padrão e sem tratamento (Controle SA); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 150mg/kg (MN 150); Grupo que recebeu a dieta e extrato de maná-cubiu na dose de 300mg/kg (MN 300).

A SM é um conhecido fator de risco para o desenvolvimento de doença renal crônica e outras alterações como doença microvascular, caracterizada por microalbuminúria, redução da taxa de filtração glomerular, atrofia tubular, fibrose intersticial e glomeruloesclerose. Tais alterações podem ser resultantes tanto da RI, quanto de hipertensão arterial, dislipidemias, ativação de processos inflamatórios, fibróticos, disbiose e geração de estresse oxidativo, os quais causam desequilíbrio nos principais fatores vasoativos e, portanto, disfunção endotelial, deteriorando a função renal (TRUJILLO, et al., 2018). Por este motivo, marcadores de avaliação da função renal se mostram fundamentais para o monitoramento do avanço e progressão da doença. Os valores obtidos no presente estudo para ureia nos animais pertencentes ao grupo controle DI foram os mais elevados entre todos os grupos experimentais (39,33 mg/dL ± 15,11), enquanto que os grupos que receberam o extrato do maná-cubiu com tratamento, em ambas as dosagens, foram os que obtiveram menores médias (grupo MN 150: 20,88 mg/dL ± 10,37; grupo MN 300: 18,25 mg/dL ± 4,74).

O consumo excessivo de gordura e açúcar está associado a várias doenças crônicas. No entanto, a variação do teor destes componentes da dieta afeta o desfecho dos estudos realizados. Uma dieta rica em gordura (31,99% de carboidratos, 40,7% de gordura, 11,8% de proteína) e frutose (30%) foi avaliada quanto às alterações patológicas em órgãos (fígado, rins, pâncreas, músculos e baço) de modelos experimentais. Ratos *Wistar* machos com idades entre 8 e 12 semanas receberem a dieta por oito semanas. Mesmo contendo ácidos graxos insaturados, ácido linoleico (14,57%) e ácido palmitoleico (8,28%), e ácidos graxos saturados, como ácido esteárico (13,62%) e ácido mirístico (10,09%), a dieta não promoveu a obesidade dos ratos. Porém, as análises histológicas do fígado demonstraram importante grau de esteatose hepática (78,33%), associado ao aumento nos níveis séricos de fosfatase alcalina, triglicerídeos, colesterol total e ácido úrico. Os resultados histopatológicos confirmaram lesões moderadas (45%) nos rins, vacuolização discreta do pâncreas e aumento discreto de células inflamatórias no baço e músculo. Deste modo, os autores concluíram que embora a dieta rica em gorduras e frutose não tenha promovido a obesidade após oito semanas de administração, resultaram em alterações hepáticas e renais significativas, dislipidemia e hiperuricemia como consequência metabólica do excesso de ácidos graxos e frutose (YUSTISIA, et al., 2022).

5. CONCLUSÃO

A caracterização físico-química do maná-cubiu demonstrou que o fruto possui baixa concentração de açucares totais e pH ácido, atributos característicos ao seu sabor adstringente. O fruto apresentou significativa atividade antioxidante e os ensaios de toxicidade preliminar indicaram ausência de toxicidade pelos métodos *Artemia salina*, hemólise e fitotoxicidade em sementes de *Lactuca sativa*, sugerindo o consumo seguro para animais e seres humanos.

Nos modelos experimentais submetidos à dieta hipercalórica e hiperlipídica, o fruto demonstrou ter papel importante na proteção das funções renais e hepáticas, mesmo com a continuidade da oferta da dieta nos grupos que receberam os tratamentos com a gavagem dos extratos. Além disso, os valores relacionados aos perfil lipídico dos grupos que receberam os extratos (MN 150 E MN 300mg/kg) nas duas doses (9,25 e 8,0 mg/dL, respectivamente) foram inferiores aos controles (ME 21,0; DI 26,5; SA 19,29 mg/dL).

A avaliação do possível efeito do fruto relacionado ao controle de peso e obesidade ainda é inconclusiva com as análises realizadas neste estudo, um dos fatores limitantes para a utilização do modelo experimental de obesidade e síndrome metabólica induzida por dieta é a ausência de padronização nos protocolos para desenvolvimento das doenças. De modo geral, os marcadores mais utilizados para avaliar a presença destas alterações incluem o monitoramento do peso e composição corporal, além de exames bioquímicos de perfil lipídico e glicemia, de modo complementar. Sendo assim, se fazem necessários novos experimentos para esclarecimento desta e de outras possíveis ações do extrato.

REFERÊNCIAS

AASETH J, et al. Diets and drugs for weight loss and health in obesity - An update. **Biomed Pharmacother**. v.140, p.111789. 2021.

ABETE, I. et al. Obesity and the metabolic syndrome: role of different dietary macronutrient distribution patterns and specific nutritional components on weight loss and maintenance, **Nutrition Reviews**, v.68, n.4, p. 214–231. 2010.

ALAM M.A., et al. Effect of citrus flavonoids, naringin and naringenin, on metabolic syndrome and their mechanisms of action. **Adv Nutr**. v.5, n.4, p. 404-417. 2014.

ALVAREZ-MONELL A, et al. Impact of Calorie-Restricted Cafeteria Diet and Treadmill Exercise on Sweet Taste in Diet-Induced Obese Female and Male Rats. **Nutrients**. v. 15, n. 1, p. 144. 2022.

ALWAHSH, S.M.; DWYER, B.J.; FORBES, S.; VAN THIEL, D.H.; STARKEY LEWIS, P.J.; RAMADORI, G. Insulin Production and Resistance in Different Models of Diet-Induced Obesity and Metabolic Syndrome. **Int. J. Mol. Sci**. v.18, p.285. 2017.

American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care.** v.42, n.1, p.193. 2019.

ANGÉLOCO L. R. N., et al. Bioelectrical impedance analysis and anthropometry for the determination of body composition in rats: effects of high-fat and high-sucrose diets. **Rev. Nutr.** v. 25, n. 3, p. 331-339. 2012.

ANIYA, N. Y,. et al. Relationship between the Antioxidant Activity and Allelopathic Activities of 55 Chinese Pharmaceutical Plants. **Plants (Basel).** v.11, n.19, p.2481. 2022.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTRY). **Official Methods of Analysis**, 17th ed., Washington, D. C., 2000.

AOAC (ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTIS). **Official methods ofanalysis of the AOAC.**18th ed. Gaithersburg, M.D, USA, 2005.

ASLAM, F., RIAZ, M., ZUBAIR, M., RIZWAN, K., ABBAS, M., BUKHARI, T. H., & BUKHARI, I. H. Antioxidant, haemolytic activities and GC-MS profiling of *Carissa carandas* roots. **International Journal of Phytomedicine**, v.*3*, n.4, p.567-578, 2012.

Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica / ABESO. **Diretrizes brasileiras de obesidade** - Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e da Síndrome Metabólica. – 4.ed. - São Paulo, SP. 2016.

AUBERVAL, N. et al. Metabolic and oxidative stress markers in Wistar rats after 2 months on a high-fat diet. **Diabetol Metab Syndr**. v.6, p. 130. 2014.

BABU, P. V. A.; LIU, D.; GILBERT, E .R. Recent advances in understanding the anti-diabetic actions of dietary flavonoids. **Journal of Nutritional Biochemistry**. v. 24, p.1777–1789, 2013.

BENZIE, I.F.F.; STRAIN, J.J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a meansure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analystical Biochemistry**, v.239, p. 70-76, Coleraine, 1996.

BERBERICH A.J. E HEGELE R.A. A Modern Approach to Dyslipidemia. **Endocr Rev**. v.43, n.4. p.611-653, 2022.

BIASSIO, A. **Agrobiodiversidade em escala familiar nos municípios de antonina e morretes (pr):** base para sustentabilidade socioeconômica e ambiental. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, 2011.

BOLAND, B. S.; EDELMAN, S. V.; WOLOSIN, J. D. Gastrointestinal Complications of Diabetes. **Endocrinology And Metabolism Clinics Of North America**, v. 42, n. 4, p.809-832, dez. 2013.

CERQUEIRA, F. M.; MEDEIROS, M. H. G.; AUGUSTO, O. Antioxidantes dietéticos: controvérsias e perspectivas. **Química Nova**. v. 30; p. 441-449, 2007.

CARDONA; CUCA E BARRERA. Determinación de algunos metabolitos secundarios en tres morfotipos de cocona (Solanum sessiliflorum Dunal). **Rev. Colomb. Quím**., v. 40, n.2, p. 185-200. 2011.

CARVALHO, J. L. S. **Contribuição ao estudo fitoquímico e analítico de *Nasturtium officinale* R. BR., Brassicaceae**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Setor de Ciências da Saúde, Universidade Federal do Paraná. Curitiba, 2001.

CHOU, C. H. Roles of allelopathy in plant biodiversity and sustainable agriculture. **Critical Reviews in Plant Science**, Boca Raton, v. 18, p. 609-636. 1999.

COSTA, Neuza Maria Brunoro et al. **Nutrição experimental:** Teoria à Prática. São Paulo: Rubio, 2014.

DE MOURA E DIAS, M. et al. Diet-induced obesity in animal models: points to consider and influence on metabolic markers. **Diabetol Metab Syndr.** v.13, n.1, p.32. 2021.

DOULBERIS M, PAPAEFTHYMIOU A, POLYZOS SA, KATSINELOS P, GRIGORIADIS N, SRIVASTAVA DS, KOUNTOURAS J. Rodent models of obesity. **Minerva Endocrinol.** v.45, n.3, p. 243-263, 2020.

DUNFORD E.K., POPKIN B., NG S.W. Junk Food Intake Among Adults in the United States. **J Nutr**. v.152, n.2, p.492-500. 2022.

FARIA, J. V. et al. Comparative evaluation of chemical composition and biological activities of tropical fruits consumed in Manaus, central Amazonia, Brazil. **Food Research International**. v.139, 2021.

FAHED G, et al.. Metabolic Syndrome: Updates on Pathophysiology and Management in 2021. v.23, n.2, p. 786. **Int J Mol Sci.** 2022.

FUCHS T., et al. Animal models in metabolic syndrome. **Rev Col Bras Cir**. 2018.

GAIVA M. H. et al. Diets rich in polyunsaturated fatty acids: effect on hepatic metabolism in rats. **Nutrition.** v. 19, n. 2, p. 144-9, 2003.

GAMBOA-GÓMEZ C.I., et al. Plants with potential use on obesity and its complications. **EXCLI J**. v.14, p.809-831. 2015.

GOBATO A.O., et al. Metabolic syndrome and insulin resistance in obese adolescents. **Rev Paul Pediatr.** 2014.

GONDI, M.; RAO, U. J. S. Prasada. Ethanol extract of mango (*Mangifera indica* l.) peel inhibits α-amylase and α-glucosidase activities, and ameliorates diabetes related biochemical parameters in streptozotocin (stz)-induced diabetic rats. **J food sci technol,** India v. 52, n. 12, p. 7883–7893, p. 16-26. 2015.

GONÇALVES, K. M. et al., biological activities of Solanum Sessiliflorum dunal. **Biosci. J**., Uberlândia, v. 29, n. 4, p. 1028-1037, 2013.

GUNAWAN, S.; AULIA, A.; SOETIKNO, V. Development of rat metabolic syndrome models: A review. **Vet World**. v. 7, p. 1774-1783, 2021.

HALL C. B., LUKASKI H. C., MARCHELLO M. J. Estimation of rat body composition using tetrapolar bioelectrical impedance analysis. **Nutrition Reports International**. 1989.

HERNANDES, L. C. et al. In vivo assessment of the cytotoxic, genotoxic and antigenotoxic potential of maná-cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal) fruit. **Food Research International**. v. 62, p.121-127, ago. 2014.

HERNÁNDEZ BAUTISTA R. J., et al. Obesity: Pathophysiology, monosodium glutamate-induced model and anti-obesity medicinal plants. **Biomed Pharmacother**. v.111, p. 503-516. 2019.

HOLMES C.J., RACETTE S.B. The Utility of Body Composition Assessment in Nutrition and Clinical Practice: An Overview of Current Methodology. **Nutrients**. 2021.

HUANG, P. L. A comprehensive definition for metabolic syndrome. **Disease Models & Mechanisms.** v. 2, p.231-237, 2009.

HUDISH L.I., REUSCH J.E., SUSSEL L. β Cell dysfunction during progression of metabolic syndrome to type 2 diabetes. **J Clin Invest**. v.129, n.10, p. 4001-4008. 2019.

IAL. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz.** São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2005.

JI HYE HUH, D. Y., et al. An association of metabolic syndrome and chronic kidney disease from a 10-year prospective cohort study, **Metabolism**. v. 67, p. 54-64. 2017.

KHAN R. M. M. et al. From Pre-Diabetes to Diabetes: Diagnosis, Treatments and Translational Research. **Medicina** (Kaunas). v.55, n.9, p.546. 2019.
KING A. J. The use of animal models in diabetes research. **Br J Pharmacol.** v.166, n.3, p.877-894. 2012.

KLOP B, ELTE JW, CABEZAS MC. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. **Nutrients.** v.5, n.4, p. 1218-40, 2013.

KOTZÉ-HÖRSTMANN L., et al. Characterization and Comparison of the Divergent Metabolic Consequences of High-Sugar and High-Fat Diets in Male Wistar Rats. **Front Physiol.** v. 13. 2022.

LABORIAU, L. G. **A germinação das sementes**. Secretaria Geral da Organização dos Estados Americanos, Washington, p. 170, 1983.

LOBATO, N. S. et al. Improvement of metabolic parameters and vascular function by metformin in obese non-diabetic rats, **Life Sciences.** v. 90, n. 5-6, p. 228-235. 2012.

LOVEGROVE, J. A. **The Nutrition Society Textbook Series:** Nutrition Research Methodologies. 1ª Edição. United Kingdom: John Wiley & Sons Ltd, p. 335, 2015.

MACIAS, F. A.; CASTELLANO, D. & MOLINILLO, J.M.G. Search for a standart phytotoxic bioassay for allelochemicals. Selection of standard target species. **Journal Agricultural and Food Chemistry**, v. 48 n. 6, p. 2512-2521, 2000.

MAIA J. R. P. et al. Efeito hipolipemiante da suplementação dietética com a farinha do cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal) em ratos hipercolesterolêmicos **Rev. Bras. Pl. Med.**, Campinas, v.17, n.1, p.112-119, 2015.

MALAFAIA, A. B. et al.. Indução de obesidade com sacarose em ratos. ABCD. **Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva** (São Paulo), v. 26, n. ABCD, 2013.

MALESZA I.J. et al. High-Fat, Western-Style Diet, Systemic Inflammation, and Gut Microbiota: A Narrative Review. **Cells.** v.10, n.11, p.3164, 2021.

MASCATO, D. R. L. H. et al., Evaluation of Antioxidant Capacity of Solanum sessiliflorum (Cubiu) Extract: An In Vitro Assay. **Journal of Nutrition and Metabolism**. 2015.

MATTARAIA, V. G. de M.; MOURA, A. S. A. M. T. Produtividade de ratos Wistar em diferentes sistemas de acasalamento. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 8, p.1490-1496, ago. 2012.

MAYORAL L. P. Obesity subtypes, related biomarkers & heterogeneity. **Indian J Med Res.** v.151, n.1, p.11-21. 2020.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, L. B.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine Shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituints. **Planta Medica**, v.45, p.31-34, 1982.

MIGUEL, O. G. Ensaio sistemático de análise em fitoquímica. **Apostila da disciplina de fitoquímica do curso de farmácia da UFPR**, Curitiba, 2003.

MUHAMMAD ABDUL KADAR N. N., et al. Caffeic Acid on Metabolic Syndrome: A Review. **Molecules**. 2021.

NASCIMENTO, R. P. et al. The preventive and therapeutic potential of native Brazilian fruits on colorectal cancer**. Food Bioscience**. v. 46, 2022.

NOLAN C.J., PRENTKI M. Insulin resistance and insulin hypersecretion in the metabolic syndrome and type 2 diabetes: Time for a conceptual framework shift. **Diab Vasc Dis Res.** v.2, p.118-127. 2019.

OLIVEIRA, H. P. **Elaboração de nectar de cubíu (*Solanum sessiflorum* Dunal) e avaliação das características físico-químicas e sensoriais durante o armazenamento**. 68 f. Tese (Doutorado)-Universidade do Amazonas, Manaus, 1999.

OSBORNE, D.R.; VOOGT, P. **The analysis of nutrient infoods.** Academic Press, London, p. 156-158, 1978.

PALAFOX-CARLOS H.; YAHIA, E. M.; GONZÁLEZ-AGUILAR, G. A. Identification and quantification of major phenolic compounds from mango (*Mangifera indica*, cv. Ataulfo) fruit by HPLC–DAD–MS/MS-ESI and their individual contribution to the antioxidant activity during ripening. **Food Chemistry** v.135, p. 105–11, 2012.

PALCHETTI M.V., BARBOZA G.E., CANTERO J.J. Solanaceae diversity in South America and its distribution in Argentina. **An Acad Bras Cienc**. v.92, n.2, 2020.
PEREIRA, J. L., ET AL. Ganho de peso e mudanças metabólicas em camundongos adicionados à dieta hiperlipídica. **Ciência & Saúde** , vol. 11, n. 1, p. 51-57, 2018.

PEARSON E. R. Type 2 diabetes: a multifaceted disease. **Diabetologia.** v. 62, n. 7, p. 1107-1112. 2019.

PFEIFFER A.F., KLEIN H.H. The treatment of type 2 diabetes. **Dtsch Arztebl Int**. v.111, n.5, p. 69-81, 2014.

QIAN D, ZHAO Y, YANG G, HUANG L. Systematic Review of Chemical Constituents in the Genus Lycium (Solanaceae). **Molecules**. v.22, n.6, p.911. 2017.

RASOOL, S., KHAN, F. Z., UL HASSAN, S., AHMED, M., AHMED, M., & TAREEN, R. B. Anticonvulsant, antimicrobial and cytotoxic activities of *Berberis calliobotrys* Aitch ex Koehne (*Berberidaceae*). **Tropical Journal of Pharmaceutical Research**, v.14, n.11, p.2031-2039, 2015.

REZENDE, C. P. et al. Alelopatia e suas interações na formação e manejo de pastagens. Boletim Agropecuário, Lavras, n. 54, p.1-55, 2003.

RICE, E. L. Allelopathy. 2nd ed. **New York: Academic Press**, 422 p. 1984.

RUFINO, M. S. M. et al. **Comunicado técnico - metodologia científica: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre DPPH**. Fortaleza: Embrapa, 2007.

SAHU, P. K. et al. An overview of experimental designs in HPLC method development and validation. **Journal Of Pharmaceutical And Biomedical Analysis,** v.l, p.327-345, 2017.

SAKLAYEN, M. G. The Global Epidemic of the Metabolic Syndrome. **Curr Hypertens Rep**. v. 20, n.2, p.12, 2018.

SALEHI B., et al. Antidiabetic Potential of Medicinal Plants and Their Active Components. **Biomolecules**. v.9, n.10, p.551. 2019.

SAMPEY B.P, et al. Cafeteria diet is a robust model of human metabolic syndrome with liver and adipose inflammation: comparison to high-fat diet. **Obesity** (Silver Spring). v.19, n.6, p.1109 - 17. 2011.

SANTANA, L. F. et al. A ingestão de óleo de cártamo (Carthamus Tinctorius L.) aumenta o colesterol total e os níveis de colesterol LDL em um modelo experimental de síndrome metabólica. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, 2017.
SEQUI, S. J. M. Androgenesis in Solanaceae. **Methods in Molecular Biology**, n. 1359, p. 209-44, 2016.

SERENO, A. B., et al. Teor de compostos fenólicos e capacidade antioxidante encontrados na casca do maná-cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal), cultivado na Mata Atlântica Brasileira. **Brazilian Journal of Development**. v.6, n.11, p. 93187–93199. 2020.

SERENO, A.B., et al., Mineral profile, carotenoids and composition of cocona (Solanum sessiliflorum Dunal), a wild Brazilian fruit. **Journal of Food Composition and Analysis**. v.72, p. 32-38. 2018.

SERNA-COCK, L.; VARGAS-MUÑOZ, D. P.; RENGIFOGUERRERO, C. A. Chemical characterization of the pulp, peel and seeds of cocona (solanum sessiliflorum dunal). **Brazilian journal of food technology,** Campinas, v. 18, n. 3, p. 192-198, set. 2015.

SHEHADEH, M.B.; SUAIFAN, G.; ABU-ODEH, A.M. Plants Secondary Metabolites como Blood Glucose-Lowering. **Molecules.** v.26. 2021.

SIGLETON, V. L.; ROSSI, J. A. Colorunetry of total phenolics with phosphomolidic-phosphotungstic acid reagentes. **American jornal of enology and niticulture**. v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SILVA et al. Phytoremediation Potential of Maná-Cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal) for the Deleterious Effects of Methylmercury on the Reproductive System of Rats. **BioMed Research International,** 2014.

SILVA FILHO, D. F. et al. Caracterização e avaliação do potencial agronomico e nutricional de etnovariedades de cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal) da Amazonia. Acta Amazônica, v. 35, n. 4, p. 399-406. 2005.

SILVA FILHO, D. F. **Discriminação de etnovariedades de cubiu (Solanum sessiliflorum Dunal Solanaceae) da Amazônia, com base em suas características morfológicas e químicas.** INPA/UFAM. Manaus, AM. Tese de Doutorado. 117 p. 2002.

SILVA FILHO, D.F. **Cocona (Solanum sessiliflorum Dunal): Cultivo y utilizacion.** Caracas, Venezuela: Secretaria Pro- Tempore. Tratado de Cooperacion Amazonica. 114p. 1998.

SILVA FILHO, D.F.; ANUNCIAÇÃO FILHO, C.J.; NODA, H.; REIS, O.V. Variabilidade genética em populações naturais de cubiu da Amazônia. **Horticultura Brasileira**. v.14, p.9-15, 1996.

SINGH S A, et al.. Junk food-induced obesity- a growing threat to youngsters during the pandemic. **Obes Med.** v.26, p.100364. 2021.

SKALICK, M., NARATH, E., E VIIDIK A. Housing conditions influence the survival and body composition of ageing rats. **Experimental Gerontology**. v.36, n.1, p. 159-170. 2001.

SKYLER J. S., et al. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. **Diabetes**. v.66, n.2, p. 241-255. 2017.

SPINELLI S, MONTELEONE E. Food Preferences and Obesity. **Endocrinol Metab.** (Seoul). v.36, n. 2, p.209-219. 2021.

STEPONKUS, P. L.; LANPHEAR, F. O. Refinement of the triphenyl tetrazolium chloride method of determining cold injury. **Plant Physiology**, v. 42, p. 1423-26, 1967.

SZABO, E. F. et al. Predição do estado da síndrome metabólica com base em parâmetros dietéticos e genéticos, usando Random Forest. **Genes Nutr**. v. 3, 2008.

Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO (4.ª ed.). Campinas: UNICAMP/NEPA. 2017.

TEIXEIRA, N. et al. Edible fruits from Brazilian biodiversity: A review on their sensorial characteristics versus bioactivity as tool to select research. **Food Research International.** v.119, 2019.

TRUJILLO J. et al.Renal damage in the metabolic syndrome (MetSx): Disorders implicated, **European Journal of Pharmacology**. v. 818, p. 554-568. 2018.

WASICKY, R.Uma modificação do aparelho de clevenger para extração de óleos essenciais. **Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo,** v.1, n.1, p. 1-112, 1963.

WEN-SHAN LV, et al. The effect of metformin on food intake and its potential role in hypothalamic regulation in obese diabetic rats. **Brain Research.** v.1444, 2012.

WONG S.K., et al. Animal models of metabolic syndrome: a review. **Nutr Metab** (Lond). v.13, n.65. 2016.

YUSTISIA, I. et al. A high-fat, high-fructose diet induced hepatic steatosis, renal lesions, dyslipidemia, and hyperuricemia in non-obese rats. **Heliyon**. v.8, n.10, 2022.

YUYAMA, L. K. O. et al. Estudo da influência do cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) sobre a concentração sérica de glicose. **Rev Inst Adolfo Lutz,** v. 64, n.2, p.232-236, 2005.

YUYAMA, L. K. O., et al. Quantificação de macro e micro nutrientes em algumas etnovariedades de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Acta Amazónica**, v. 37, n.3, p. 425–430, 2007.

YUYAMA L. K. O. et al. Desenvolvimento e aceitabilidade de geléia dietética decubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) **Cienc. Tecnol. Aliment.,** Campinas, v. 28, n. 4, p. 929-934, out.-dez. 2008.
ZULUETA, A.; ESTEVE, M.; FRIGOLA, A. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. **Food Chemistry.** 2009.

ZINÖCKER M.K. E LINDSETH I.A. The Western Diet-Microbiome-Host Interaction and Its Role in Metabolic Disease. **Nutrients**. v.10, n.3, p.365, 2018.

ANEXOS

ANEXO 1 – AUTORIZAÇÃO DE ACESSO AO PATRIMÔNIO GENÉTICO

3425834357251855

AUTORIZAÇÃO DE ACESSO E DE REMESSA DE AMOSTRA DE COMPONENTE DO PATRIMÔNIO GENÉTICO nº 010004/2015-7

O CONSELHO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO CIENTÍFICO E TECNOLÓGICO - CNPq, credenciado pelo Conselho de Gestão do Patrimônio Genético (CGEN/MMA), por meio da Deliberação CGEN nº 246, de 27 de agosto de 2009, para autorizar instituições nacionais, públicas ou privadas, que exerçam atividades de pesquisa e desenvolvimento nas áreas biológicas e afins, a acessar e remeter amostras de componente do patrimônio genético para fins de pesquisa científica sem potencial de uso econômico, neste ato representado pelo seu Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde, nos termos da Portaria CNPq nº 104/2011, autoriza a instituição abaixo qualificada a acessar e remeter amostras de componentes do patrimônio genético.

Instituição: UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANA - UFPR

CNPJ: 750.956.790/0001-49

Representante Legal: GRACIELA INES BOLZON DE MUNIZ

Cargo/Função: Coordenadora de Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico

CPF: 674.273.759-04 **RG:** 1439535

Projeto: QUALIDADE NUTRICIONAL E FITOQUÍMICA DE FRUTOS DA SOCIOBIODIVERSIDADE

Coordenador do Projeto: Sila Mary Rodrigues Ferreira

CPF: 231.917.400-15 **RG:** 3658868 - SSP / PR

Finalidade do projeto: Mesmo sendo o Brasil um país rico em biodiversidade poucas espécies são estudadas pelos pesquisadores brasileiros. A valorização e a promoção do conhecimento de frutos da nossa biodiversidade é um passo importante para o reconhecimento dessa riqueza e para a Segurança Alimentar e Nutricional da população que utiliza esses frutos como fonte alimentar e de renda. Desta forma, o presente projeto tem como objetivo determinar a qualidade nutricional e fitoquímica de frutos da sociobiodersidade. O delineamento experimental envolverá a coleta de aproximadamente 15 kg de frutas em diferentes estádios. Após a colheita os frutos serão transportados ao laboratório em caixas de embalagens de PEAD. Os frutos serão classificados nos diferentes estádios de maturação, armazenados à temperatura e submetidos à análise física, físico-química e fitoquímica. Após as análises físicas, os frutos serão descascados e as partes separadas (casca, sementes e polpa). Posteriormente serão realizadas as análises físico-químicas, com a fruta in natura, para cada parte (casca, polpa, semente e folhas). Para as análises fitoquímicas as cascas e polpa serão congeladas e liofilizadas. Espera-se que a caracterização dos frutos contribua para o conhecimento, utilização e agregação de valor dos frutos como forma de melhorar a renda das comunidades tradicionais.

Amostras a serem acessadas:

Grupos Taxonômicos: Os frutos avaliados serão: Jacaratia spinosa (Aubl) A.DC, conhecido como Jaracatiá ou mamão do mato; Morus nigra L., amora; Pereskia aculeata Miller, Ora-pro-nobis; Acca sellowiana (Berg) Burret), Goiabinha do Mato; Eugenia pyriformis, Uvaia; Paidium cattleyanum, Araçá; Solanum sessiliflorum, Manacubéu; Syzygium malaccense, Jambo e Passiflora actinia Hook ou maracujá-do-mato ou maracujá-silvestre. Previsão da coleta: Início da coleta: 20 de janeiro de 2015 a Janeiro de 2019

Tipo de material/quantidade de amostras: 15 kg por especie estudada

Local de depósito de subamostra: Museu Botânico Municipal - MBM/MBM

Equipe do projeto: SILA MARY RODRIGUES FERREIRA / CPF 231.917.400-15

OBDULIO GOMES MIGUEL / CPF 230.507.729-72

HELLEN ABREU / CPF 077.941.119-60

CRISTIANE FAGUNDES / CPF 044.504.099-81

IZABELLA CLOTILDE MARINHO DE ABREU / CPF 088.063.809-47

LUIZA BUZATTO SCHEMIKO / CPF 078.320.479-50

JOSIANE DE FATIMA GASPARI DIAS / CPF 719.581.189-15

DEBORA LUISE GUNHA / CPF 052.311.769-82

MONICA DE CALDAS ROSA DOS ANJOS / CPF 889.379.099-87

BRUNA ISADORA TRENNEPOHL / CPF 045.417.729-14

CELLEN GIACOMELLI GROTH LUIZ / CPF 022.763.819-06

Validade da Autorização: 15/01/2015 a 15/01/2019

A instituição acima qualificada deverá enviar ao CNPq, por meio do Coordenador do Projeto, relatório anual sobre o andamento do projeto de pesquisa, nos termos do Decreto nº. 4.946/2003. O roteiro para confecção do relatório está disponível em http://www.cnpq.br/web/guest/relatorio-de-atividades. Os relatórios devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico, para o endereço apg@cnpq.br e, preferencialmente, em formato .pdf.

Esta autorização está vinculada às informações, declarações e termos de compromisso firmados pelo coordenador do projeto e pelo representante legal, constantes do Processo n° 010004/2015-7. Atividades de acesso aos conhecimentos tradicionais associados, de acesso e de remessa de componente do patrimônio genético com finalidade comercial, aplicação industrial, bioprospecção ou desenvolvimento tecnológico não estão autorizadas.

Caso seja identificado uso econômico de produto ou processo, passível ou não de proteção intelectual, originado das amostras de componente do patrimônio genético acessado no âmbito desta autorização, a instituição beneficiada se compromete a adotar as providências cabíveis, nos termos da legislação vigente, junto ao CGEN/MMA.

Se ocorrer coleta de espécie não autorizada ou não identificada, deverá ser observado o que consta no Decreto nº 6.514, de 22/07/2008, no que refere à flora e fauna, e em particular sobre espécies ameaçadas de extinção ou de endemismo estrito.

A remessa de amostra de componente do patrimônio genético deverá ser precedida da assinatura do Termo de Transferência de Material (TTM) ou do Termo de Responsabilidade para Transporte de Amostra de Componente do Patrimônio Genético (TRTM). A remessa para instituições nacionais está isenta de autorização prévia. Contudo, a remessa para instituições sediadas no exterior depende de autorização prévia do CNPq, nos termos das resoluções do CGEN 15/2004 e 20/2006. Os modelos dos termos, assim como as citadas resoluções, estão disponíveis em http://www.cnpq.br/web/guest/remessa-e-transporte e devem ser enviados ao CNPq em meio eletrônico para o endereço apg@cnpq.br, preferencialmente em formato .pdf. Ainda, para a remessa de componente do patrimônio genético para instituição sediada no exterior, deverá ser solicitada ao Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis - IBAMA, por meio de formulário específico e mediante a apresentação de TTM ou TRTM, licença de exportação complementar a autorização de remessa, especialmente quando se tratar de remessa de espécies constantes nos Anexos da Convenção sobre o Comércio Internacional das Espécies da Flora e Fauna Selvagens em Perigo de Extinção (Cites).

Brasília, 07 de Janeiro de 2015

Marcelo Marcos Morales

Diretor de Ciências Agrárias, Biológicas e da Saúde

Para visualizar a versão digital da Autorização de Acesso e de Remessa de Amostra de Componente do Patrimônio Genético, V.Sa. poderá utilizar a ferramenta disponibilizada pelo CNPq para esse fim na página http://servicosweb.cnpq.br/visualizador/ e informar o número do protocolo 3425834357251855 para recuperá-la do banco de dados do CNPq, ou poderá selecionar o arquivo salvo em seu computador (em formato PKCS7). V.Sa. pode também usar outro aplicativo disponível no mercado capaz de reconhecer arquivos no padrão PKCS7 para fazer a visualização e extração do documento.

ANEXO 2 – IDENTIFICAÇÃO DO MUSEU BOTÂNICO MUNICIPAL PARA DEPÓSITO DA EXSICATA NO HERBÁRIO

Prefeitura Municipal de Curitiba
Secretaria Municipal do Meio Ambiente
Departamento de Produção Vegetal
Divisão do Museu Botânico Municipal
Herbário MBM

DECLARAÇÃO

Declaro para os fins que se fizerem necessários que se encontra tombada no herbário do Museu Botânico Municipal de Curitiba (MBM), uma exsicata de planta pertencente à família Solanaceae, cujo nome científico é *Solanum sessiliflorum* Dunal, coletada na localidade Estrada do Rio Pequeno, Município de Antonina, Estado do Paraná, Brasil, coordenadas 25°16'31"S e 48°41'55"W, por Paulo Marceniuk, em 30/01/2016, depositada por Aiane Benevide Sereno, atendendo ao Projeto CNPq nº 010004/2015-7. A referida exsicata foi identificada por Aiane Benevide Sereno, e encontra-se depositada no Herbário MBM sob o nº de registro **379033,** estando à disposição e podendo ser consultada para todas e quaisquer eventualidades.

Curitiba, 04 de julho de 2016

José Tadeu Weidlich Motta
Curador do Herbário MBM
Matr. 35721

Av. Eng. Ostoja Roguski nº 690 - CEP: 80.210-390 - Bairro Jardim Botânico - Curitiba - Paraná
Fone: (41) 3362-1800 Fax: (41) 3264-7365 - e-mail: herbariombm@smma.curitiba.pr.gov.br

ANEXO 3 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) – UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

46
96

Ministério da Educação
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
Setor de Ciências Biológicas
Comissão de Ética no Uso de Animais
(CEUA)

Nº 978 B

CERTIFICADO

A Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná (CEUA/BIO – UFPR), instituída pela Resolução Nº 86/11 do Conselho de Ensino Pesquisa e Extensão (CEPE), de 22 de dezembro de 2011, **CERTIFICA** que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa abaixo especificado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA) estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal.

STATEMENT

The Ethics Committee for Animal Use from the Biological Sciences Section of the Federal University of Paraná (CEUA/BIO – UFPR), established by the Resolution Nº 86/11 of the Teaching Research and Extension Council (CEPE) on December 22nd 2011, **CERTIFIES** that the procedures using animals in the research project specified below are in agreement with the Brazilian Guidelines for Care and Use of Animals for Scientific and Teaching purposes established by the National Council for Control of Animal Experimentation (CONCEA) and with the international guidelines for animal experimentation.

PROCESSO/PROCESS: 23075.122454/2016-38

APROVADO/APPROVAL: 17/10/2017 – R.O. 09/2017

TÍTULO: Caracterização físico-química e análise dos efeitos hipoglicemiantes de manacubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal) e jambo (*Syzygium malaccense L.*) em ratos

TITLE: Characterization and evaluation of hypoglycemic effects of (*Solanum sessiliflorum* Dunal) and rose apples (*Syzygium malaccense L.*) in rats

AUTORES/AUTHORS: Cláudia Carneiro Hecke Krüger, Luciana Gibbert, Aiane Benevide Sereno, Eduardo Gomes de Sousa Neto, Fernando Augusto Lavezzo Dias, Renata Bertin, Elisabeth do Nascimento, Marina Talamini Piltz, Aline Borsato Hauser, Deise Perhs Montrucchio.

DEPARTAMENTO/DEPARTMENT: Nutrição

Profa. Dra. Katya Naliwaiko
Coordenadora da CEUA

ANEXO 4 – CERTIFICADO DE APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) – UNIVERSIDADE POSITIVO

UNIVERSIDADE POSITIVO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Rua Profª Pedro Viriato Parigot de Souza, 5.300
Fone: (41) 3317-3260 ou 3317-3290
Fax: (41) 317-3030
ceua@up.com.br

PROTOCOLO CEUA 501

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA ANALISADO PELO COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA NO USO DE ANIMAIS (CEUA - UP)

IDENTIFICAÇÃO

EFEITO HIPOGLICEMIANTE DE EXTRATOS DE FRUTOS DAS FAMÍLIAS Solanaceae e Myrtaceae EM RATOS COM DIABETES TIPO 2

PROFESSOR ORIENTADOR

THAIS ANDRADE COSTA

INSTITUIÇÃO DO PESQUISADOR

Universidade Positivo

ALUNOS ENVOLVIDOS

Nenhum aluno envolvido

OBJETIVO

Avaliar a ação hipoglicemiante de extrato etanólico de maná-cubiu (Solanum Sessiliflorum Dunal), fisalis (Physallis peruviana), gabiroba (Campomanesia xanthocarpa), jambolão (Syzygium cumini) e jambo vermelho (Syzygium Malaccense Merr & L. M. Perry) em ratos wistar machos com Diabetes Mellitus tipo 2.

- Objetivos específicos:

• Avaliar a influência do extrato de maná-cubiu (Solanum Sessiliflorum Dunal), de fisalis (Physallis peruviana) em resposta glicêmica, parâmetros bioquímicos e hematológicos preliminarmente em modelo animal de diabetes melito tipo 2.

• Avaliar a influência do extrato de gabiroba (Campomanesia xanthocarpa), jambolão (Syzygium cumini) e jambo vermelho (Syzygium Malaccense Merr & L. M. Perry) em resposta glicêmica, parâmetros bioquímicos e hematológicos preliminarmente em modelo animal de diabetes melito tipo 2.

• Avaliar o efeito e a toxicidade de produtos naturais em modelo experimental de diabetes tipo 2 em ratos Wistar machos.

• Comparar o efeito do extrato com o medicamento metformina na resposta glicêmica em ratos Wistar.

SÍNTESE DO PROJETO

UNIVERSIDADE POSITIVO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Rua Profº Pedro Viriato Parigot de Souza, 5.300
Fone: (41) 3317-3260 ou 3317-3290
Fax: (41) 317-3030
ceua@up.com.br

PROTOCOLO CEUA 501

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA ANALISADO PELO COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA NO USO DE ANIMAIS (CEUA - UP)

O ensaio experimental in vivo em animais seguirá o protocolo de indução de diabetes em ratos wistar estabelecido pela Universidade Positivo de Curitiba. Os extratos serão provenientes da Universidade Federal do Paraná. O experimento ocorrerá durante 60 dias, após a indução. Os ratos serão divididos em 13 grupos compostos por 8 grupos em cada grupo, totalizando 104 ratos:
1º: grupo controle saudável (sem a indução da doença);
2º: grupo controle com Diabetes Mellitus tipo 2, sem tratamento;
3º: grupo com diabetes recebendo metformina (300 mg/kg dissolvidos em solução salina);
4º: grupo com diabetes recebendo extrato de maná-cubiu em menor dose (150 mg/kg);
5º: grupo com diabetes recebendo extrato de maná-cubiu em maior dose (300 mg/kg);
6º: grupo com diabetes recebendo extrato de fisalis em menor dose (150 mg/kg);
7º: grupo com diabetes recebendo extrato de fisalis em maior dose (300 mg/kg);
8º: grupo com diabetes recebendo extrato de jambo em menor dose (150 mg/kg);
9º: grupo com diabetes recebendo extrato de jambo em maior dose (300 mg/kg);
10º: grupo com diabetes recebendo extrato de jambolão em menor dose (150 mg/kg);
11º: grupo com diabetes recebendo extrato de jambolão em maior dose (300 mg/kg);
12º: grupo com diabetes recebendo extrato de gabiroba em menor dose (150 mg/kg);
13º: grupo com diabetes recebendo extrato de gabiroba em maior dose (300 mg/kg);
Os ratos utilizados serão provenientes do Biotério da Universidade Positivo e serão mantidos no biotério até a indução completa do Diabetes Mellitus tipo 2, que ocorre durante 24 semanas. Após as 24 semanas de indução de DM 2, os animais passarão a receber os extratos dos respectivos frutos, conforme a divisão de grupos, por um período de 60 dias. Os extratos serão administrados via gavagem oral, uma vez ao dia, com auxílio da contenção mecânica para imobilização momentânea dos animais.
As caixas serão trocadas a cada 2 dias, assim como a água dos bebedouros acrescida de frutose 20%. Os animais permanecerão recebendo a dieta hipercalórica durante a intervenção para que não haja emagrecimento causado pela alteração da dieta ou outros possíveis vieses.
Os animais serão pesados semanalmente e serão submetidos à coleta de sangue para curva glicêmica em 3 momentos: antes do início da administração dos extratos; no 30º dia de tratamento; e no final do experimento, no 60º dia.
O presente projeto seguirá as recomendações éticas determinadas pela lei 11.794 de 2008 (BRASIL 2008) e recomendações do comitê de ética no uso de animais da Universidade Positivo.
Após os 60 dias de experimento, os animais serão mantidos por jejum por 8 horas e serão submetidos à inalação de isoflurano para que posteriormente seja feita a punção cardíaca. Os animais serão pesados semanalmente e serão submetidos a coleta de sangue para curva glicêmica em 3 momentos: antes do início da administração dos extratos; no 30º dia de tratamento; e no final do experimento, no 60º dia.
Se houver sinais clínicos de desconforto ou alterações cardio-respiratórias, neurológicas ou digestivas não previstas, que possam estar comprometendo a qualidade de vida dos animais, esses serão submetidos a eutanásia antes do período previsto de 60 dias de tratamento.
Após a eutanásia serão coletadas amostras do fígado, pulmões, pâncreas, rins e coração para futuras análises bioquímicas e histológicas, visando maximizar o uso de animais e evitar futuro uso animal para experimentos com design similar ao utilizado neste projeto.

COMENTÁRIOS DO RELATOR

Sem comentários adicionais

PARECER

UNIVERSIDADE POSITIVO

COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA
Rua Profº Pedro Viriato Parigot de Souza, 5.300
Fone: (41) 3317-3260 ou 3317-3290
Fax: (41) 317-3030
ceua@up.com.br

PROTOCOLO CEUA 501

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROJETO DE PESQUISA ANALISADO PELO COMISSÃO DE ÉTICA EM PESQUISA NO USO DE ANIMAIS (CEUA - UP)

Recomenda a Aprovação