

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Centro de Desenvolvimento Tecnológico – CDTec
Curso de Graduação em Biotecnologia



Trabalho de Conclusão de Curso

**Investigação do papel preventivo do ácido gálico sobre parâmetros
bioquímicos em modelo animal de resistência à insulina**

Arthur dos Santos Amaro da Silveira

Pelotas, 2019

Arthur dos Santos Amaro da Silveira

**Investigação do papel preventivo do ácido gálico sobre parâmetros
bioquímicos em modelo animal de resistência à insulina**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao
Curso de Bacharelado em Biotecnologia, da
Universidade Federal de Pelotas, como
requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Biotecnologia.

Orientadora acadêmica: Prof^a. Dr^a Francieli Moro Stefanello

Co-orientadora: M^a. Juliane de Souza Cardoso

Pelotas, 2019

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S587i Silveira, Arthur dos Santos Amaro da

Investigação do papel preventivo do ácido gálico sobre parâmetros bioquímicos em modelo animal de resistência à insulina / Arthur dos Santos Amaro da Silveira ; Francieli Moro Stefanello, orientadora ; Juliane de Souza Cardoso, coorientadora. — Pelotas, 2019.

41 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Biotecnologia) — Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas, 2019.

1. Compostos fenólicos. 2. Diabetes mellitus. 3. Dexametasona. 4. Estresse oxidativo. 5. Fígado. I. Stefanello, Francieli Moro, orient. II. Cardoso, Juliane de Souza, coorient. III. Título.

CDD : 616.462

Arthur dos Santos Amaro da Silveira

Investigação do papel preventivo do ácido gálico sobre parâmetros bioquímicos em modelo animal de resistência à insulina

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau em Bacharel em Biotecnologia, Centro de Desenvolvimento Tecnológico, Universidade Federal de Pelotas.

Data da defesa: 27/11/2019

Banca examinadora:

Prof^a. Dr^a. Francieli Moro Stefanello (Orientadora) - Doutora em Ciências Biológicas - Bioquímica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Prof^a. Dr^a. Mayara Sandrielly Pereira Soares - Doutora em Ciências - Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas

M^a. Fernanda Cardoso Teixeira - Mestra em Ciências - Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas

M^a. Natália Pontes Bona - Mestra em Ciências - Bioquímica e Bioprospecção pela Universidade Federal de Pelotas

Agradecimentos

Primeiramente, gostaria de agradecer à minha família, minha mãe Ana, meu pai Attila, minha irmã Ana Alice e meu irmão Caio. Muito obrigado por todo apoio e pelos puxões de orelha, sei que só cheguei aqui por causa de vocês.

Ao meu namorado Pedro, por todo o carinho e apoio nos momentos em que precisei.

Um agradecimento especial ao meu casal de noivos preferido, vocês são uma parte muito especial do que se tornou a minha família.

Aos amigos que me apoiaram durante esta longa jornada, em especial a turma da rua, do CaVG e amizades que fiz durante a graduação, menção a uma pessoa muito especial que conseguiu fazer parte desses três grupos, ao Jean, um grande abraço onde quer que tu estejas!

A minha amiga Lurian, por ter sido uma grande amiga durante e após a sua graduação.

Aos amigos da AIESEC que direta e indiretamente me auxiliaram no meu desenvolvimento pessoal e profissional.

A Juliane Cardoso, por toda assistência e paciência durante o estágio bem como na escrita deste trabalho, sem sua ajuda eu com certeza não estaria me formando. A professora Francieli Stefanello por ter aceitado me orientar frente a situação tão atípica, muito obrigado por ter acreditado em mim. Sem este auxílio eu não conseguiria me formar!

À Universidade Federal de Pelotas, aos professores que foram sempre muito atenciosos e disponíveis e aos funcionários da biotecnologia, em especial à Renata que sempre foi muito solícita e gentil, obrigado pela incrível formação proporcionada.

Muito obrigado!

“– Às vezes, as coisas mais reais só acontecem na imaginação,
Óscar – disse Marina. – A gente só lembra do que nunca
aconteceu.”

(CARLOS RUIZ ZAFÓN)

Resumo

DA SILVEIRA, Arthur dos Santos Amaro. **Investigação do papel preventivo do ácido gálico sobre parâmetros bioquímicos em modelo animal de resistência à insulina.** 2019. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

A resistência à insulina (RI) é caracterizada pela diminuição da ação do hormônio insulina na sinalização aos tecidos sensíveis a ele, como tecido muscular esquelético, tecido adiposo e fígado. O estilo de vida moderno caracteriza-se por um consumo excessivo de alimentos ricos em gordura e carboidratos, além de sedentarismo, fatores que contribuem para o aparecimento de diversas patologias relacionadas a RI, tais como diabetes *mellitus*, obesidade, hipertensão e doenças cardiovasculares. A hiperglicemia causada pela RI está diretamente ligada a formação exacerbada de espécies reativas de oxigênio que acabam superando as capacidades antioxidantes do organismo, estabelecendo-se um quadro de estresse oxidativo. Nesse contexto, o ácido gálico (AG), pertencente à classe dos compostos fenólicos, possui diversas propriedades benéficas à saúde já conhecidas, como antioxidante, anticarcinogênica, anti-inflamatória, antiviral e antibacteriana. Assim, este trabalho objetivou avaliar o efeito do AG sobre parâmetros bioquímicos séricos e sobre a lipoperoxidação hepática em modelo animal de RI induzida por dexametasona. O protocolo utilizado durou 21 dias, onde ratos *Wistar* adultos machos receberam água ou AG (50 mg/kg) por via intragástrica uma vez ao dia, e a RI foi induzida pela aplicação intraperitoneal de dexametasona (1 mg/kg) nos últimos cinco dias de tratamento. Após, os animais foram eutanasiados, o sangue e o fígado coletados. Os resultados deste estudo demonstraram que os animais que receberam dexametasona apresentaram níveis séricos elevados de glicose e triglicerídeos, no entanto o AG foi capaz de prevenir o aumento de ambos os parâmetros bioquímicos. Em relação aos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), marcador de peroxidação lipídica, o grupo dexametasona apresentou níveis aumentados quando comparados aos animais que receberam AG, demonstrando que esse composto tem um papel importante na prevenção da lipoperoxidação. Portanto os resultados encontrados neste estudo mostram que o AG possui importante papel na prevenção da hiperglicemia, da hipertrigliceridemia e da lipoperoxidação encontrados na RI. Esses efeitos sugerem que o uso deste composto fenólico pode ser útil no manejo terapêutico e na prevenção das alterações ocasionadas pela RI.

Palavras-chave: compostos fenólicos; diabetes *mellitus*; dexametasona, estresse oxidativo; fígado.

Abstract

DA SILVEIRA, Arthur dos Santos Amaro. **Investigation of the preventive effect of gallic acid on biochemical parameters in insulin resistance animal model.** 2019. 41f. Trabalho de Conclusão de Curso - Curso de Bacharelado em Biotecnologia. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2019.

Insulin Resistance (IR) is characterized by a decreased effect in the action of the insulin hormone on signaling to tissues responsive to this hormone, such as skeletal muscle tissue, adipose tissue and the liver. The modern lifestyle characterized by excessive consumption of foods rich in fat and carbohydrates in addition to physical inactivity, factors that eventually contributed to the emergence of various pathologies related to IR, such as diabetes *mellitus*, obesity, hypertension, cardiovascular diseases, and others. The hyperglycemia caused by IR is directly linked to an increased production of reactive oxygen species, which eventually overpass the antioxidant capacities of the organism, establishing a picture of oxidative stress. In this context, gallic acid (GA), which belongs to the class of phenolic compound, is well known to have several health beneficial properties, such as antioxidant, anticarcinogenic, anti-inflammatory, antiviral and antibacterial. Thus, this work aims to evaluate the effect of GA on metabolic parameters and lipoperoxidation in animal model of IR dexamethasone induced. The experimental protocol lasted 21 days', where adult male Wistar rats received water or GA (50 mg/kg) orally daily and the IR was induced by intraperitoneal administration of dexamethasone (1 mg/kg) within the last five days of the experiment. After, the animals were euthanized, blood and liver were collected. Our results demonstrated that animals that received dexamethasone had high blood glucose and triglyceride levels; however, GA was able to prevent these alterations. Regarding thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), the group that received dexamethasone presented higher levels when compared to animals that received GA, demonstrating that this compound has an important role in preventing lipoperoxidation. Therefore, the results found in this study showed that GA has an important role on prevention of hyperglycemia, hypertriglyceridemia and lipoperoxidation found in IR. The use of this phenolic compound suggests that it may be useful in the therapeutic management and prevention of occasional changes by IR.

Keywords: dexamethasone; diabetes *mellitus*; liver; oxidative stress; phenolic compounds

Lista de Figuras

| | | |
|----------|--|----|
| Figura 1 | Via de sinalização do hormônio insulina | 15 |
| Figura 2 | Estrutura do ácido gálico | 26 |
| Figura 3 | Efeito do ácido gálico sobre os níveis glicêmicos em soro de animais controle e com RI induzida por dexametasona. | 30 |
| Figura 4 | Efeito do ácido gálico sobre os níveis de triacilgliceróis em soro de animais controle e com RI induzida por dexametasona. | 32 |
| Figura 5 | Efeito do ácido gálico sobre os níveis de TBARS em fígado de animais controle e com RI induzida por dexametasona. | 34 |

Lista de Abreviaturas e Siglas

| | |
|------------------------|--------------------------------------|
| $^1\text{O}_2$ | Oxigênio singleto |
| AG | Ácidos gálico |
| AGE | Produtos finais de glicação avançada |
| AGL | Ácidos graxos livres |
| AKT | Proteína cinase b |
| AVC | Acidente vascular cerebral |
| CAT | Catalase |
| DCV | Doenças cardiovasculares |
| DEX | Dexametasona |
| DM | Diabetes mellitus |
| DM1 | Diabetes mellitus tipo 1 |
| DM2 | Diabetes mellitus tipo 2 |
| DPP-4 | Dipeptidil peptidase 4 |
| EOX | Estresse oxidativo |
| ER | Espécies reativas |
| ERO | Espécies reativas de oxigênio |
| GIP | Peptídeo inibidor gástrico |
| GLP-1 | Peptídeo semelhante ao glucagon 1 |
| GLUT2 | Transportador de glicose 2 |
| GLUT4 | Transportador de glicose 4 |
| GPX | Glutaciona peroxidase |
| GSH | Glutaciona |
| GSK-3 | Glicogênio sintase cinase-3 |
| H_2O_2 | Peróxido de hidrogênio |
| HDL | Lipoproteína de alta densidade |
| $\text{HO}\cdot$ | Radical hidroxila |
| i.p | Intraperitoneal |
| i.v. | Intravenosa |
| IMC | Índice de massa corporal |
| INR | Receptor de insulina |

| | |
|------------------------------|--|
| IRS-1 | Receptor de insulina 1 |
| IRS-2 | Receptor de insulina 2 |
| MDA | Malondialdeído |
| NADPH | Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato |
| O ₂ | Oxigênio |
| O ₂ ^{•-} | Ânion superóxido |
| PDK | Fosfoinosítídeo cinase dependente |
| PI3K | Enzima fosfoinosítídeo-3-cinase |
| PIP2 | Fosfatidilinositol-4,5-Bisfosfato |
| PIP3 | Fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato |
| PKB | Proteína cinase b |
| PKB | Proteína cinase estimulada pela insulina |
| RAGE | Receptores de AGE |
| RI | Resistência à insulina |
| SM | Síndrome metabólica |
| SNC | Sistema nervoso central |
| SOD | Superóxido dismutase |
| STZ | Estreptozotocina |
| TA | Tecido adiposo |
| TBA | Ácido tiobarbitúrico |
| TBARS | Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico |
| TG | Triglicerídeos |
| VLDL | Lipoproteína de muito baixa densidade |

Sumário

| | |
|--|-----------|
| 1. Introdução | 11 |
| 2. Objetivos | 13 |
| 2.1 Objetivo Geral | 13 |
| 2.2 Objetivos Específicos | 13 |
| 3. Revisão Bibliográfica | 14 |
| 3.1 Resistência à insulina..... | 14 |
| 3.2 Modelos experimentais de RI | 20 |
| 3.3 Resistência à insulina e o estresse oxidativo | 21 |
| 3.4 Resistência à insulina e compostos fenólicos | 25 |
| 4. Materiais e métodos | 28 |
| 4.1 Compostos químicos..... | 28 |
| 4.2 Animais..... | 28 |
| 4.2.1 Aspectos éticos | 28 |
| 4.2.2 Protocolo experimental..... | 28 |
| 4.3 Coleta de amostras e Ensaio Bioquímicos | 28 |
| 4.3.1 Níveis glicêmicos e de triglicerídeos em soro..... | 29 |
| 4.3.2 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em fígado | 29 |
| 4.4 Análise Estatística | 29 |
| 5. Resultados e Discussão | 30 |
| 5.1 Níveis glicêmicos..... | 30 |
| 5.2 Níveis de triglicerídeos | 32 |
| 5.3 Lipoperoxidação em fígado | 33 |
| 6. Conclusões | 35 |
| Referências Bibliográficas | 36 |

1. Introdução

A resistência à insulina (RI) refere-se a uma diminuição na resposta metabólica à insulina, hormônio secretado pelas células β pancreáticas, que tem função de estimular a captação celular de glicose (ABDEL-MONEIM et al., 2018). A insulina age no músculo esquelético, no tecido adiposo e no fígado, sendo nesse órgão responsável por inibir a produção endógena de glicose. Quando a resposta à insulina se encontra diminuída tem-se o quadro de RI, que está intimamente ligado ao desenvolvimento de diversas doenças como obesidade, Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2) e a síndrome metabólica (CZECH, 2017).

A DM2, principal consequência da RI, é um distúrbio metabólico crônico que afeta grande parte da população mundial. É caracterizada por hiperglicemia e está associada a uma deficiência parcial ou total na ação ou secreção de insulina (PUNITHAVANI et al., 2011; BAK et al., 2013). A DM2 representa a forma mais predominante de diabetes, sendo responsável por 90 a 95% de todos os casos de Diabetes *Mellitus* (DM). Em todo o mundo, estima-se que o número de pacientes aumente de 221 milhões para cerca de 300 milhões em 2025 (ABDEL-MONEIM et al., 2018).

Vários estudos sugerem que a DM está associada ao estresse oxidativo (EOX), levando a um aumento da produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), além de estar ligada com a redução no *status* antioxidante do organismo, o que pode aumentar os efeitos deletérios dessas espécies (PUNITHAVANI et al., 2011). Sabe-se que a hiperglicemia persistente leva ao aumento da produção de ERO pelas mitocôndrias, local onde a maior parte dessas espécies são produzidas (PATEL et al., 2015). As espécies reativas (ER) podem causar danos a diversas macromoléculas, tais como proteínas, DNA, lipídios, dentre outras. Quando agem nos lipídios causam a lipoperoxidação, podendo ocasionar alterações na estrutura e função de diversas moléculas, e assim desempenhando um papel nas complicações de longo prazo do diabetes (PUNITHAVANI et al., 2011).

Há um interesse crescente em estudar compostos bioativos que possuem propriedades medicinais dentre elas ação hipoglicemiante. Evidências experimentais mostraram que os ácidos fenólicos regulam o metabolismo de carboidratos, podendo ser úteis no manejo da DM (SRINIVASAN et al. 2007; LATHA & DAISY, 2011). Embora

existam variedades de ácidos fenólicos em alimentos e frutas, o ácido cafeico, o ácido ferúlico, o ácido gálico (AG) e o ácido protocatecuico são os mais comuns (IBITOYE & AJIBOYE, 2017).

O AG é um polifenol comumente encontrado no vinho, em diferentes bagas e uvas. Foram declaradas propriedades anti-inflamatórias, anti-hiperlipidêmicas, antioxidantes, antitumorais, anti-hiperglicêmicas e anti-neurodegenerativas do AG (CHOUBEY et al. 2015; ABDEL-MONEIM, 2018). Bebidas que contêm grandes quantidades de AG são consumidas na medicina tradicional devido aos indiscutíveis efeitos benéficos (BAK et al., 2013).

Abdel-Moneim et al. (2017) relatam que o AG atenua parâmetros bioquímicos relacionados à DM2, tais como a redução da hiperglicemia, aumento da insulinemia, e também efeitos antioxidantes em animais diabéticos induzidos por estreptozotocina (STZ). Outro estudo demonstra que o AG melhora a regeneração celular, a secreção de insulina e o perfil lipídico, podendo então ser utilizado para estimular a secreção de insulina e como hipolipidêmico (LATHA & DAISY, 2011).

Estudos utilizando modelos animais de RI permitem avaliar os efeitos de compostos naturais, como o AG, na prevenção de fatores relacionados à essa resistência como hipertensão, obesidade, dislipidemia, DM, dentre outros. Esses compostos em conjuntos com as terapias convencionais podem auxiliar no tratamento destas doenças, bem como melhorar a qualidade de vida dos pacientes (CHOUBEY et al., 2015; SAH et al., 2016; PATEL et al., 2016; CARDOSO, 2017).

2. Objetivos

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos preventivos do AG sobre parâmetros bioquímicos em modelo animal de RI.

2.2 Objetivos Específicos

- Avaliar o efeito de AG sobre os níveis de glicose e triglicerídeos em soro de animais submetidos ao modelo de RI induzida por dexametasona;

- Avaliar o uso de AG em níveis das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em fígado de ratos submetidos ao modelo experimental de RI induzida por dexametasona.

3. Revisão Bibliográfica

3.1 Resistência à insulina

A RI é caracterizada pela diminuição dos efeitos do hormônio insulina na sinalização aos tecidos sensíveis a esse hormônio, como tecido muscular esquelético, tecido adiposo e fígado, que são os principais alvos da ação da insulina no metabolismo da glicose. A RI está ligada ao desenvolvimento da DM2, e geralmente surge anos antes do diagnóstico dessa doença (LAAKSO, 2015).

Uma alta concentração de glicose no sangue, estimula as células β pancreáticas a secretarem insulina, que por sua vez faz com que a glicose seja absorvida pelas células. Com a resistência à ação da insulina há a manutenção dos níveis de glicemia e, para contrabalancear, uma hiperinsulinemia compensatória. RI está ligada a inflamações do tecido adiposo, aumento da dislipidemia e conseqüentemente aumento nos riscos de doenças cardiovasculares (DCV) (LAAKSO, 2015).

A insulina estimula a captação de glicose pelos tecidos periféricos, como o tecido muscular e adiposo, além de atuar na inibição da produção hepática de glicose (gliconeogênese). Também estimula a glicogênese e inibe a glicogenólise. Tem papel importante na regulação do metabolismo de lipídios e proteínas, aumenta a lipogênese no fígado e adipócitos, e reduz a lipólise, em adição age no aumento da síntese e inibe a degradação proteica (CARVALHEIRA, 2002; NELSON & COX, 2014).

Na sua forma circulante, a insulina é um monômero constituído de duas cadeias, A e B, compostas por 21 e 30 aminoácidos, respectivamente, ligadas por duas pontes dissulfetos (DE METYS, 2004). Os reguladores da via de sinalização da insulina, principalmente na translocação do transportador de glicose 4 (GLUT4) para a membrana, mediado pelos substratos do receptor de insulina 1 e 2 (IRS-1 e IRS-2), fosfoinosítideo-3-cinase (PI3K) e proteína cinase B (PKB ou AKT) (DIONÍSIO et al., 2014).

A via de sinalização da insulina (Figura 1) consiste em uma cascata de reações iniciada pela fosforilação da enzima tirosina cinase e ativação do receptor de insulina (InR), que por sua vez transmite um sinal através do IRS 1/2, resultando na ativação da PI3K. A PI3K atua fosforilando o fosfatidilinositol-4,5-bisfosfato (PIP2), transformando-o em fosfatidilinositol-3,4,5-trisfosfato (PIP3), que em níveis elevados

estimula a ativação de fosfoinosítídeo cinase dependente (PDK), que ativa a AKT. A AKT por sua vez tem efeito na translocação das vesículas contendo GLUT4 para a superfície celular. Ao chegar na membrana, o GLUT4 fornece um canal para que a glicose penetre no interior da célula diminuindo a glicemia. Essa proteína é importante na manutenção da regulação da sinalização da insulina, sendo essencial para o crescimento e sobrevivência celular (XU et al., 2014; DE OLIVEIRA, 2016).

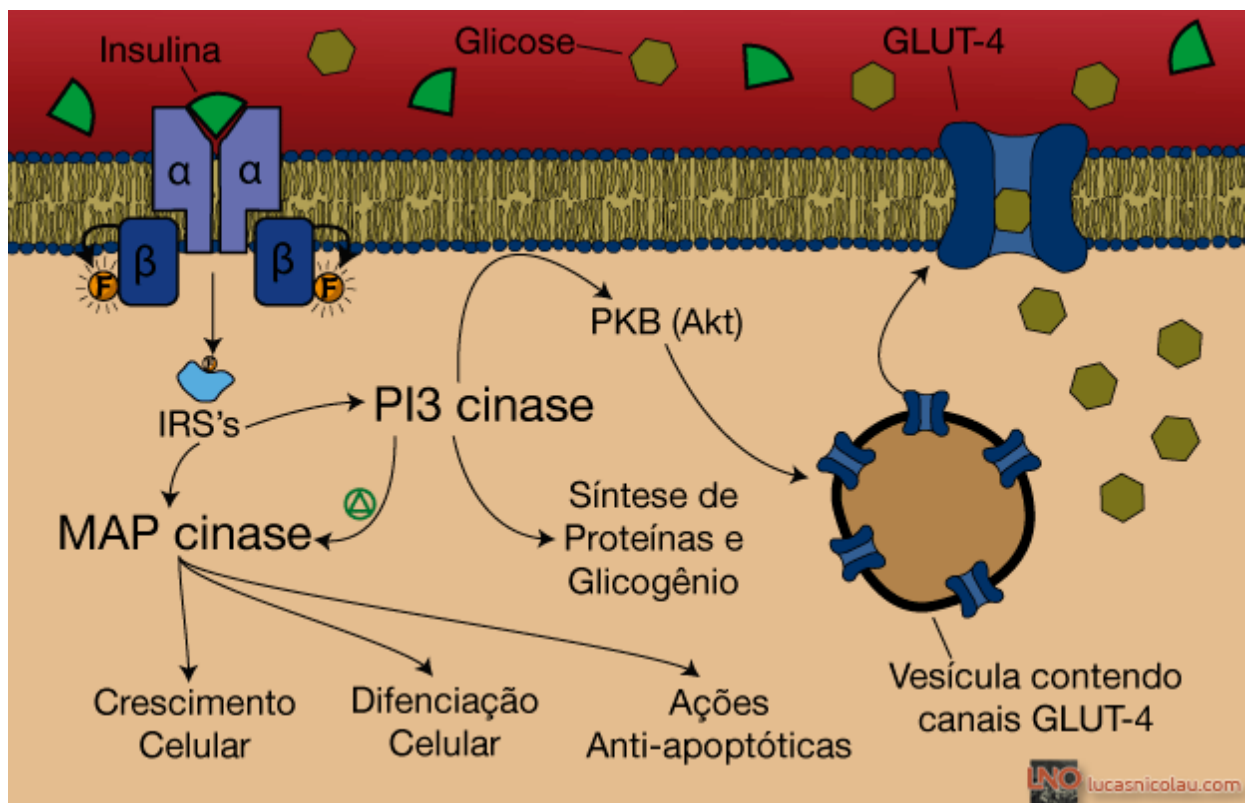


Figura 1: Via de sinalização da insulina (<http://lucasnicolau.com/?v=publicacoes&id=10>)

O GLUT4 é um dos 14 membros da família GLUT de facilitadores do transporte transmembrana de hexose, cada um com uma afinidade e especificidade para distintas hexoses, bem como distribuição única nos tecidos, localização nas células e sua função fisiológica. Tem alta afinidade pela glicose, sendo o principal responsável pela entrada dessa molécula através das membranas da superfície celular, principalmente no tecido muscular (esquelético e cardíaco) e tecido adiposo (branco e marrom), sendo altamente expressos nesses tecidos. Ao contrário de outras isoformas que residem constitutivamente na membrana da superfície celular, o GLUT4 é armazenado intracelularmente. No estado basal, há aproximadamente 5 a 10% do GLUT4 localizado na superfície da célula e >90% nos compartimentos intracelulares.

O transporte de glicose estimulado pela insulina resulta na exocitose regulada de GLUT4 dos locais de armazenamento intracelular para a superfície celular (KRAFT et al., 2015; LETO & SALTIEL, 2012; PLOUG et al., 1998; ZHOU et al., 2017).

Como dito anteriormente, a ativação do receptor de insulina desencadeia uma cascata de eventos de fosforilação que finalmente promovem a exocitose da vesícula GLUT4. Existem diversas evidências que indicam que a AKT e seu substrato, a proteína AS160, garantem a entrega eficiente de GLUT4 para a superfície celular (ZHOU et al., 2017). Porém, a disfunção na regulação da insulina no transporte de GLUT4 está altamente ligada com RI em tecidos periféricos e com DM2 em humanos (ZHOU et al., 2017).

A DM é dividida em duas principais categorias, a diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) e DM2. Na DM1, existe uma deficiência total de insulina, devido à destruição das células β pancreáticas pelo sistema imune, sendo geralmente diagnosticada na infância ou adolescência em pacientes com hiperglicemia e cetoacidose, sendo necessária a administração de insulina exógena. Já a DM2 é representada pela diminuição gradual da secreção de insulina e resistência à sua ação e a maioria dos pacientes diagnosticados possuem fatores em comum, como a obesidade ou sobrepeso, sedentarismo, hipertensão e dislipidemia. A DM2 representa cerca de 90 a 95% dos casos da doença, com maior prevalência em adultos, no entanto, a idade de incidência dessa doença está diminuindo, sendo cada vez mais comuns em crianças e jovens, devido às crescentes taxas de obesidade (KARALLIEDDE & GNUDI, 2016).

Distúrbios macro e microvasculares estão listados como as principais complicações da diabetes, como por exemplo, doença arterial coronária, doença arterial periférica e acidente vascular cerebral (AVC) no grupo dos macrovasculares e retinopatia, neuropatia e nefropatia no grupo dos distúrbios microvasculares (PATEL et al., 2015). Vale ressaltar que a RI é a única variável que é sempre associada a todas as complicações crônicas da DM (POP et al., 2015), sendo responsável por agravar de forma direta ou indireta problemas no sistema musculoesquelético, no sistema digestório, na saúde mental e na função cognitiva, além de ser associada a diversos tipos de câncer (GREGG et al., 2016).

A DM, principal consequência da RI, é uma das doenças mais prevalentes do mundo, sendo que em 2015 estimava-se 415 milhões da população mundial com diabetes enquanto que no Brasil essa estimativa era de 14,3 milhões, considerando

que se tem uma projeção que o número salte para 23,3 milhões e 642 milhões em 2040 no Brasil e mundo, respectivamente (OLIVEIRA et al., 2017).

Atualmente, atribui-se esse número exacerbado de novos casos de DM a um estilo de vida moderno, onde há um consumo excessivo de alimentos ricos em gordura e açúcares simples além de um maior sedentarismo, que acabam tendo como consequência o desenvolvimento de dislipidemia, obesidade e RI (GUSTAFSON et al., 2015). O tecido adiposo (TA) tem um papel crucial na regulação da sensibilidade à insulina através de sua capacidade de armazenamento de lipídios e funções endócrinas e termogênicas. O TA subcutâneo é capaz de armazenar o excesso de lipídios, entretanto quando chega ao seu limite, os lipídios são armazenados em locais que são mais prejudiciais como fígado, tecido cardíaco e músculo esquelético. Esses locais de armazenamento ectópicos de lipídios favorecem consequências metabólicas associadas com RI, como, por exemplo, o aumento da lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), liberação de triglicerídeos (TG) e uma diminuição dos níveis da lipoproteína de alta densidade (HDL) (GUSTAFSON et al., 2015). Ademais, quando existe o acúmulo de gordura visceral, esse tecido hipertrofiado produz citocinas pró-inflamatórias que contribuem para a RI, envolvida na gênese do DM2 e de suas comorbidades (OLIVEIRA et al., 2017).

A obesidade é um dos fatores majoritários para o desenvolvimento da RI, usualmente definida pela análise do índice de massa corporal (IMC), sendo aplicado pela massa em quilogramas dividida pelo quadrado da altura em metros. Com resultados maiores que 30 kg/m² o paciente é considerado obeso (FRANCO, 2017), entretanto o IMC por si só não é marcador sensível de risco individual para alterações metabólicas relacionadas às complicações da obesidade. Então, a análise da circunferência da cintura é bem estabelecida como marcador de acúmulo de gordura visceral ectópica e risco futuro do desenvolvimento de DM2 e DCV (GUSTAFSON et al., 2015).

A associação de obesidade visceral, hipertensão, DM, dislipidemia e RI caracteriza a chamada síndrome metabólica (SM), tendo sido descrita também como síndrome X, síndrome da resistência à insulina, síndrome obesidade-dislipidemia e síndrome plurimetabólica. Indivíduos acometidos por essa síndrome são mais suscetíveis a eventos cardiovasculares, câncer e mortalidade. É de caráter essencial ressaltar que a RI é considerada como fator chave para o desenvolvimento de SM,

uma vez que a RI acaba alterando o metabolismo de carboidratos e lipídeos (CARDOSO, 2017).

Para o diagnóstico da DM2 tem-se alguns testes convencionais: a análise da glicemia em jejum, o teste de tolerância oral a glicose (TOTG) e a hemoglobina glicada (HbA1c) (OLIVEIRA et al., 2017). Contudo, a confirmação requer repetição dos exames alterados, na ausência de sintomas certos de hiperglicemia, como poliúria, polifagia, emagrecimento e polidipsia. Os valores para os testes descritos abaixo são aceitos e adotados pela Sociedade Brasileira de Diabetes. Na glicemia em jejum o sangue periférico deve ser após jejum calórico de no mínimo 8 horas. A glicemia em jejum com valores menores que 110 mg/dL é considerada normal, valores acima até 126 mg/dL o paciente se encontra na faixa de pré-diabetes com risco aumentado para a doença e valores acima de 126 mg/dL é considerada a DM estabelecida. O TOTG inicia-se com a ingestão prévia de 75g de glicose dissolvida em água, coleta-se uma amostra de sangue em jejum para a determinação da glicemia, após 2 horas coleta-se outra amostra. Com valores menores que 140 mg/dL se considera os níveis de glicose normais, acima deste valor até 200, a faixa de pré-diabetes, e, acima de 200 tem-se a DM estabelecida. O diagnóstico pelo teste de HbA1c faz-se pela análise dos níveis de hemoglobina glicada com valores menores a 5,7% o paciente é considerado normoglicêmico, de 5,7 a 6,5% já entra na faixa de pré-diabetes e acima de 6,5% a DM pode ser considerada estabelecida (OLIVEIRA et al., 2017).

O tratamento da DM se dá a partir da prevenção dos danos causados pela RI, como hipertensão, dislipidemias, e também da obesidade (CARDOSO, 2017). Então, inicialmente recomendam-se as mudanças no estilo de vida como reeducação alimentar e atividades físicas com objetivo de reduzir o peso (OLIVEIRA et al., 2017).

Ademais, existe o tratamento medicamentoso com agentes antidiabéticos orais, que são escolhidos a partir do mecanismo desejado de atuação, seguindo as características individuais de cada paciente, tais como idade ou comorbidades (PETERSON, 2018). Uma maneira de dividir os agentes antidiabéticos é a seguinte: aqueles que incrementam a secreção pancreática de insulina; os inibidores das α -glicosidases que reduzem a velocidade de absorção de glicídios; os que diminuem a produção hepática de glicose; e aqueles que exercem efeito incretínico mediado pelos hormônios, peptídeo semelhante a glucagon 1 (GLP-1) e peptídeo inibidor gástrico (GIP), considerados peptídeos insulíntrópicos dependentes de glicose (OLIVEIRA et al., 2017).

Apesar de diversas categorias a metformina é o fármaco mais usado no tratamento de DM, sendo considerada a primeira linha de medicamentos para a terapia. Esse medicamento age na diminuição da produção hepática de glicose melhorando a sensibilidade à insulina e ainda, diminui a dislipidemia (CARDOSO, 2017). Porém o uso de metformina não é indicado quando o paciente apresenta dano renal (PETERSON, 2018).

As sulfonilureias, como a glibenclamida e glimepirida, são medicamentos muito utilizados devido ao seu efeito eficaz e seu baixo custo, agem como secretagogos de insulina incrementando a secreção da mesma. São tratados como fármacos de segunda linha devido aos seus efeitos colaterais, tais como ganho de peso e hipoglicemia, sendo um risco significativo em pacientes com comprometimento renal e idosos, devido a longa ação (PETERSON, 2018).

Outra classe de agentes antidiabéticos são os inibidores da dipeptidil peptidase 4 (DPP-4), conhecidos como gliptinas (que incluem medicamentos como: sitagliptina, vildagliptina, saxagliptina, linagliptina e alogliptina). São relativamente novos e constituem um grupo de medicamentos orais, cujo principal mecanismo de ação é, essencialmente, a inibição da DPP-4 com o objetivo de aumentar a meia vida do GLP-1 endógeno. Esse hormônio está envolvido na estimulação à ação da insulina e atua na supressão da secreção de glucagon, hormônio antagonista da insulina responsável por estimular processos catabólicos no organismo como a glicogenólise e a lipólise. Atua também na indução da gliconeogênese, produção endógena de glicose (OLIVEIRA et al., 2017). Os fármacos inibidores da DPP-4 são eficazes na redução da glicose pós-prandial, sem risco de hipoglicemia, também têm efeitos benéficos como o aumento da sensação de saciedade, diminuindo a ingestão e também ajudando na perda de peso (PETERSON, 2018). Contudo, estes medicamentos foram associados com pancreatite e, portanto, não devem ser prescritos para pacientes com histórico de doença pancreática (YADAV & LOWENFELS, 2013; CHEN et al., 2016).

A terapia com metformina é a mais consistente em relação a resultados quando administrada sozinha, entretanto, diversos pacientes irão necessitar de combinações medicamentosas pois o tratamento deve basear-se nas necessidades individuais, levando em conta fatores como: os resultados desejados, as comorbidades, o grau e o tempo hiperglicêmico, bem como os efeitos benéficos e adversos de cada classe. Das combinações, as mais comuns são a terapia conjunta de metformina, sulfonilureias e um de um inibidor de DPP-4 (PETERSON, 2018).

3.2 Modelos experimentais de RI

A RI é a causa do surgimento de uma série de complicações, sendo a DM a principal delas. No decorrer da doença acabam ocorrendo diversas alterações metabólicas importantes no corpo do paciente e para que se possa intervir, é necessário que se tenha conhecimentos dos processos fisiopatológicos da enfermidade. Nesse âmbito surgem diversas frentes de pesquisa, sendo uma delas as pesquisas com células *in vitro*, que suprem certo grau de exatidão para os estudos, entretanto esse método apresenta diversas limitações que apenas o modelo *in vivo* pode prover, como as interações fisiológicas do organismo e também a conformação espacial em que o tecido se encontra. Portanto os modelos animais são muito importantes para que se possa compreender as causas e consequências da RI, bem como o desenvolvimento de novos tratamentos (BOWE et al., 2014).

Os roedores são os modelos animais mais utilizados nas pesquisas, apresentam inúmeras vantagens frente a outros modelos como seu baixo custo de aquisição e manutenção, apresentam o ciclo reprodutivo relativamente rápido, além de terem boa aceitação ética. Nesse âmbito, ratos e camundongos são modelos de pesquisa bem estabelecidos para pesquisas biomédicas além de haver diversos mecanismos conhecidos para que se possa induzir distúrbios metabólicos (RENNER et al., 2016). Os ratos são animais maiores, então, se tem mais facilidade para procedimentos cirúrgicos e retiradas de sangue para análises que tenham a necessidade de serem mais frequentes, ao passo que já existem técnicas que foram adaptadas para o trabalho com camundongos, mas são extremamente laboriosas devido ao pequeno tamanho do animal (BOWE et al., 2014).

Um dos métodos mais utilizados para indução de DM em animais é com o uso de STZ, um antimicrobiano e agente quimioterápico alquilante, sintetizado por *Streptomyces achromogenes*. É tóxico para as células β pancreáticas, quando administrado via intraperitoneal (i.p.) ou intravenosa (i.v.), para indução de DM. Para indução de diabetes severa é administrado via i.p. ou i.v. 40-50 mg/kg no animal em dose única, quando já for adulto (SAH et al., 2016). Ademais, SRINIVASAN e colaboradores (2005) desenvolveram outra estratégia para modelos animais de DM2, usando STZ em dose menor (35 mg/kg), precedido de uma dieta, de pelo menos 2 semanas, com alta quantidade de gordura.

Ainda, para o desenvolvimento da RI em modelos animais, utiliza-se o glicocorticoide dexametasona, esse tipo de medicamento estimula o aumento tanto da adiposidade quanto da lipólise, levando a níveis elevados de AGL na circulação e um aumento na RI (SAH et al., 2016). Células musculares em contato com glicocorticoides podem sofrer proteólise, liberando aminoácidos que aumentam a RI. Também agem na diminuição da funcionalidade da PKB e fosforilação do glicogênio sintase cinase-3 (GSK-3) e, também bloqueiam completamente a capacidade da insulina de desfosforilar e ativar a glicogênio sintase (RUZZIN et al., 2005).

Em estudo realizado por BIGHETTI et al. (2014) foi demonstrado que a administração de 1 mg/Kg de dexametasona por dez dias consecutivos via i.p. em ratos *Wistar* conseguiu induzir um quadro de RI e também de hiperinsulinemia. Adicionalmente, RAFACHO et al. (2014) demonstraram indução de RI através da administração de 1 mg/Kg de dexametasona em ratos.

3.3 Resistência à insulina e o estresse oxidativo

Os processos metabólicos aeróbicos podem resultar na formação de ERO, que possuem um papel fundamental na fisiologia das células, por exemplo, na sinalização celular e também na via apoptótica (MOURABIT et al., 2019). A nível sistêmico contribuem em funções complexas como a regulação da pressão sanguínea, função cognitiva e imune (BRIEGER et al., 2012). Entretanto, essas moléculas são altamente reativas e um aumento nas suas concentrações leva a reações em cadeia que agem causando danos à proteínas, lipídios, polissacarídeos, RNA e DNA, que por fim, podem desencadear a via intrínseca da apoptose (SLIMEN et al., 2014; MOURABIT et al., 2019). Existem diversas evidências que associam as ERO com numerosos processos patológicos como câncer, envelhecimento, doenças neurodegenerativas, DM2, DCV, dentre outras (WEN et al., 2013).

As ERO são produzidas em grandes quantidades nas mitocôndrias, retículo endoplasmático e peroxissomos (WEN et al., 2013), incluindo enzimas como a NADPH oxidase (BRIEGER et al., 2012), entretanto a maior parte da produção ocorre nas mitocôndrias (RAHAL et al., 2014). Estão incluídas como ERO, todos os metabólitos instáveis de oxigênio (O_2), os quais podem ser divididos em dois grupos: os radicais livres como o ânion superóxido ($O_2^{\cdot-}$), gerado a partir de diversos processos celulares ou pela redução monoelétrica de O_2 , e o radical hidroxila ($HO\cdot$), que é o

mais reativo e danoso às células, uma vez formado o organismo não dispõe de meios para neutralizá-lo; e os não radicais como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), formado pela ação de inúmeras enzimas oxidases *in vivo*, presentes nos peroxissomos, e o oxigênio singlete ($^1\text{O}_2$), estado excitado do oxigênio, que é produzido por reações fotoquímicas ou com outras radiações (VASCONCELOS et al., 2007; RAHAL et al., 2014).

A homeostase do organismo é mantida por um intrincado balanço de produção e neutralização das ERO pelo sistema antioxidante (MOURABIT et al., 2019). Os antioxidantes podem ser classificados em enzimáticos ou não enzimáticos. A ação enzimática se dá pela atuação de enzimas como a superóxido dismutase (SOD) que catalisa a dismutação do radical superóxido e o converte em H_2O_2 e O_2 , a catalase (CAT) que decompõe o H_2O_2 em O_2 e H_2O e por fim, a glutatona peroxidase (GPx), que tem ação sobre peróxidos em geral utilizando a glutatona (GSH) como cofator (VASCONCELOS et al., 2007). A linha de defesa não enzimática se utiliza de compostos como a própria GSH, peptídeos de histidina, além de substâncias adquiridas pela dieta tais como ácido ascórbico (vitamina C), α -tocoferol (vitamina E), β -caroteno (pró-vitamina A) e os compostos fenólicos, se destacando os flavonoides (PIETTA, 2000).

O organismo consegue manter o equilíbrio entre a produção das ERO e o sistema antioxidante, entretanto quando há um desequilíbrio na relação desses, caracteriza-se o chamado EOX. Neste caso existe um predomínio das moléculas oxidantes que causam danos em macromoléculas com consequências clínicas como envelhecimento ou doenças (VASCONCELOS et al., 2007; LIU et al. 2017). Os efeitos mais danosos são aqueles causados ao DNA e RNA, pois caso a cadeia de DNA seja danificada a ponto de quebrar, a célula até consegue recuperá-la, entretanto pode ser ligada de forma errada e alterar a ordem dos pares de bases. Sendo um dos meios de causar mutações que podem desencadear oncogênese. Existe, também o risco de se alterar a ordem de aminoácidos em proteínas, causando a perda de sua atividade. Os danos causados à membrana celular, interferem no transporte transmembrana das moléculas, podendo também ocasionar rompimento da membrana, com extravasamento de conteúdo intracelular, como organelas, levando a formação de produtos tóxicos e até mesmo à morte celular. Nos lipídios presentes no sangue, a oxidação agride as paredes dos vasos sanguíneos, aumentando o acúmulo de lipídios

nesses, tendo como consequência aterosclerose que pode preceder infarto e AVC (BARREIROS et al., 2006; BODEN et al., 2015). O sistema nervoso central (SNC) é particularmente sensível ao dano causado pelas ER por ser rico em ácidos graxos poli-insaturados, apresentar alto consumo de oxigênio e baixa capacidade antioxidante (RAHAL et al., 2014; LIU et al., 2017).

A DM está muito ligada ao fato de o paciente permanecer em estado constante de hiperglicemia resultante da RI, que dentre outras consequências causa um aumento na produção de ERO. Sabe-se que a hiperglicemia pode ocasionar EOX pela ativação da via poliólica, auto-oxidação da glicose, formação de produtos finais de glicação avançada (AGE) e aumento da circulação de AGL (PATEL et al., 2015).

Quando em hiperglicemia, cerca de 35% da glicose é metabolizada pela via dos poliois, que utiliza essa glicose para produção de sorbitol que em seguida é oxidado à frutose. A primeira enzima dessa via, a aldose redutase, utiliza a nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato (NADPH) que é necessária para reduzir a GSH, níveis menores de GSH reduzida posteriormente agravam o estado de EOX (PATEL et al., 2015). Além disso, o acúmulo de sorbitol está ligado ao estresse osmótico que tem relação com a diminuição de GSH e outros supostos antioxidantes como a taurina (GREENE et al., 1999).

Açúcares redutores, como a glicose, reagem não enzimaticamente com grupos amino-proteicos intra e extracelulares, após passar por alguns processos de oxidação e desidratação são formados os compostos dicarbonis, esses por sua vez reagem com grupos amino livres e formam compostos irreversíveis e insolúveis, os AGEs. A cascata de reações de produção desses compostos é conhecida como reação de Maillard (HANSEN, 2011). Os precursores dos AGEs podem induzir uma série de lesões na sua sintetização por diversos mecanismos, como por exemplo, modificação de proteínas e componentes da matriz extracelular, que podem acarretar em alterações da funcionalidade (DOI et al., 1992). Outros danos causados pela formação dos precursores de AGE é a possibilidade que essas moléculas têm de se ligar a receptores de AGE (RAGE) na superfície da membrana das células endoteliais e de macrófagos, resultando na produção de radicais livres e desregulando suas funções (PATEL et al., 2015).

Um produto da autoxidação da glicose e membro da AGE que deve ser citado é o cetoaldeído, que produz H_2O_2 , e também outros oxidantes altamente reativos podendo ser relacionado com o agravamento do EOX induzido pela DM (PATEL et., 2015).

Quando as ER agem nos lipídios, causam a peroxidação lipídica, esse é um complexo processo que envolve a interação de radicais livres derivados de oxigênio com ácidos graxos poli-insaturados resultando em aldeídos altamente reativos. Conforme as doenças neurodegenerativas foram se tornando mais elucidadas, as pesquisas que estabeleciam uma ligação entre esse tipo de dano oxidativo, neurodegeneração e doenças relacionadas se tornaram uma fonte rica de conhecimento à comunidade científica. A oxidação lipídica tem sido altamente relacionada em muitas doenças em humanos, incluindo aterosclerose, câncer, artrite reumatoide e distúrbios neurodegenerativos, como as doenças de Alzheimer e Parkinson, além de doenças metabólicas como DM e RI (REED, 2011; CARDOSO, 2017).

Os tecidos muscular, adiposo e hepático são os mais afetados devido à sobrecarga do acúmulo de lipídios e, portanto, levam à RI periférica. Os AGL circulam e se depositam nos miócitos do músculo esquelético e assim ocorre um acúmulo lipídico intramuscular, que agrava a condição de RI, através da regulação negativa da expressão e da redução do número total de receptores de insulina. O excesso de gordura ativa os macrófagos residentes de TA que secretam citocinas que diminuem a fosforilação da tirosina dos receptores de insulina. Também são ativadas diversas proteínas que dificultam a associação de IRS-1 e PI3K, que causam degradação de IRS-1 e IRS-2. Esses eventos inibem a sinalização da insulina, bem como a translocação do GLUT4 e a captação de glicose, e o EOX também está ligado à carbonilação do GLUT4 no TA o fazendo perder a função. A RI também pode ser desenvolvida devido a um aumento na atividade, bem como na quantidade de enzimas que normalmente reverterem a ação da insulina (BODEN et al., 2015; PATEL et al., 2015).

O malondialdeído (MDA) é identificado como um dos principais produtos da peroxidação lipídica. Existem diversos métodos para mensurar o MDA, porém o mais utilizado é a reação do MDA com ácido tiobarbitúrico (TBA) para produzir um composto corado rosado que pode ser lido em espectrofotômetro, chamado de substância reativa ao ácido tiobarbitúrico (TBARS). A facilidade dessa reação

combinada com a simplicidade do uso de espectrometria visível para quantificar a substância contribuiu para o amplo uso desse método (GHANI et al., 2017).

Para a avaliação da peroxidação lipídica, uma das formas recomendadas é a mensuração dos níveis de TBARS, subprodutos da mesma, causado pelas ERO nas membranas celulares (GHANI et al., 2017). Dessa forma, níveis elevados de TBARS estão relacionados a processos patológicos como RI, DM, aterosclerose e DCV (BEZERRA et al., 2004). A reação de TBARS é apenas uma das múltiplas medidas de avaliação da oxidação/atividade antioxidante, já que a atividade das enzimas antioxidantes como SOD, CAT e GPx também podem ser analisadas. Em estudos com animais, a morfologia e histologia de órgãos também pode ser monitorada (GHANI et al., 2017).

3.4 Resistência à insulina e compostos fenólicos

O tratamento convencional da DM conta com intervenções não farmacológicas, a partir de mudanças no estilo de vida com a introdução de novas dietas e a prática de exercícios físicos e intervenções farmacológicas a partir de medicamentos que podem trazer diversos efeitos colaterais, tais como, hipoglicemia e alterações gastrointestinais (OLIVEIRA et al., 2017). A pesquisa com produtos de origem natural está sendo muito difundida entre os pesquisadores para a descoberta de novos fármacos. Existe um particular interesse no uso de compostos fenólicos por essas substâncias apresentarem aplicações interessantes, como atividade antioxidante e hipoglicemiante, muito úteis no tratamento de doenças como a DM (ABDEL-MONEIM et al., 2018).

O metabolismo dos vegetais pode ser dividido em primário e secundário, sendo o primário composto por rotas metabólicas que são fundamentais em todos os vegetais como, por exemplo, a fotossíntese e a respiração, ao passo que o metabolismo secundário produz substâncias que não estão presentes em todas as plantas. Essas substâncias exercem um papel extremamente importante no desenvolvimento e reprodução assim como estão envolvidas nas condições que a planta interage com o ambiente. Dentro dos metabólitos secundários existem três principais grupos: os alcaloides, terpenos e compostos fenólicos (PERES, 2017).

Os compostos fenólicos apresentam funções diversas nos vegetais, dentre elas contribuir na pigmentação, textura, odor e estabilização oxidativa. Divididos em

flavonoides e não flavonoides, os polifenóis flavonoides são encontrados em praticamente todas as partes das plantas, possuem baixo peso molecular e sua estrutura é composta por anéis aromáticos unidos por três carbonos formando um anel heterocíclico, são exemplos desse tipo as antocianinas, isoflavonas e flavonóis. Já os não flavonoides, que são os ácidos fenólicos, incluem o ácido cafeico e o AG. As frutas com coloração do avermelhado ao azul são ricas fontes destes compostos na alimentação. Além disso o consumo de bebidas com altas concentrações de ácidos fenólicos, como o AG, apresenta indiscutíveis potenciais benéficos (ABE et al, 2007; ANGELO & JORGE, 2007; BAK et al., 2013; CARDOSO, 2017; FERREIRA et al., 2016). A estrutura dos ácidos fenólicos é caracterizada pela presença de um anel benzênico, um grupo carboxílico além de agrupamentos hidroxila ou metoxila, os quais conferem propriedades antioxidantes (LIMA, 2016).

Identificado pela primeira vez em 1786 por Carl Wilhelm Scheele, o AG que também pode ser chamado de 3,4,5-triidroxibenzoico (Figura 2), faz parte do grupo de compostos fenólicos facilmente encontrados em diversos exemplares do reino vegetal, tais como os presentes nas famílias: anacardiaceae, fabaceae e myrtaceae. Também está presente em fungos do gênero *termitomyces* (FERNANDES & SALGADO, 2016). Na forma de cristal, o AG apresenta uma conformação branco amarelada com massa molecular de 170,12 g/mol, ponto de fusão em 250°C e solubilidade em água a 1,1% a uma temperatura de 20°C (CHOUBBEY, 2015).

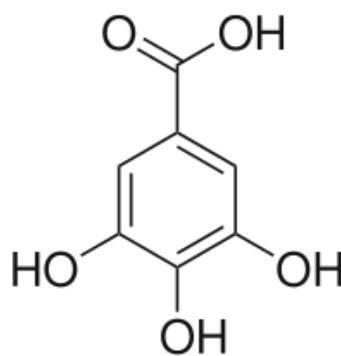


Figura 2: Estrutura do ácido gálico (3,4,5- triidroxibenzoico).

O AG é conhecido por ter propriedades antimutagênicas, anticarcinogênicas, anti-inflamatórias, antivirais, bactericidas, dentre outras. Por sua capacidade antioxidante também foi relacionado como tendo um papel importante na indução de apoptose em linhagens tumorais (CHOUBBEY, 2015). Contudo, o maior interesse por

parte dos pesquisadores a seu respeito é a sua capacidade antioxidante (ABDELMONEIM et al., 2017). Diversas evidências corroboram na sugestão de que o AG possui um potencial benéfico na ação contra a SM, principalmente no efeito antidiabético e sua ação de atenuação da RI (BAK et al., 2013). LATHA & DAISY (2011) demonstraram que o AG administrado em ratos com DM induzida por STZ em concentrações de 5, 10 e 20 mg/kg foi capaz de diminuir o nível de glicose no sangue, bem como provocou um aumento da insulinemia e também uma melhora na regeneração das células β -pancreáticas danificadas, sendo os melhores resultados obtidos com a concentração mais alta.

4. Materiais e métodos

4.1 Compostos químicos

Para o experimento foi utilizado ácido gálico e dexametasona obtidos comercialmente da Sigma Aldrich® Co. (St. Louis, MO, USA).

4.2 Animais

4.2.1 Aspectos éticos

Foram utilizados trinta e dois ratos *Wistar* adultos machos obtidos do biotério central da Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Rio Grande do Sul, Brasil, mantidos em condições apropriadas como: temperatura controlada (21–25°C) com livre acesso a água e ração padrão sob um ciclo de luz 12/12h, claro e escuro.

Todos os procedimentos foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas, sob protocolo/número 5747/2015.

4.2.2 Protocolo experimental

Para esse estudo os animais foram divididos em quatro grupos:

Grupo I: controle/água;

Grupo II: controle/AG;

Grupo III: dexametasona/água;

Grupo IV: dexametasona/AG.

Durante 21 dias os animais receberam água ou AG (50 mg/kg) por gavagem uma vez ao dia. A RI foi induzida através de injeção i.p. de dexametasona (1 mg/kg) nos últimos cinco dias de tratamento.

4.3 Coleta de amostras e Ensaio Bioquímicos

Após os 21 dias de tratamento, os animais foram submetidos à eutanásia. O sangue foi coletado e centrifugado a 3500 rpm por 15 minutos e o soro armazenado a -80°C para posterior análise dos parâmetros bioquímicos. O fígado foi retirado e armazenado a -80°C para análise dos níveis de TBARS.

4.3.1 Níveis glicêmicos e de triglicerídeos em soro

A glicemia e os níveis de TG foram avaliados em soro utilizando kits comerciais (Labtest, MG, Brasil).

4.3.2 Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) em fígado

A mensuração dos níveis de TBARS foi realizada conforme o método descrito por OHKAWA et al. (1979).

4.4 Análise Estatística

Os dados foram analisados utilizando o software GraphPad Prism 5.0 através de ANOVA de uma via seguida de teste post hoc de Tukey, considerando $P < 0,05$ como diferença significativa.

5. Resultados e Discussão

5.1 Níveis glicêmicos

Na figura 3 é possível observar um aumento da glicemia no grupo dexametasona/água (grupo III) em comparação ao grupo controle (grupo I) ($P > 0,001$), por outro lado pode-se notar que houve a prevenção desse aumento pelo AG ($P > 0,05$), demonstrando um efeito anti-hiperglicêmico desse composto.

Corroborando com esses achados, PUNITHAVATHI et al (2011) demonstraram que a administração de AG por 21 dias preveniu a hiperglicemia observada nos ratos diabéticos. Esses resultados podem ser explicados pelo aumento nos níveis de insulina plasmática também descrito nesse estudo.

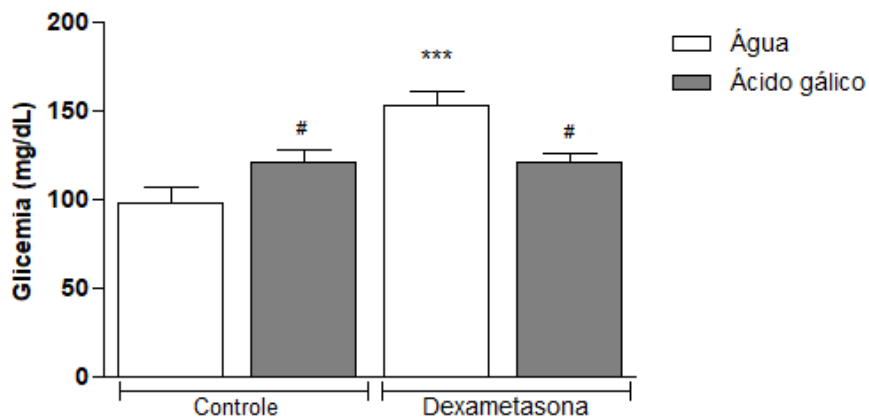


Figura 3: Efeito do ácido gálico sobre os níveis glicêmicos em soro de animais controle e com RI induzida por dexametasona. Dados expressos como média \pm E.P. (n =5-7). (***) Significa $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle/água (#) Significa $P < 0,05$ quando comparado ao grupo dexametasona/água.

HUANG et al. (2018) reportaram que o AG reduz a hiperglicemia por ter um efeito atenuante da RI, um efeito supressor na inflamação do tecido hepático e por melhorar o metabolismo anormal de carboidratos no fígado, além de induzir a inibição da gliconeogênese e aprimorar as vias da glicogênese e glicólise hepática. Além disso, HUANG et al. (2018) demonstraram que o AG também regulou a expressão de diversas proteínas relacionadas à sinalização da insulina, como IRS-1, PI3K, InR, AKT/PKB, GLUT2. O composto fenólico também inibiu a expressão de proteínas relacionadas à gliconeogênese hepática, como a frutose-1,6-bifosfatase, e estimulou a expressão de proteínas ligadas a glicogênese e glicólise hepática. Achados que

indicam um grande potencial do AG na prevenção e tratamento da DM (HUANG et al., 2018).

Estudo de IBITOYE & AJIBOYE (2017), realizado com ratos *Wistar* alimentados com uma dieta com grandes quantidades de frutose por seis semanas, demonstrou que os ácidos fenólicos (40 mg/kg), como o ácido cafeico, ácido ferúlico, AG e ácido protocatecuico, foram capazes de reduzir a glicemia e também aumentar a insulina no plasma sanguíneo.

Em outro estudo, a administração i.p. de AG em camundongos (10 mg/kg), por duas semanas, foi capaz de diminuir a glicemia. Os níveis de insulina não apresentaram diferenças entre os grupos tratados e controle. Também foi demonstrado que o AG estimula a fosforilação da AKT no TA branco, indicando que o composto ativa a cascata de sinalização dessa proteína. Ainda, o AG não alterou o consumo alimentar e peso corporal dos animais, bem como o peso dos tecidos (BAK, et al., 2013).

Ainda, pesquisadores demonstraram que AG extraído de frutos de *T. bellerica* foi capaz de induzir a regeneração das células β e também atuou na conversão de pró-insulina em insulina em ratos diabéticos induzidos por STZ. A hiperglicemia foi reduzida pela administração de AG, provavelmente devido à potencialização da liberação de insulina das células existentes de ilhotas de Langerhans, como evidenciado pelo aumento do nível de insulina (LATHA & DAISY, 2011).

GHANI et al. (2014) realizaram um estudo em que a administração de AG demonstrou controle significativo dos níveis de glicose após as refeições, juntamente com a rápida diminuição da glicemia em comparação com o grupo diabético. Também mostraram que a suplementação de AG em ratos diabéticos causou uma redução significativa na insulina plasmática em comparação com os ratos não tratados, significando que o composto fenólico atenuou a RI, possivelmente devido a um aumento da sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos.

Pode-se entender que o AG tem um papel importante na regulação da glicose, bem como na melhora da sensibilidade à insulina nos tecidos periféricos. Portanto, sendo um possível agente antidiabético que pode auxiliar o tratamento da RI relacionada à DM2 e suas complicações secundárias.

5.2 Níveis de triglicerídeos

O uso de dexametasona ocasionou um acentuado aumento nos níveis de TG, como pode ser observado no gráfico abaixo (Figura 4) ao comparar-se o grupo dexametasona/água (grupo III) com o grupo controle (grupo I) ($P > 0,001$). Entretanto, os animais que receberam AG (Grupo II e IV) apresentaram níveis significativamente menores ($P > 0,001$) em comparação ao grupo dexametasona (grupo III).

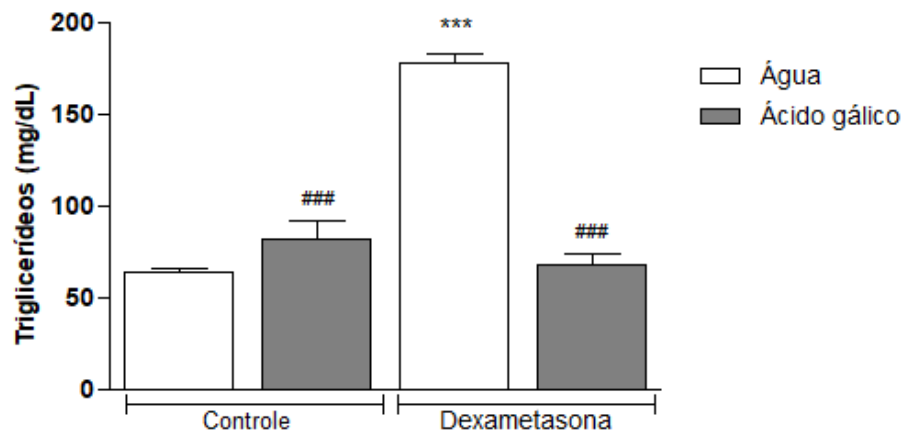


Figura 4: Efeito do ácido gálico sobre os níveis de triglicerídeos em soro de animais controle e com RI induzida por dexametasona. Dados expressos como média \pm E.P. ($n = 3-4$). (***) Significa $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle/água. (###) Significa $P < 0,001$ quando comparado ao grupo dexametasona/água.

Segundo IBITOYE & AJIBOYE (2017) níveis elevados de colesterol total, TG, LDL e VLDL e redução de HDL, são reportados em ratos alimentados com dieta altamente calórica, e essa desregulação no metabolismo de lipídios pode ser associada com o desenvolvimento de DCV e aterosclerose. Os ácidos fenólicos já foram descritos como agentes capazes de regular o metabolismo de lipídios em modelos de diabetes. Dados obtidos pelos pesquisadores mostram que os níveis de TG diminuíram com o tratamento com AG, corroborando com os resultados do presente estudo. É dito também que os ácidos fenólicos, como o AG, são capazes de reverter os parâmetros lipídicos em ratos com dieta altamente calórica (IBITOYE & AJIBOYE, 2017).

BAK et al. (2013) apresentam dados em que o AG atua diretamente no TA, diminuindo o tamanho dos adipócitos nos animais tratados, enquanto os animais do grupo controle apresentavam os adipócitos hipertrofiados. Além disso, o tratamento com AG reduziu a concentração sérica de TG, implicando em uma atividade hipolipidêmica, importante constatação para o tratamento da RI, pois concentrações

aumentadas de TG representam uma das características mais importantes da RI. Os pesquisadores relatam também que o TA apresenta um importante papel no metabolismo de lipídios e, embora a obesidade esteja intimamente ligada a doenças como DM e aterosclerose, foi demonstrado que o TA composto por adipócitos de tamanho reduzido tem efeitos antidiabéticos (BAK et al., 2013).

Além disso, o AG promove a melhora da sensibilidade à insulina no TA e, por conseguinte, a maior captação de glicose, reduzindo assim a glicemia e a formação de TG (HUANG et al, 2018).

Anormalidades no perfil lipídico são uma das complicações mais comuns da DM. A deficiência insulínica causa um aumento na mobilização de AGL no TA resultando na produção de LDL e um aumento da dislipidemia. LATHA & DAISY (2011) descreveram que o tratamento com AG isolado do extrato dos frutos de *T. bellerica* apresentou uma melhora no perfil lipídico pela redução sérica de colesterol total, TG e LDL, ao mesmo tempo que aumentou a produção de HDL.

Todos esses estudos corroboram com os resultados apresentados no presente trabalho, demonstrando que o AG é um agente importante na redução da concentração de TG no sangue.

5.3 Lipoperoxidação em fígado

No gráfico abaixo (Figura 5) pode-se notar que os níveis de TBARS estão aumentados no grupo dexametasona/água (grupo III) em relação ao grupo controle (grupo I) ($P < 0,001$). No entanto, nos grupos tratados com AG houve uma prevenção da lipoperoxidação evidenciada por níveis menores de TBARS tanto no grupo dexametasona/AG (grupo IV) ($P < 0,05$) quanto no grupo AG/água (grupo II) ($P < 0,001$) quando comparados ao grupo dexametasona/água (grupo III).

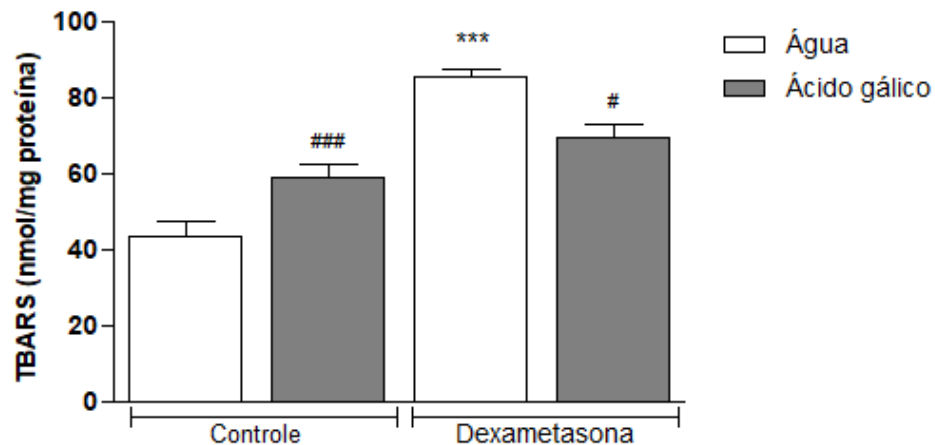


Figura 5: Efeito do ácido gálico sobre os níveis de TBARS em fígado de animais controle e com RI induzida por dexametasona. Dados expressos como média \pm E.P. (n =4). (***) Significa $P < 0,001$ quando comparado ao grupo controle/água. (###) Significa $P < 0,001$ e (#) Significa $P < 0,05$ quando comparado ao grupo dexametasona/água.

PUNITHAVATHI et al (2011), em seu estudo, obtiveram resultados semelhantes em que o AG não só preveniu a formação de TBARS no pâncreas, como também aumentou a atividade de enzimas antioxidantes. Os níveis de TBARS e de hidroperóxidos lipídicos foram aumentados significativamente ao passo que a atividade das enzimas SOD, CAT e GPx foram diminuídas nos ratos diabéticos induzidos por STZ. O tratamento oral com AG (10 e 20 mg/kg) por 21 dias apresentou efeitos significativos nos parâmetros bioquímicos estudados. A histopatologia do pâncreas confirmou os efeitos protetores do AG. Os resultados foram mais efetivos na dose de 20 mg/kg. Posteriores testes *in vitro* realizados por PUNITHAVATHI et al. (2011) demonstraram que o AG é um poderoso agente antioxidante.

Estudos indicam que o AG tem efeitos protetores no fígado, em diversos parâmetros bioquímicos, tais como, produtos de liperoxidação hepática, compostos de glicoproteínas e lipídios em ratos diabéticos induzidos por STZ (BAK et al, 2013). Além disso, ácidos fenólicos são capazes de reverter alterações nos biomarcadores de EOX em ratos alimentados com dieta rica em frutose (IBITOYE & AJIBOYE, 2017).

Resultados obtidos pelos estudos mencionados acima demonstram que o AG tem potencial para recuperar a integridade das células das ilhotas de Langerhans, bem como preservá-las dos danos causados pelo EOX (LATHA & DAISY, 2011).

6. Conclusões

Neste estudo foram encontrados resultados que confirmam as propriedades do AG na prevenção da hiperglicemia, da hipertrigliceridemia e da lipoperoxidação encontrados na RI, e posteriormente na DM podendo se tornar um potencial alvo para o desenvolvimento de novas terapias, bem como de estudos posteriores com o objetivo de elucidar dos mecanismos de ação desse composto.

Sendo assim os efeitos obtidos pelo AG sugerem que o uso desse composto fenólico pode ser útil no manejo terapêutico e na prevenção das alterações ocasionadas pela RI.

Referências Bibliográficas

- ABE, L.T.; DA MOTA R.V.; LAJOLO, F.M.; GENOVESE M.I. Compostos fenólicos e capacidade antioxidante de cultivares de uvas *Vitis labrusca* L. e *Vitis vinifera* L. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v. 27, p. 394-400, 2007.
- ABDEL-MONEIM, A.; EL-TWAB, S.M.A; YOUSEF, A.I.; REHEIM, E.S.A.; ASHOUR, M.B. Modulation of hyperglycemia and dyslipidemia in experimental type 2 diabetes by gallic acid and p-coumaric acid: The role of adipocytokines and PPAR γ . **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 105, p. 1091–1097, 2018.
- ABDEL-MONEIM, A., YOUSEF, A. I., ABD EL-TWAB, S.M., REHEIM, E.S.A., & ASHOUR, M. B. Gallic acid and p-coumaric acid attenuate type 2 diabetes-induced neurodegeneration in rats. **Metabolic Brain Disease**, v. 32, p. 1279–1286, 2017.
- ANGELO, P.M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista Instituto Adolfo Lutz**, v. 66, p. 1-9, 2007.
- BAK, E.-J.; KIM, J.; JANG, S.; WOO, G.-H.; YOON, H.-G.; YOO, Y.-J.; CHA, J.-H. Gallic acid improves glucose tolerance and triglyceride concentration in diet-induced obesity mice. **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, v. 73, p. 607–614, 2013.
- BARREIROS, A.L.B.S.; DAVID, J.M.; Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, v. 29, p. 113-123, 2006.
- BIANCHI, M. de L.P. & ANTUNES, L.M.G. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. **Revista de Nutrição**, v. 12(2), p. 123-130, 1999.
- BEZERRA, F.J.L.; REZENDE, A.A.; RODRIGUES, S.J.; ALMEIDA, M.G. Thiobarbituric acid reactive substances as an index of lipid peroxidation in sevoflurane-treated rats. **Revista Brasileira de Anestesiologia**, v.64, p. 640-649, 2004.
- BODEN, G.; HOMKO, C.; BARRERO, C.A.; STEIN, T.P.; CHEN, X.; CHEUNG, P. FECCHIO, C.; KOLLER, S.; MERALI, S. Excessive caloric intake acutely causes 55 oxidative stress, GLUT4 carbonylation, and insulin resistance in healthy men. **Science Translational Medicine**, v. 7, 2015.
- BOWE, J.E.; FRANKLIN, Z.J.; EVANS, A.C.H.; KING, A.J.; PERSAUD, S.J.; JONES, P.M. Assessing glucose homeostasis in rodent models. **Metabolic Phenotyping Guidelines**, v. 222, p. 13-25, 2014.
- BRIEGER, K.; SCHIAVONE, S.; MILLER, J.; & KRAUSE, K. Reactive oxygen species: from health to disease. **Swiss Medical Weekly**, v. 142, p. 1-14, 2012.
- CARDOSO, J.S. **Investigação do papel protetor de *Eugenia uniflora* e *Psidium cattleianum* sobre alterações metabólicas e oxidativas em modelo animal de resistência à insulina**. 2017, 66 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e

Prospecção) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Prospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

CARVALHEIRA, J.B.C.; ZECCHIN, H.G.; SAAD, M.J.A. Vias de sinalização da insulina. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v. 46, p. 419-425, 2002.

CHEN, M.; LIU, Y.; JINJ.; HE, Q. The efficacy and safety of dipeptidyl peptidase-4 inhibitors for treatment of type 2 diabetes mellitus patients with severe renal impairment: a meta analysis. **Renal Failure**, v. 38, p. 581-587, 2016.

CHOUBEY, S.; VARUGHESE, L.R.; KUMAR, V.; BENIWAL, V. Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: a patent review. **Pharmaceutical Patent Analyst**, v. 4, p. 305-315, 2015.

CZECH, M. P. Insulin action and resistance in obesity and type 2 diabetes. **Nature Medicine**, v. 7, p. 804–814, 2017.

DE OLIVEIRA, L. N. Resistência Insulínica. 2016. Disponível em <<https://lucasnicolau.com/?v=publicacoes&id=10>> Acessado em: 01 de outubro de 2019.

DE METYS, P. Insulin and its receptor: structure, function and evolution. **BioEssays**, v. 26, p. 1351-1362, 2004.

DIONÍSIO, T.J.; LOUZADA, J.C.A.; VISCELLI, B.A.; DIONÍSIO, E.J.; MARTUSCELLI, A.M.; BAREL, M. et al. Aerobic Training Prevents Dexamethasone-Induced Peripheral Insulin Resistance. **Hormone and Metabolic Research**, v. 46, p. 484-489, 2014.

DOI, T., VLASSARA, H., KIRSTEIN, M., YAMADA, Y., STRIKER, G. E., & STRIKER, L. J. Receptor-specific increase in extracellular matrix production in mouse mesangial cells by advanced glycosylation end products is mediated via platelet-derived growth factor. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 89(7), p. 2873–2877, 1992.

FERREIRA, T.S.; HELDWEIN, A.B.; DOS SANTOS, C.O.; SOMAVILLA, J.C.; SAUTTER, C.K. Substâncias fenólicas, flavonoides e capacidade antioxidante em ervaes sob diferentes coberturas do solo e sombreamentos. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.18, n.2, p. 588-596, 2016.

FERNANDES, F.H.A. & SALGADO, H.R.N. gallic acid: review of the methods of determination and quantification. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 46, p. 257-265, 2016.

FRANCO, M.R.G.; COLUGNATI, F.A.B.; QURESHI, A.R.; DIVINO-FILHO, J.C.; FERNANDES, N.M.S. O impacto da variação do índice de massa corporal (IMC) na mortalidade de pacientes idosos incidentes em diálise peritoneal. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**. v.39, p. 267-274, 2017.

GHANI, M.A., BARRIL, C., BEDGOOD, D.R., PRENZLER, P.D. Measurement of antioxidant activity with the thiobarbituric acid reactive substances assay. **Food Chemistry**, v. 230, p. 195-207, 2017.

GREGG, E.W.; SATTAR, N.; ALI, M.K. The changing face of diabetes complications. **Lancet Diabetes Endocrinology**, v. 4, p. 537–547, 2016.

GREENE, D.A.; STEVENS, M.J.; OBROSOVA, I.; FELDMAN, E.L. Glucose-induced oxidative stress and programmed cell death in diabetic neuropathy. **European Journal of Pharmacology**, v. 375, p. 217–223, 1999.

GUSTAFSON, B.; HEDJAZIFAR, S.; GOGG, S.; HAMMARSTEDT, A.; SMITH, U. Insulin resistance and impaired adipogenesis. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, v. 26, p. 193-200, 2015.

HANSEN, F. **Efeitos do metilglioxal sobre o metabolismo energético, parâmetros de estresse oxidativo e astrogliais em células de glioma C6**. 2011, 112 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Pós-Graduação em Ciências Biológicas. UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL, Porto Alegre, 2011.

HUANG, D.-W.; CHANG, W.-C.; WU, J. S.-B.; SHIH, R.-W.; SHEN, S.-C. Gallic acid ameliorates hyperglycemia and improves hepatic carbohydrate metabolism in rats fed a high-fructose diet. **Nutrition Research**, v. 36, p. 150–160, 2016.

IBITOYE, O.B. & AJIBOYE, T.O. Dietary phenolic acids reverse insulin resistance, hyperglycaemia, dyslipidaemia, inflammation and oxidative stress in high-fructose diet-induced metabolic syndrome rats. **Archives of Physiology and Biochemistry**, p. 1-8, 2017.

KARALLIEDDE, J.; GNUDI, L. Diabetes mellitus, a complex and heterogeneous disease, and the role of insulin resistance as a determinant of diabetic kidney disease. **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 31, p. 206-213, 2014.

KRAFT, T.E.; HRESKO, R.C.; HRUZ, P.W. Expression, purification, and functional characterization of the insulin-responsive facilitative glucose transporter GLUT4. **Protein Science**, v. 24, p. 2008-2019, 2015.

LAAKSO, M. Is Insulin Resistance a Feature of or a Primary Risk Factor for Cardiovascular Disease? **Current Diabetes Reports**, v. 15, p. 104-112, 2015.

LATHA, R.C.R; DAISY, R. Insulin-secretagogue, antihyperlipidemic and other protective effects of gallic acid isolated from *Terminalia bellerica* Roxb. in streptozotocin-induced diabetic rats. **Chemico-Biological Interactions**, v. 189, p. 112–118, 2011.

LETO, D.; SALTIEL, A.R. Regulation of glucose transport by insulin: traffic control of GLUT4. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v. 13(6), p. 383-396, 2012.

LIMA V.N., OLIVEIRA-TINTINO, C.D.M.; SANTOS, E.S.; MORAIS, L.P.; TINTINO, S.R.; FREITAS, T.S.; GERALDO, Y.S.; PEREIRA, R.L.S.; CRUZ, R.P.; MENEZES,

I.R.A.; COUTINHO, H.D.M. Antimicrobial and enhancement of the antibiotic activity by phenolic compounds: Gallic acid, caffeic acid and pyrogallol. **Microbial Pathogenesis**, v. 99, p. 56-61, 2016.

LIU, Z.; ZHOU, T.; ZIEGLER, A. C.; DIMITRION, P.; ZUO, L. Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: From Molecular Mechanisms to Clinical Applications. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2017, p. 1-11, 2017.

MOURABIT, S.; FITZGERALD, J.A.; ELLIS, R.P.; TAKESONO, A.; PORTEUS, C.S.; TRZNADEL, M.; METZ, J.; WINTER, M.J.; KUDOH, T.; TYLER, C.R. New insights into organ-specific oxidative stress mechanisms using a novel biosensor zebrafish. **Environment International**, v. 133, p. 1-9, 2019.

NELSON, D. L.; COX, M. Regulação hormonal e integração do metabolismo em mamíferos. In: NELSON & COX. **Lehninger – Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2014, p. 951-960.

OHKAWA H, OHISHI N, YAGI K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. **Annual Review Medicine**, v. 95, p. 351-358, 1979.

OLIVEIRA, J.E.P.; FOSS-FREITAS, M.C.; JUNIOR, R.M.M.; VENCIO, S. Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes (2017-2018). Editora Clannad, 2017. Disponível em <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf> Acessado em: 01 de novembro de 2018.

PATEL, T.P.; RAWAL, K.; BAGCHI, A.K.; AKOLKAR, G.; BERNARDES, N.; DIAS, D.S.; GUPTA, S.; SINGAL, P.K. Insulin resistance: an additional risk factor in the pathogenesis of cardiovascular disease in type 2 diabetes. **Heart Failure Reviews**, v. 21, p. 11-23, 2015.

PERES, L.E.P.; Metabolismo Secundário das Plantas. 2017. Disponível em <<https://www.oleosessenciais.org/metabolismo-secundario-das-plantas/#>> Acessado em: 20 de maio de 2019.

PETERSON, C.J. Second steps in managing type 2 diabetes. **Australian Prescriber**, v. 41, p 141-144, 2018.

PIETTA, P. Flavonoids as Antioxidants. **Journal of Natural Products**, v. 63(7), p. 1035–1042, 2000.

PLOUG, T.; DEURS, B.V.; AI, H.; CUSHMAN, S.W.; RALSTON, E. Analysis of GLUT4 Distribution in Whole Skeletal Muscle Fibers: Identification of Distinct Storage Compartments That Are Recruited by Insulin and Muscle Contractions. **The Journal of Cell Biology**, v. 142, p. 1429-1446, 1998.

POP, A.; CLENCIU, D.; ANGHEL, M.; RADU, S.; SOCEA, B.; MOTA, E.; MOTA, M.; PANDURU, M.N. Insulin resistance is associated with all chronic complications in type 1 diabetes. **Journal of Diabetes**, v. 8, p220-228, 2015.

PUNITHAVATHI, V.R.; PRINCE, P.S.M.; KUMAR, R. SELVAKUMARI, J. Antihyperglycaemic, antilipidic peroxidative and antioxidante effects of gallic acid on

streptozotocin induced diabetic Wistar rats. **European Journal of pharmacology**, v. 650, p. 465-471, 2011.

RAHAL, A.; KUMAR, A.; SINGH, V.; YADAV, B.; TIWARI, R.; CHAKRABORTY, S.; DHAMA, K. Oxidative Stress, Prooxidants, and Antioxidants: The Interplay. **BioMed Research International**, v. 2014, p. 1-19, 2014.

REED, T. T. Lipid peroxidation and neurodegenerative disease. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 51, p. 1302–1319, 2011.

RENNER, S.; DOBENECKER, B.; BLUTKE, A.; ZÖLS, S.; WANKE, R.; RITZMANN, M.; WOLF, E. Comparative aspects of rodent and nonrodent animal models for mechanistic and translational diabetes research. **Theriogenology**, p. 1–16, 2016.

RUZZIN, J.; WAGMAN, A.S.; JENSEN, J. Glucocorticoid-induced insulin resistance in skeletal muscles: defects in insulin signalling and the effects of a selective glycogen synthase kinase-3 inhibitor. **Diabetologia**, v. 48, p. 2119–2130, 2005

SAH, S.P.; SINGH, B.; CHOUDHARY, S.; KUMAR, A. Animal models of insulin resistance: A review. **Pharmacological Reports**, v.68 p.1165–1177, 2016.

SLIMEN, I.B.; NAJAR, T.; GHRAM, A.; DABBEBI, H.; MRAD, M.B.; ABDREBBAH, M. Reactive oxygen species, heat stress and oxidative-induced mitochondrial damage. A review. **International Journal of Hyperthermia**, v. 30, p. 513-523, 2014.

SRINIVASAN, K.; VISWANAD, B.; ASRAT, L.; KAUL, C.L.; RAMARAO, P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: A model for type 2 diabetes and pharmacological screening. **Pharmacological Research**, v. 52, p. 313–320, 2005.

VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B. de F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. da S.; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v. 30(5), p. 1324-1338, 2007.

WEN, X.; WU, J.; WANG, F.; LIU, B.; HUANG, C.; WEI, Y. Deconvoluting the role of reactive oxygen species and autophagy in human diseases. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 65, p. 402-410, 2013.

XU, K.K.; YANG, W.J.; TIAN, Y.; WU, Y.B.; WANG, J.J.; Insulin signaling pathway in the oriental fruit fly: The role of insulin receptor substrate in ovarian development. **General and Comparative Endocrinology**, v. 2016, p. 125-133, 2014.

YADAV, D. & LOWENFELS A.B. The Epidemiology of Pancreatitis and Pancreatic Cancer. **Gastroenterology**, v. 144, p. 1252–1261, 2013.

ZHOU, X.; SHENTU, P.; XU, Y. Spatiotemporal Regulators for Insulin-Stimulated GLUT4 Vesicle Exocytosis. **Journal of Diabetes Research**, p. 1-9, 2017