UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO
DEPARTAMENTO DE CLÍNICA MÉDICA

CAROLINE BERTONCINI SILVA

Efeitos da ingestão de cúrcuma no controle do ganho de peso em camundongos C57BL/6 adultos

RIBEIRÃO PRETO

2017

CAROLINE BERTONCINI SILVA

Efeitos da ingestão de cúrcuma no controle do ganho de peso em camundongos C57BL/6 adultos

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP para obtenção de título de Mestre em Clínica Médica.

Área de concentração: Clínica Médica

Opção: Investigação Biomédica

Orientadora: Profª. Drª. Vivian M. Miguel Suen

Versão corrigida. A versão original encontra-se disponível tanto na Biblioteca da Unidade que aloja o Programa, quanto na Biblioteca Digital de Teses e Dissertações da USP (BDTD).

RIBEIRÃO PRETO

2017

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

FICHA CATALOGRÁFICA

Silva, Caroline Bertoncini

Efeitos da ingestão de cúrcuma no controle do ganho de peso em camundongos C57BL/6 adultos. Ribeirão Preto, 2017.

76 p. :13il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado apresentada à Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Investigação Biomédica.

Orientadora: Suen, Vivian Marques Miguel.

1. Cúrcuma. 2. Prevenção. 3. Obesidade 4. Inflamação. 5.Fitoterapia.

FOLHA DE APROVAÇÃO

Caroline Bertoncini Silva

Efeitos da ingestão de cúrcuma no controle do ganho de peso em camundongos C57BL/6 adultos.

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação do Departamento de Clínica Médica da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP para obtenção de título de Mestre em Clínica Médica.

Área de concentração: Clínica Médica

Opção: Investigação Biomédica

Orientadora: Profª. Drª. Vivian M. Miguel Suen

Aprovação em: __/__/__

Banca Examinadora:

Prof.(a) Dr.(a) _____ Assinatura : _____

Instituição _____Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____ Assinatura : _____

Instituição _____Julgamento: _____

Prof.(a) Dr.(a) _____ Assinatura : _____

Instituição _____Julgamento: _____

Dedicatória

A minha mãe, que durante todo percurso se dedicou com muito amor e carinho para que eu chegasse onde estou hoje e para tornar minha vida acadêmica possível, e a minha irmã, que também da sua forma esteve sempre presente. Por estarem juntas em todos os momentos difíceis e nos de vitória.

Agradecimentos

Considero a finalização deste trabalho mais uma conquista à caminhada que começou no ano de 2014, quando concluí a graduação.

Primeiramente, quero agradecer a Deus por guiar meus passos, mesmo quando os momentos foram os mais difíceis.

A minha orientadora e também amiga, professora doutora Vivian Marques Miguel Suen, pela oportunidade, confiança, apoio, paciência, amizade e ensinamento. Obrigada por acreditar que eu era capaz, por ampliar meus horizontes e por ser exemplo e referência de profissional no meu crescimento.

Ao laboratório do Prof. Dr. João Santana da Silva, em especial à pesquisadora e orientadora Profª. Drª. Daniela Carlos, pelo auxílio técnico com as dosagens de insulina.

Ao laboratório do Prof. Dr. Alceu A. Jordão Junior, em especial a Paula Payão, pelo auxílio técnico com as dosagens de colesterol total, HDL, triglicérides e glicose.

Ao laboratório do Prof. Dr. Eduardo Coelho, em especial à pesquisadora Andreia Leone, pelo auxílio técnico com a coleta dos tecidos e procedimento de histologia.

Ao laboratório de Patologia do HC, em especial à Profª. Drª. Leandra Ramalho, pelo auxílio com análise das lâminas histológicas.

Ao laboratório de Cultura de Células da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, em especial a Maria Ap. Nunes Ferreira (Ceci) e Marcel, pelo auxílio com eutanásia e armazenamento de materiais.

A toda comissão da secretaria de pós-graduação, pela boa vontade de sempre em responder minhas perguntas, pela atenção dispensada e ajuda em questões burocráticas nesses anos de pesquisa.

A todos os amigos, colegas do mestrado, equipe do laboratório de nutrição do HC, aos técnicos do biotério e professores que estiveram presente, ajudando, auxiliando e fazendo companhia durante a dedicação deste trabalho. Em especial às amigas mestrandas Cássia Machado e Aldrina Honorato, à amiga e doutora Andresa Triffoni, à amiga e mestre Andressa Feijó, à amiga e mestre Aline Zordan. A amizade e a troca de conhecimento foram essenciais, além de ajudarem a tornar o trabalho mais "leve".

À pós-doutoranda Priscila Giacomo Fassini, pelas considerações e sugestões feitas no desenvolvimento deste trabalho.

Aos professores Alceu Afonso Jordão Júnior, Karina Pfrimer e Valdair Francisco Muglia, pela contribuição com as válidas sugestões fornecidas no Exame de Qualificação.

A minha coordenadora da graduação, Profª. Drª. Fabíola Rainato, por ter contribuído para o ingresso no mestrado e acreditado no meu potencial.

Ao meu amado pai Marcelo (saudades eternas), pelo amor que me mostrou a direção correta e me ensinou a ter fé na vida.

A minha amada mãe Ana Paula, que sempre me apoiou, forneceu apoio e incentivo aos meus estudos. Cheguei até aqui pela força e apoio que me forneceu. Sei que minha educação exigiu sacrifícios, e esse trabalho é uma pequena forma de agradecer tudo o que investiu em mim.

A minha irmã Isabela, pelo companheirismo, parceria e força em todos os momentos.

A minha família, pelo amor, apoio, confiança e motivação incondicional. Em especial ao meu tio-pai Dênis, que sempre me apoia e impulsiona em direção às vitórias dos meus desafios.

Ao CNPq, pelo auxílio e apoio concedido, que foi de fundamental importância para o desenvolvimento deste trabalho.

Ninguém vence sozinho, então, deixo a todos o meu sincero e eterno agradecimento.

RESUMO

Silva, C. B. **Efeitos da ingestão de cúrcuma no controle do ganho de peso em camundongos C57BL/6 adultos**. 2017. 76f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo. Ribeirão Preto, 2017.

Introdução: a incidência de obesidade tem crescido em todo o mundo e está subjacente ao desenvolvimento de várias doenças, incluindo as cardiovasculares, diabetes e inflamação. Novas pesquisas têm surgido para investigar formas de retardar o desenvolvimento dessa doença e, recentemente, foi possível observar um maior interesse pelo potencial papel das plantas medicinais. Dentre várias espécies estudadas, tem-se a *Curcuma Longa L*, sobre a qual já foram realizados inúmeros estudos demonstrando suas atividades antioxidantes, anti-inflamatórias e anticancerígenas atribuídas à curcumina, que é o pigmento predominante. Evidências sugerem que a curcumina pode regular o metabolismo lipídico, além de desempenhar um papel importante na obesidade. **Objetivo:** o objetivo do presente trabalho foi investigar a influência da cúrcuma na adiposidade corporal, no perfil lipídico e glicídico em modelos animais de camundongo C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica. **Metodologia:** avaliaram-se 40 camundongos C57BL/6, os quais foram separados em quatro grupos: dieta padrão (DP), dieta padrão com cúrcuma (DPC), dieta hiperlipídica (DH) e dieta hiperlipídica com cúrcuma (DHC). Durante um período de 8 semanas, os grupos DPC e DHC receberam suplementação diária, adicionada à dieta, de cúrcuma na dosagem de 8 mg/animal/dia. Durante o experimento, foi avaliado o peso corporal semanalmente e a ingestão alimentar diariamente. Foi realizado o teste de tolerância à glicose (GTT) com os animais na última semana de experimento, após jejum de 10 horas, e o teste de sensibilidade à insulina (ITT) foi realizado 4 dias antecedentes ao GTT, após jejum de 6 horas. Ao final do estudo, os animais foram sacrificados e foram coletadas amostras sanguíneas para dosagem de glicemia, insulina e lipidograma, além dos tecidos: hepático, adiposo epididimal, marrom, retroperitoneal e pâncreas. Todos os testes de hipóteses desenvolvidos neste trabalho consideraram uma significância de 5%. As análises foram feitas por ANOVA, ANOVA Two Way e Tukey. **Resultados:** em relação ao ganho de peso, houve diferença estatisticamente significante no grupo DPC (34,6%), quando comparado ao grupo DHC (78,3%). Para a ingestão, o grupo DPC teve maior ingestão desde a primeira semana. Para as variáveis triglicérides, HDL-colesterol, colesterol sérico, glicemia capilar e insulina, não houve diferença. Na dosagem de glicemia sérica, houve diferença estatisticamente significante entre

os grupos DPC (145,01±14,25) e DHC (227,76±25,4); DH (189,63±24,3) e DHC (227,76±25,4). O peso do tecido adiposo marrom foi estatisticamente significante entre os grupos DP (0,15±0,07) e DPC (0,24±0,06), DP (0,15±0,07) e DH (0,28±0,06). Para o peso do tecido adiposo epididimal, encontraram-se valores significativamente menores no grupo DPC (1,09±0,32), quando comparado ao DHC (4,36±0,84). Para a histologia, foi possível observar que não houve alterações significantes no fígado de nenhum dos grupos, porém, no pâncreas dos animais suplementados, foi possível verificar uma esteatose macro e microgoticular em 60% da amostra. **Conclusão:** a cúrcuma preveniu o ganho de peso corporal dos animais de dieta padrão suplementada, uma vez que tiveram um consumo alimentar significativamente maior e ganharam menos peso, além de ter aumentado tecido marrom no mesmo grupo. Porém, são necessários novos estudos para confirmar essa possível toxicidade da cúrcuma para o pâncreas.

Palavras-chave: cúrcuma, prevenção, obesidade, inflamação, fitoterapia.

ABSTRACT

Silva, C.B. **Effects of turmeric ingestion on weight gain control in C57BL/6 adult mice**. 2017. 76s. Dissertation (Master of Science) – Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo. Ribeirão Preto, 2017.

Introduction: Obesity has increased worldwide, which is subjacent to the development of several diseases, including cardiovascular diseases, diabetes and inflammation. Recent studies have been investigating forms of delaying the development of this disease and, recently, it was possible to observe a greater interest in the potential role of medicinal plants. Among various studied species is *Curcuma longa L*, which has been widely researched, allowing studies to show its antioxidant, anti-inflammatory and anticancer activities granted by turmeric, which is the predominant pigment. Evidences suggest that turmeric is capable of regulating the lipid metabolism, as well as playing an important role towards obesity. **Objective**: this study aimed at investigating the influence of turmeric on the body adiposity, the lipid and glucose profiles in C57BL/6 mice on a high-fat diet. **Methods**: 40 C57BL/6 mice were evaluated, which were separated into four groups: standard diet (SD), standard diet with turmeric (SDT), high-fat diet (HD) and high-fat diet with turmeric (HDT). During eight weeks, SDT and HDT groups were provided with daily nutritional supplementation, in addition to the diet, of turmeric, 8 mg/animal/day. During the experiment, body weight was weekly evaluated, and food ingestion, daily. The glucose tolerance test (GTT) was applied to the animals in the last week of experiment, after a ten-hour fasting period, and the insulin tolerance test (ITT) was applied four days before the GTT, after a six-hour fasting period. At the end of the study, the animals were sacrificed, and blood samples were collected in order to obtain blood glucose, insulin and lipid profile, as well as liver, adipose epididymal, brown, retroperitoneal and pancreas tissues. All the hypotheses tests developed in this study considered a significance of 5%. The analyses were conducted by ANOVA, ANOVA Two Way and Tukey. **Results**: regarding weight gain, there was a statistically significant difference in group SDT (34,6%) when compared to group HDT (78,3%). For ingestion, group SDT had a higher ingestion since the first week. For the variables: triglycerides, HDL-cholesterol, serum cholesterol, capillary blood glucose and insulin, no difference was observed. Regarding the serum glycemia dosage, there was a statistically significant difference among groups SDT (145,01±14,25) and HDT (227,76±25,4); HD (189,63±24,3) and HDT (227,76±25,4). The weight of the brown adipose tissue was statistically significant among groups SD

(0,15±0,07) and SDT (0,24±0,06), SD (0,15±0,07) and HD (0,28±0,06). Regarding the weight of the epididymal adipose tissue, significantly lower values were found in group SDT (1,09±0,32), when compared to HDT (4,36±0,84). Regarding histology, it was possible to observe that no significant alteration was found in the liver in any group, however, with regard to the pancreas of the supplemented animals, it was possible to verify a macro and microgoticular steatosis in 60% of the sample. **Conclusion**: turmeric prevented the body weight gain of the animals with standard supplemented diet, considering the fact that they had a significantly greater food intake and gained less weight, and the brown tissue was increased in the same group. However, new studies are necessary in order to confirm this possible toxicity of turmeric for pancreas.

Keywords: turmeric, prevention, obesity, inflammation, phytotherapy.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Partes das plantas utilizadas na produção da especiaria. Moagem dos estigmas da flor da *Crocus sativus* L. e moagem do rizoma da *Curcuma Longa L*. 22

Figura 2 – Estrutura química dos pigmentos curcuminóides isolados do rizoma da *Curcuma Longa L*. 23

Figura 3 – Organograma de divisão dos grupos de animais e tempos de tratamento 32

Figura 4 – Gráfico da análise da porcentagem de ganho de peso dos camundongos, comparando os grupos 41

Figura 5 – Gráfico da análise do peso dos camundongos, comparando os grupos..... 41

Figura 6 – Gráfico da análise da ingestão alimentar dos camundongos ao longo das 8 semanas de tratamento, comparando os grupos 43

Figura 7A e B – Gráfico dos valores de glicemia no teste de GTT nos diferentes tempos e diferentes grupos e gráfico da área sob a curva no teste de GTT..... 45

Figura 8A e B – Gráfico dos valores de glicemia no teste de ITT nos diferentes tempos e diferentes grupos e gráfico da área sob a curva no teste de ITT..... 46

Figura 9 – Gráfico da análise da insulina dos camundongos, comparando os grupos 46

Figura 10 – Gráfico da análise do peso do tecido adiposo marrom corrigido, comparando os grupos..... 47

Figura 11 – Gráfico da análise do peso do tecido adiposo epididimal corrigido, comparando os grupos..... 48

Figura 12 A, B, C e D – Cortes de tecido hepático e pancreático dos grupos DP e DPC de camundongos corados com H&E 48

Figura 13 E, F, G e H – Cortes de tecido hepático e pancreático dos grupos DH e DHC de camundongos corados com H&E 49

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Constituição da dieta hiperlipídica 34

Tabela 2 – Composição Nutricional das dietas Padrão e Hiperlipídica (g/100g) 35

Tabela 3 – Comparações múltiplas de Tukey quanto a peso, comparando os grupos de interesse em cada semana 42

Tabela 4 – Comparações múltiplas de Tukey quanto à ingestão, comparando os grupos de interesse em cada semana 43

Tabela 5 – Análise bioquímica dos camundongos após 8 semanas de tratamento, comparando os grupos 44

Tabela 6 – Análise da glicemia capilar dos camundongos antes (pré-tratamento) e depois (após 4 semanas de tratamento), comparando os grupos 44

Tabela 7 – Análise do peso dos tecidos dos camundongos coletados no momento da eutanásia, comparando os grupos 47

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 17

2 JUSTIFICATIVA 26

3 HIPÓTESE 28

4 OBJETIVOS 30
4.1 Objetivo geral 30
4.2 Objetivos específicos 30

5 METODOLOGIA 32
5.1 Desenho Experimental 32
5.2 Manutenção dos animais 33
5.3 Eutanásia dos Animais 33
5.4 Composição da Dieta e Análise do Consumo Alimentar 34
5.5 Avaliação Ponderal 35
5.6 Teste de tolerância à glicose (GTT) 35
5.7 Teste de sensibilidade à insulina (ITT) 36
5.8 Insulina 36
5.9 Parâmetros Bioquímicos 36
5.10 Análise Imuno-Histoquímica 37
5.11 Análise estatística 38

6 RESULTADOS 40
6.1 Peso corporal 40
6.2 Ingestão Alimentar 42
6.3 Colesterol total, HDL-colesterol, glicemia e triglicérides 44
6.4 Glicemia Capilar 44
6.5 Análise do Teste de Tolerância à Glicose (GTT) e Teste de Tolerância à Insulina (ITT) 45
6.6 Insulinemia 46
6.7 Peso dos tecidos 47

6.8 Histologia.....48

7 DISCUSSÃO 52

8 CONCLUSÃO 62

REFERÊNCIAS.....64

ANEXOS 73

Anexo 1 – Aprovação do CEUA – Comitê de Ética para Uso Animal da FMUSP. 73

Anexo 2 – Laudo de Análise do Componente Botânico – *Curcuma Longa L.* 74

Anexo 3 – Histologia em Parafina. 75

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A obesidade é uma doença crônica não transmissível (DCNT) definida pelo depósito em excesso de lipídios nos adipócitos (HEYWARD; STOLARCZYK, 2000; CARVALHO, 2005; COUTINHO; LUCATELLI, 2006).

Estilo de vida sedentária e excesso de ingestão energética são fatores que têm causado o aumento da incidência da obesidade, sendo o maior fator de risco o desenvolvimento da resistência à insulina (GHAZARIAN et al., 2015).

De acordo com a Organização Mundial da Saúde (WHO, 2000), a obesidade é definida como acúmulo anormal ou excessivo de gordura corporal (índice de massa corporal (IMC) > 30 kg/m^2). O desenvolvimento de doenças crônicas não transmissíveis como diabetes tipo 2 (DM2), doença isquêmica do coração, osteoporose e alguns tipos de câncer são efeitos da obesidade para a saúde, que, por sua vez, reduzem a qualidade de vida e podem levar à diminuição da expectativa de vida (WHO, 2000; HARDMAN et al*.,* 2000; TRIGUEROS et al., 2013).

Abeso (2010) relata que há um aumento significativo da prevalência da obesidade em diversas populações do mundo, incluindo o Brasil. O problema do excesso de peso e da obesidade tem alcançado proporções epidêmicas no mundo todo.

Dados de uma pesquisa realizada pela VIGITEL (2011) nas 26 capitais dos estados brasileiros e no Distrito Federal mostraram que o excesso de peso em 2006 era de 43,2%, elevando-se para 51% em 2012 e a obesidade era de 11,6% em 2006 e, em 2012, subiu para 17,4%.

Dados da mesma pesquisa do Ministério da Saúde – VIGITEL –, realizada no ano de 2014, alertaram que o excesso de peso já atingia 52,5% da população adulta do país. Taxa essa que, como já mencionado, em 2006, era de 43% – o que representa um crescimento de 23% no período.

É provado que a obesidade é um fator de risco para desenvolvimento de doenças cardiovasculares e resistência insulínica, uma vez que o processo inflamatório contribui para tal situação. Além de estar ligada a algumas das mais prevalentes doenças na sociedade moderna, o maior risco é para o desenvolvimento de *diabetes mellitus.*

Em relação ao diabetes tipo 2, doença decorrida das mudanças de estilo de vida, urbanização, obesidade, a estimativa feita por Shaw et al. (2010) para o ano de

2010 era de 285 milhões de adultos com diabetes, 67% maior que a estimativa publicada no ano de 2004 para o ano de 2000 por Wild et al. (2004). Para o ano de 2030, Shaw et al. (2010) estimaram que a prevalência de diabetes seria de 439 milhões, 20% maior do que a estimativa feita por Wild et al. (2004) para o mesmo ano.

A última pesquisa realizada pelo Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística (IBGE), com dados recentes avaliados pelas Pesquisas de Orçamentos Familiares 2008-2009 (POF), mostram que o consumo alimentar no Brasil é constituído de alimentos com alto teor calórico e baixa qualidade nutricional, o que resulta numa dieta deficiente em importantes nutrientes, aumentando o risco para obesidade e doenças crônicas não transmissíveis. De acordo com Filho et al. (2003), pode-se afirmar que as tendências de transição nutricional que têm ocorrido neste século em vários países levam a um novo modelo alimentar fundamentado numa dieta rica em gorduras saturadas, açúcares e alimentos refinados, e com baixo teor de carboidratos complexos e fibras, também conhecida como dieta ocidental.

A obesidade tem como causa essencial o desequilíbrio entre a ingestão alimentar e o gasto energético (CHEVALIER et al., 2015). O balanço energético positivo, causado pelo valor calórico ingerido superior ao gasto, é significativo fator contribuinte para o desenvolvimento da obesidade, causando aumento nos estoques de energia, na forma de tecido adiposo (PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHA JR., 2003).

O tecido adiposo humano começou a ser muito estudado a partir de 1993, quando Hotamisligil e seus colaboradores descobriram que células de tecido adiposo de roedores eram capazes de secretar a citocina pró-inflamatória TNF-α, e em 1994, com a descoberta da leptina por Zhang e sua equipe.

O tecido adiposo deixou recentemente de ser definido como um sítio passivo e passou a ser denominado como um órgão endócrino que tem papel fundamental na homeostase imune, além de liberar e produzir diversas adipocinas e citocinas como a leptina, adiponectina, fator de necrose tumoral (TNF-α), interleucina-6 (IL-6), entre outros. Tem sua classificação dividida em dois tipos: tecido adiposo marrom e branco (PEREIRA; FRANCISCHI; LANCHA JR., 2003).

O tecido adiposo marrom é encontrado principalmente em recém-nascidos e, em uma menor quantidade, em adultos. Tem como característica principal ser termogênico por regular a produção de calor e, como consequência, a temperatura

corporal. A sua capacidade de produzir calor é devido ao fato de que suas mitocôndrias não possuem o complexo enzimático necessário para a síntese de ATP e utilizam a energia liberada principalmente dos ácidos graxos para a termogênese. É caraterizado por citoplasma abundante, núcleo esférico e várias mitocôndrias que liberam calor via oxidação de ácidos graxos. O adipócito marrom é menor que os adipócitos do tecido adiposo branco, que possuem diâmetro entre sessenta a cem micrômetros. A coloração escura do tecido adiposo marrom é devido à alta concentração do citocromo oxidase presente nas mitocôndrias (FONSECA-ALANIZ et al., 2006, 2007).

Pesquisas científicas recentes têm buscado compreender melhor o papel do tecido adiposo marrom em adultos, na busca de agentes farmacológicos que possam aumentar a atividade desse tecido, a fim de torná-lo um alvo terapêutico contra a obesidade (ENERBÄCK, 2009).

O tecido adiposo marrom está presente durante toda vida em roedores. Estudos em animais mostram que o tecido adiposo marrom é fator importante na regulação do peso corporal, e é possível que a variação individual na termogênese adaptativa possa ser atribuída a variações na quantidade ou atividade desse tecido. Também foi visto que a ingestão de dieta hiperlipídica promove um acúmulo de adiposidade por diminuição da atividade da lipoproteína lipase devido a uma redução da atividade simpática no tecido adiposo marrom, coração e músculo esquelético (NEDERGAARD; BENGTSSON; CANNON, 2007; ALMIND et al., 2007; TAKEUCHI et al., 1995).

Em contrapartida, o tecido adiposo branco pode ser dividido em subcutâneo e visceral. O tecido adiposo subcutâneo localiza-se na hipoderme, enquanto o visceral liga órgãos internos e concentra-se entre o mediastino e a cavidade abdominal (GHAZARIAN, 2015).

O acúmulo de tecido adiposo visceral causa o aumento de citocinas pró-inflamatórias como proteína C reativa, interleucina-6, inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1), tanto no tecido adiposo, como demonstrado por Hotamisligil e colaboradores em modelos animais, quanto na circulação sanguínea. Essa inflamação crônica, de baixo grau, por sua vez, gera alteração da sinalização insulínica em vários tecidos, como fígado, músculo e adipócito, fazendo aparecer a resistência insulínica (HOTAMISLIGIL, 1999; SALTIEL, 2001; KAHN, 2006; MONTEIRO; AZEVEDO, 2010). A resistência insulínica é parte do conjunto de

alterações conhecido como síndrome metabólica, que é definida por intolerância à glicose, obesidade central, dislipidemia e hipertensão. A resistência insulínica exerce um importante papel na patogênese entre o pré-diabetes e a síndrome metabólica, além de aumentar o risco de doença cardiovascular, assim como o diabetes (GRAMS; GARVEY, 2015; STECKHAN et al., 2016).

Como determinante primordial para melhora do perfil metabólico tem-se a perda de peso. A perda de 5 a 10% do peso por meio da mudança do estilo de vida reduz, atrasa ou impede o desenvolvimento do diabetes tipo 2, reduz a pressão arterial e o risco cardiovascular (YANOVSKI; YANOVSKI, 2014).

Há diversas abordagens para a perda de peso, sendo as mais recomendadas a mudança do estilo de vida, a terapia farmacológica e o tratamento cirúrgico. O tratamento farmacológico e a intervenção cirúrgica não são isentos de complicações e, muitas vezes, têm benefícios a curto prazo. (ABDOLLAHI; AFSHAR-IMANI, 2003).

Quando a medicina convencional não consegue êxito no tratamento de condições crônicas como obesidade e resistência insulínica, as pessoas optam por terapias não convencionais. De um modo geral, a crença popular se utiliza de alguns métodos alternativos para redução de peso, tais como o uso de ervas, vitaminas, suplementos nutricionais e substitutos das refeições (HASANI-RANJBAR et al., 2009). Contudo, rigorosos estudos científicos não foram realizados com esses produtos, e, por isso, em muitos casos, é dada menor importância à segurança e eficácia devido à maciça propaganda comercial envolvendo esses produtos (HASANI-RANJBAR et al., 2009).

Na busca de novos tratamentos para a obesidade, nas últimas décadas, foi possível observar um grande interesse pela habilidade terapêutica das plantas medicinais (YUNES et al., 2001).

Atualmente, centenas de plantas têm sido relacionadas a efeitos benéficos no tratamento da obesidade e diabetes. A estimulação do gasto energético por meio da utilização de temperos e ervas naturais, tais como chás, cafeína e capsaicina, entre outros, tem atraído interesse da comunidade científica (REINBACH et al., 2009). Tais ingredientes têm sido oferecidos como estratégias para perda e manutenção do peso, pois podem aumentar o gasto energético e a oxidação do tecido adiposo por meio do aumento da termogênese e, em alguns casos, de maior saciedade (HURSEL; WESTERTERP-PLATENGA, 2010).

Dentre várias espécies de vegetais estudadas em nível mundial, tem-se a cúrcuma com grande potencial de emprego em vários segmentos da economia. Entretanto, apesar de existir um número crescente de investigação científica nos últimos anos sobre a efetividade de plantas medicinais como suplementos naturais para redução do peso corporal, poucos estudos especificamente citam o uso de cúrcuma na prevenção da obesidade e doenças metabólicas como o diabetes e a síndrome metabólica (CECÍLIO FILHO et al., 2000).

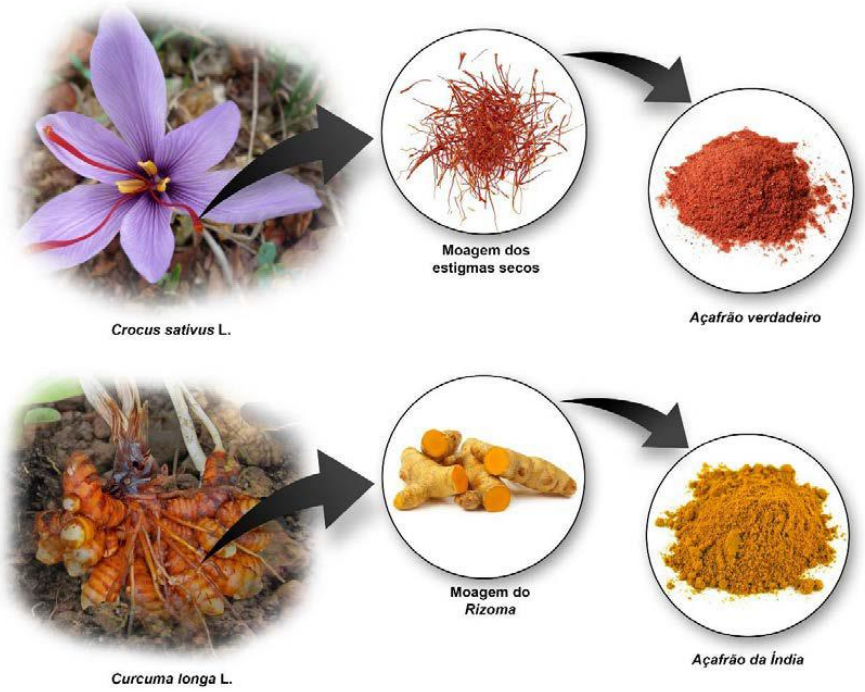
O açafrão da Índia (*Curcuma Longa* L.) é uma monocotiledônea pertencente à família *Zingiberaceae* subordem *Zingiberoidae* (MATA et al., 2004). Trata-se de uma planta herbácea e perene, de clima tropical quente e úmido, nativa do sudeste asiático, mais precisamente das florestas tropicais da Índia, país de maior produção mundial e onde ocorre a máxima diversidade genética (SASIKUMAR, 2005).

O açafrão da Índia, classificada como uma planta condimentar, é muitas vezes confundido no Brasil com a *Crocus sativus* L[1] uma espécie pertencente à família *Iridaceae*, também denominada de açafrão, porém este conhecido como açafrão verdadeiro (CECÍLIO FILHO et al., 2000).

Apesar de ambas serem utilizadas como corante alimentício, o pigmento de coloração avermelhada da *Crocus sativus* L. é obtido por meio da moagem dos estigmas secos da planta, em um processo inteiramente manual. Já o pó amarelo-laranjado obtido da *Curcuma Longa* L. é derivado da secagem e moagem do seu rizoma (Figura 1).

[1] Amplamente cultivada no Irã, Índia e Grécia, apresenta mais de 150 compostos voláteis. Os principais metabólitos secundários são a crocina (responsável pela cor), picrocrocina (responsável pelo sabor amargo) e o safranal (responsável pelo odor e aroma). A *Crocus sativus* L. apresenta atividades medicinais importantes, como anti-hipertensiva, anticonvulsivante, anti-inflamatória, antioxidante e antidepressiva (SRIVASTAVA, 2010).

Figura 1 – Partes das plantas utilizadas na produção da especiaria. Moagem dos estigmas da flor da *Crocus sativus* L. e moagem do rizoma da *Curcuma Longa* L.



(Fonte de imagem: Wikipédia)

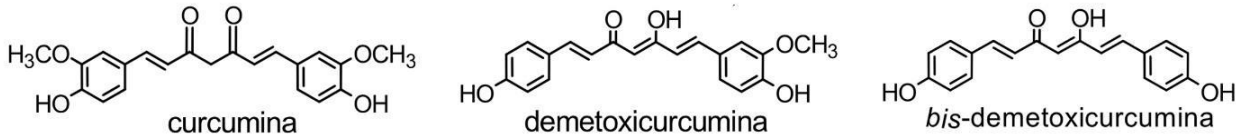
A cúrcuma ou açafrão é uma erva aromática, anual, composta de um rizoma principal com várias ramificações menores, todas marcadas com anéis de brácteas secas. Os rizomas mostram uma superfície de cor vermelha alaranjada, oriunda da presença do pigmento curcumina. Possui cheiro forte agradável e sabor aromático e picante. É originária da Índia, mas é muito cultivada nos países tropicais como planta medicinal ou condimentar (MATOS, 2000).

Na medicina e na culinária, utiliza-se o rizoma como parte da cúrcuma. É nele que são encontradas as substâncias responsáveis pelo seu valor mercadológico e sua ação terapêutica; essas substâncias são os pigmentos curcuminóides e os óleos essenciais (ZHOU et al., 2012). Além dos óleos essenciais e dos pigmentos curcuminóides, a cúrcuma contém, em maior quantidade, o amido e, em menor, proteína, lipídeos e fibras.

Os pigmentos curcuminóides são os responsáveis pela coloração alaranjada do interior do rizoma, e quando extraídos do rizoma na forma de pó, adquirem uma coloração amarelo-alaranjado brilhante (GUL et al., 2004).

São três os pigmentos curcuminóides – curcumina, demetoxicurcumina e bisdesmetoxicurcumina – presentes no rizoma nas concentrações de 60, 22 e 18%, respectivamente e, em menores proporções (2,5 a 5%), óleos essenciais compostos principalmente por turmerona, dehidroturmerona e cetonas aromáticas, responsáveis pelas interessantes propriedades organoléticas destes (COSTA, 2015). A curcumina apresenta dois grupos metoxila, a demetoxicurcumina contém apenas um grupo metoxila e a bis-demetoxicurcumina não apresenta grupo metoxila (Figura 2) (KRISHNASWAMY, 2008; JURENKA, 2009).

Figura 2 – Estrutura química dos pigmentos curcuminóides isolados do rizoma da *Curcuma Longa* L.



(Fonte de imagem: Adaptado de CECÍLIO FILHO, 2000).

A cúrcuma é bastante conhecida e explorada pela medicina asiática tradicional, sendo amplamente utilizada como digestivo, carminativo, anti-espasmódico, antioxidante, antidiarréico, diurético, excitante, nas doenças do fígado, como tônico no tratamento de úlceras, no tratamento de tosses e resfriados comuns e, externamente, como pomada na cicatrização de feridas (GOVINDARAJAN, 1980; AMMON & WAHL, 1991; RAMIREZ-BOSCÁ et al., 1995; DUKE, 1997; SHOBA et al., 1998; GUL et al., 2004).

As atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, antimicrobianas e anticancerígenas da cúrcuma têm sido demonstradas através de diversos estudos (ASAI et al., 1999; GUL et al., 2004).

Cort (1974) ao avaliar a atividade antioxidante de várias espécies, observou que a cúrcuma foi a segunda colocada entre as mais potentes.

E Ramaswamy e Banerjee (1948) verificaram que o pigmento fenólico curcumina, presente na cúrcuma, é o responsável pelas propriedades antioxidantes.

A curcumina é um polifenol que parece modular a ação de várias moléculas sinalizadoras, dentre elas os fatores de transcrição pró-inflamatórios como NF-KB e o sinalizador e ativador de proteínas de transcrição (STAT), que, por sua vez, parece

estar envolvido na ação da leptina. O NF-KB estimula a ativação de citocinas pró-inflamatórias, contribui para a resistência insulínica e parece também estar envolvido na fisiopatologia do processo inflamatório associado à obesidade (SHISHODIA et al., 2007).

Justificativa

2 JUSTIFICATIVA

Diante do aumento da prevalência da obesidade, o estudo do possível efeito da cúrcuma na prevenção do ganho de peso é muito importante, uma vez que pesquisas mostram que a cúrcuma atua na inibição da lipogênese.

Os resultados poderão acrescentar evidências significantes para auxiliar no tratamento de um problema de origem multifatorial como a obesidade.

Hipótese

3 HIPÓTESE

A suplementação de cúrcuma previne o ganho de peso, além de melhorar o perfil lipídico e glicídico em camundongos alimentados com dieta hiperlipídica.

Objetivos

4 OBJETIVOS

4.1 Objetivo geral

O objetivo do presente trabalho foi investigar a influência da cúrcuma na adiposidade corporal, no perfil lipídico e glicídico em modelos animais de camundongo C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica.

4.2 Objetivos específicos

- Avaliar alterações metabólicas por meio das dosagens séricas de glicemia e da mensuração do peso.
- Avaliar a resistência à insulina pelo teste de tolerância à glicose (GTT) e teste de sensibilidade à insulina (ITT).
- Avaliar o perfil lipídico pela dosagem sérica de colesterol total, triglicerídeos e HDL-colesterol.
- Comparar peso de tecido hepático, tecido adiposo epididimal, tecido adiposo retroperitoneal, tecido adiposo marrom e pâncreas entre os grupos controle e tratados.
- Analisar histologicamente o fígado e pâncreas entre os grupos controle e tratados.

Metodologia

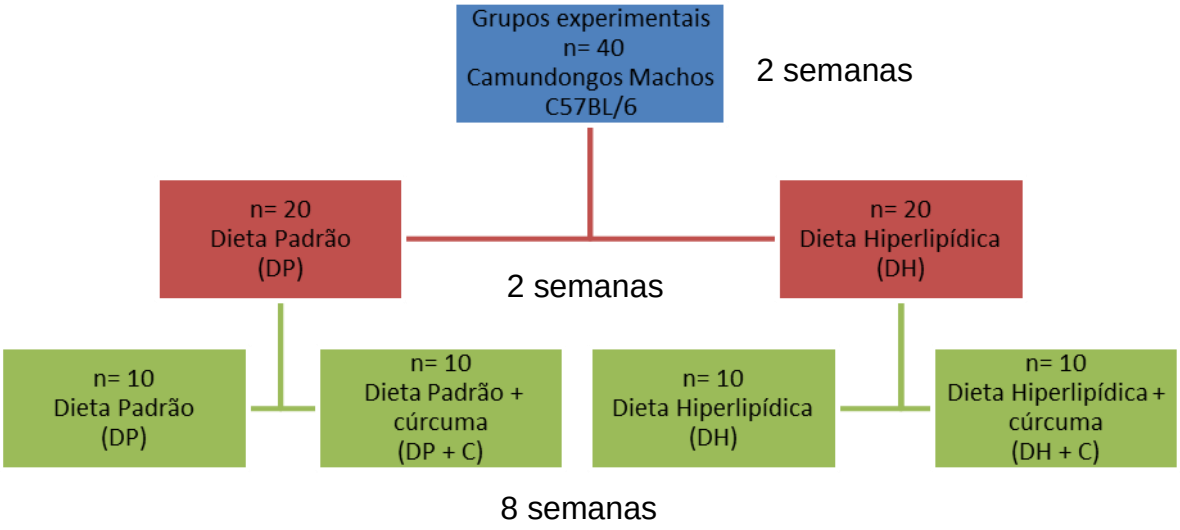
5 METODOLOGIA

5.1 Desenho Experimental

O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa Animal da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP, em 2015, protocolo nº 006/2015-1 e iniciado somente após aprovação (Anexo 1).

Foi realizado um estudo experimental, longitudinal, randomizado, no qual foram estudados 40 camundongos machos C57BL/6, 60 dias após o nascimento, provenientes do Biotério Central da Universidade de São Paulo, *campus* Ribeirão Preto, e divididos em 4 grupos de 10 animais cada, com dois animais por caixa.

Figura 3 – Organograma de divisão dos grupos de animais e tempos de tratamento.



Após o período de duas semanas de estabilização dos animais no Biotério da Clínica Médica, eles foram mantidos em gaiolas seletivas à temperatura de 25 ± 1,0 ºC em ambiente com ciclo de luminosidade de 12 horas (7:00 às 19:00h) com livre acesso à água e ração padrão (NUVILAB CR1) *ad libitum* por um período de adaptação de duas semanas.

Terminada a adaptação, os animais foram randomizados e divididos em dois grupos de 20 camundongos cada para tratamento inicial de duas semanas, conforme indicado a seguir:

- Dieta Padrão (DP): grupo formado por 20 camundongos submetidos à dieta padrão do biotério (NUVILAB CR1);
- Dieta Hiperlipídica (DH): grupo formado por 20 camundongos submetidos à dieta hiperlipídica.

Após duas semanas de tratamento diferenciado, os grupos foram novamente randomizados e divididos em subgrupos conforme descrito abaixo:

- Dieta padrão (DP, n=10): animais que receberam a dieta padrão;
- Dieta padrão adicionada de extrato de cúrcuma (DP+C, n=10): animais que receberam dieta padrão suplementado de extrato de cúrcuma em concentração de 8mg/animal/dia;
- Dieta hiperlipídica (DH, n=10): animais que receberam dieta hiperlipídica manipulada;
- Dieta hiperlipídica adicionada de extrato de cúrcuma (DH+C, n=10): animais que receberam dieta hiperlipídica manipulada e suplementada de extrato de cúrcuma em concentração de 8mg/animal/dia.

5.2 Manutenção dos animais

A cada semana foi aferido o peso (gramas), em balança digital (Filizola S. A., São Paulo, Brasil) e, na primeira e última semanas após tratamento, foram realizadas as dosagens de glicemia (após jejum de 10 horas) por meio do glicosímetro Accu-Chek (Accu-chek Performa Roche, Mannheim, Alemanha).

O teste de tolerância à glicose (GTT) foi realizado com os animais na última semana de experimento, após jejum de 10 horas, enquanto o teste de sensibilidade à insulina (ITT) foi realizado 4 dias antecedentes ao GTT, após jejum de 6 horas.

5.3 Eutanásia dos Animais

Ao final do período de tratamento, os animais foram eutanasiados por decapitação e foram coletadas amostras sanguíneas para dosagem de glicemia, insulina e lipidograma. Durante o sacrifício, foram coletadas amostras de tecido hepático, tecido adiposo epididimal, tecido adiposo retroperitoneal, tecido adiposo marrom e pâncreas, os quais foram pesados e imediatamente mantidos em

nitrogênio líquido até o termino da eutanásia, quando foram conservados em freezer -70ºC. Fragmentos de tecido hepático e pancreático foram separados para análise histológica.

Ainda no momento da eutanásia dos animais, foi coletado o sangue que foi prontamente centrifugado a 3500rpm, a 4ºC durante 15 minutos para a obtenção do soro, o qual foi armazenado em freezer a -70ºC.

5.4 Composição da Dieta e Análise do Consumo Alimentar

A ração comercial Nuvilab CR1 foi utilizada como dieta padrão, sendo disponibilizada como ração padrão do Biotério da Clínica Médica da FMRP-USP, baseada na recomendação pelo *American Institute of Nutition*, AIN-93, para roedores em crescimento. A dieta hiperlipídica, previamente padronizada, foi constituída pela composição apresentada na Tabela 1.

Tabela 1 – Constituição da Dieta Hiperlipídica.

Ingredientes	Quantidades (g)
Ração comercial Nuvilab CR1 (moída)	400
Sacarose	100
Banha de porco	100
Óleo de soja	170
Leite em pó integral	400
BHT	0,04

A suplementação de cúrcuma foi feita por meio da ingestão *ad libitum* de 8mg/animal/dia de extrato de cúrcuma, previamente adicionado às dietas padrão e hiperlipídica ofertada aos grupos DP+C e DH+C, e assim cada grupo recebeu 80mg/dia de cúrcuma. Os ingredientes da dieta foram triturados, hidratados e oferecidos na forma de pellets, e a adição do extrato de cúrcuma foi em pó (Oficina de Ervas Farmácia de Manipulação LTDA).

A dieta oferecida diariamente foi fracionada em pequenas porções pesadas e acondicionadas em comedouro específico. A sobra do comedouro foi pesada para ser calculada a quantidade final de alimento ingerido. A água oferecida foi renovada diariamente.

A composição nutricional da dieta padrão e da dieta hiperlipídica está descrita na Tabela 2.

Tabela 2 – Composição Nutricional das dietas Padrão e Hiperlipídica (g/100g).

	Padrão*	**Hiperlipídica****
Carboidratos	44,80g (42%)	36,20g (32,1%)
Lipídeos	3,4g (4%)	26,22g (52,3%)
Proteínas	24,8g (22%)	17,41g (15,4%)
Energia (Kcal/Kg)	309 Kcal	450 Kcal

* Padrão. Fonte: Nuvilab.
**Hiperlipídica. Fonte: Tabela Brasileira de Composição de Alimentos – TACO Versão 4

De acordo com rótulo, a dieta padrão (NUVILAB-CR1 Nuvital-Colombo, Brasil), continha a seguinte composição nutricional: proteína 22%; lipídios 4%; carboidratos 42%; minerais 10%; fósforo 0,8%; vitaminas 1%; fibras 8%; umidade 12,5%. À análise bromatológica, 100g de matéria seca da dieta continham: 309kcal; proteína 24,8g; lipídios 3,4g; carboidratos 44,8g; resíduo mineral fixo 8,2g; fibra alimentar 18,8g.

5.5 Avaliação Ponderal

Os animais, durante 12 semanas, foram acompanhados por meio do levantamento de medidas de peso pré-tratamento e a cada semana. A balança utilizada foi digital com capacidade máxima para 15 kg (Filizola S. A., São Paulo, Brasil). O percentual do ganho de peso foi calculado a partir da diferença entre o peso final (PF) e inicial (PI). Para o cálculo da porcentagem de ganho de peso, utilizou-se a equação:

$$\frac{[(peso\ final - peso\ inicial)]\ x\ 100}{peso\ inicial}$$

5.6 Teste de tolerância à glicose (GTT)

Foi realizado o teste de tolerância à glicose (GTT), após jejum de 10 a 12 horas, assim como a primeira coleta de sangue (tempo 0) por meio de corte na extremidade caudal do animal. Logo a seguir, foi administrada, via intraperitoneal, uma solução de glicose na dose de 1mg/g peso do animal, segundo protocolo desenvolvido pelo mesmo grupo de pesquisa. A coleta de sangue foi realizada nos

tempos 0’, 30’, 60’ e 120’. As concentrações de glicose foram determinadas através de glicosímetro Accu-Chek (Accu-chek Performa Roche, Mannheim, Alemanha), de acordo com as especificações do fabricante.

5.7 Teste de sensibilidade à insulina (ITT)

Foi realizado o teste de sensibilidade à insulina (ITT), após jejum de 6 horas, quando foi feita a primeira coleta de sangue (tempo 0) por meio de corte na extremidade caudal do animal. Logo a seguir, foi administrada, via intraperitoneal, uma solução de insulina na dose de 2UI diluída em 10ml de soro fisiológico. A coleta de sangue foi realizada nos tempos 0’, 30’, 60’ e 120’. As concentrações de glicose sanguínea foram determinadas através de glicosímetro Accu-Chek (Accu-chek Performa Roche, Mannheim, Alemanha), de acordo com as especificações do fabricante.

5.8 Insulina

A concentração de insulina no soro dos camundongos foi determinada pelo Kit Elisa Ultrassensível (Mouse Ultrasensitive Insulin ELISA, Alpco Diagnostics, Salem, USA). Este kit é um imunoensaio do tipo sanduíche, em que cada microplaca é revestida com anticorpo monoclonal específico para insulina.

5.9 Parâmetros Bioquímicos

A glicemia foi aferida com glicosímetro (Accu-chek Performa Roche, Mannheim, Alemanha) na quarta e na última semana após o início do tratamento.

O colesterol total analisado no soro foi determinado pelo método de colorímetro enzimático através de kits comerciais da Labtest (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil). Os ésteres de colesterol foram hidrolisados pelo colesterol esterase a ácidos graxos e a colesterol livre, que foi então oxidado pelo colesterol oxidase a colest-4-en-ona e a peróxido de hidrogênio. O fenol e a 4-aminoantipirina foram oxidados, na presença de peroxidase e peróxido de hidrogênio, formando a antipirilquinonimina com absorvidade máxima a 500nm, com intensidade da cor vermelha formada na reação final diretamente proporcional à concentração do colesterol da amostra.

Os triglicerídeos totais hepáticos no soro foram determinados por meio da metodologia colorimétrica enzimática através de kits comerciais da Labtest (Labtest Diagnóstica S. A., Brasil). A hidrólise dos triglicerídeos foi realizada pela lipase da lipoproteína, liberando o glicerol, que foi convertido em gicerol-3-fosfato, pela gliceroquinase. O glicerol-3-fosfato foi então oxidado a dihidroxiacetona e peróxido de hidrogênio na presença de glicerolfosfato oxidase. Posteriormente, foi realizada uma reação de acoplamento entre peróxido de hidrogênio, 4-aminoantipirina e 4-clorofenol, catalisada pela peroxidase, produzindo uma quinoneimina com absorvância máxima de 505nm, sendo que a intensidade da cor vermelha formada é diretamente proporcional à concentração dos triglicerídeos da amostra.

O HDL sérico, medido no soro, foi determinado pelo método calorímetro enzimático por meio do kit comercial (Labstest Diagnóstica S.A., Brasil). Neste, as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL) e as lipoproteínas de baixa densidade (LDL) foram quantitativamente precipitadas e, após centrifugação, o colesterol ligado às lipoproteínas de alta densidade (HDL) foi determinado no sobrenadante.

Após a precipitação, alíquotas de 10µl foram adicionadas a 1ml de reagente de cor, encubados e então foi feita a leitura em espectrofotômetro. Para o padrão foi usado o reagente fornecido pelo kit.

A glicemia analisada no soro foi determinada pelo método de colorímetro enzimático através de kits comerciais da Labtest (Labtest Diagnóstica S.A., Brasil).

Os resultados de todas as dosagens foram calculados a partir da diferença do resultado da absorbância das amostras, divididas pela absorbância do padrão, conforme recomendações do protocolo.

5.10 Análise Imuno-Histológica

As secções de tecido fixadas com formalina e embebidas em parafina foram cortadas com uma espessura de 5 µm e coradas com hematoxilina e eosina para exame histológico. As preparações foram avaliadas, com as identificações não reveladas, por um patologista experiente através de microscopia óptica, o qual estimou a intensidade de esteatose hepática, balonização hepatocelular e sua localização no ácino hepático. A análise foi realizada em 10 campos de maior aumento escolhidos aleatoriamente (ampliação x400) em cada lâmina. A

classificação da gravidade das alterações histológicas foi a seguinte: ausência de alterações, alterações leves, alterações moderadas e alterações graves.

5.11 Análise estatística

Os dados obtidos foram analisados utilizando-se o software SAS 9.0 para confecção de gráficos e a realização de testes estatísticos.

Os dados foram apresentados como média e desvio padrão. O nível de significância adotado foi de 0,05. As variáveis foram testadas utilizando-se ANOVA, seguida pelo teste de comparações múltiplas de Tukey. A normalidade e homoscedasticidade dos resíduos do modelo foram verificadas por análise gráfica. As variáveis tecido adiposo retroperitoneal corrigido e peso precisaram de transformação para atingir estas suposições, sendo que as transformações aplicadas foram a raiz quadrada e inversa, respectivamente.

Resultados

6 RESULTADOS

6.1 Peso corporal

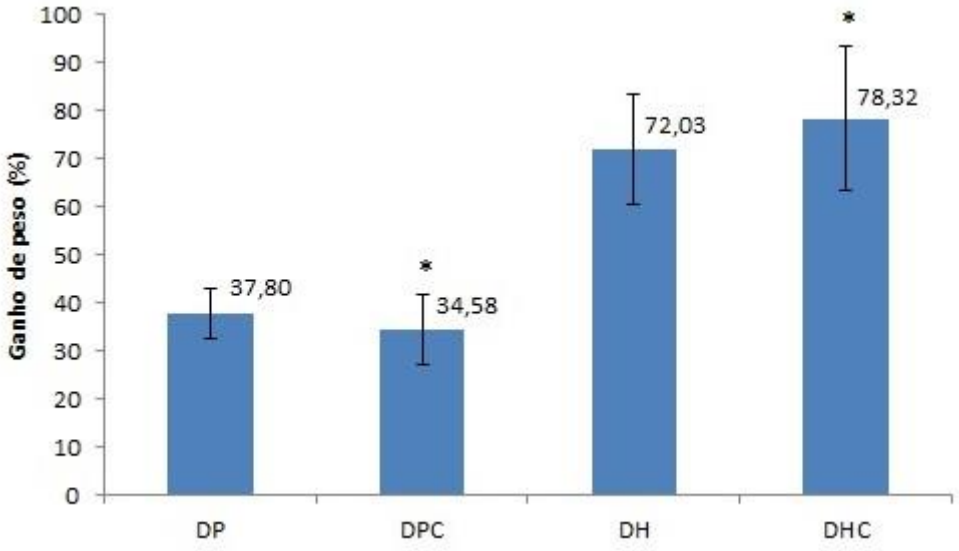
Para a variável peso, havia diversas mensurações feitas antes da primeira semana de tratamento. Foi calculada a média de peso destes momentos e o resultado foi colocado como "antes" na variável tempo na modelagem de ANOVA com medidas repetidas no tempo.

Observou-se efeito significativo para dieta e cúrcuma ao longo do tempo de tratamento ($p < 0,0001$).

É possível verificar que o peso do grupo da dieta hiperlipídica com cúrcuma foi significativamente maior do que todas as outras dietas em todos os momentos, exceto no momento antes. O peso do grupo da dieta hiperlipídica sem cúrcuma foi significativamente maior do que o da dieta padrão sem cúrcuma a partir da semana 5 e, na semana antes, o peso do grupo de dieta padrão sem cúrcuma foi significante maior. O peso do grupo de dieta padrão sem cúrcuma foi significante maior do que a dieta padrão com cúrcuma em todos os momentos, exceto no momento antes, nas semanas 4 e 8 (Figura 5 e Tabela 3).

Ao final das oito semanas de tratamento, quando analisada a porcentagem de ganho de peso, foi possível observar que houve diferença estatisticamente significante ao comparar os grupos dieta padrão com cúrcuma com dieta hiperlipídica com cúrcuma, uma vez que o grupo dieta padrão com cúrcuma ganhou menos peso do que o grupo dieta hiperlipídica com cúrcuma ($p = 0,0001$). As demais comparações não foram significativas (Figura 4).

Figura 4 – Gráfico da análise da porcentagem de ganho de peso dos camundongos, comparando os grupos.



Média±DP
DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
*p= 0,0001

Figura 5 – Gráfico da análise do peso dos camundongos, comparando os grupos.

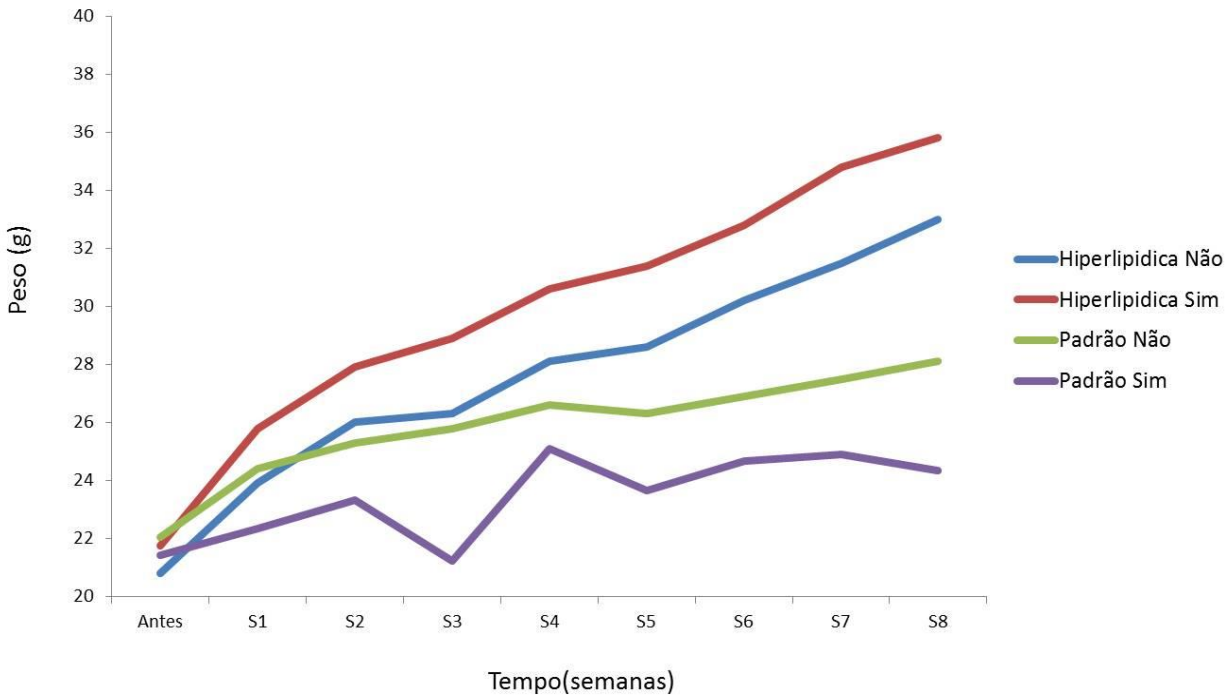


Tabela 3 – Comparações múltiplas de Tukey quanto a peso comparando os grupos de interesse em cada semana.

S	Comparação				p-valor
	Dieta	Cúrcuma	Dieta	Cúrcuma	
Antes	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	0,0136
1	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0054
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	0,0010
2	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0169
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	0,0063
3	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0022
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
4	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0098
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
5	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0070
	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	0,0066
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	0,0005
6	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0159
	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	0,0004
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	0,0044
7	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0069
	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	<.0001
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	0,0010
8	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0354
	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	<.0001
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001

6.2 Ingestão Alimentar

Durante as 8 semanas de tratamento, foi possível observar que os grupos que receberam dieta padrão tiveram consumo significativamente maior de ração, quando comparado aos que receberam dieta hiperlipídica. Esse aumento mostrou-se significativo desde a primeira semana (p <0,001) (Tabela 4 e Figura 6).

Observou-se que, em quase todos os tempos, a dieta hiperlipídica sem cúrcuma é estatisticamente igual à dieta hiperlipídica com cúrcuma (exceto na semana 1). As demais comparações foram todas diferentes.

Figura 6 – Gráfico da análise da ingestão alimentar dos camundongos ao longo das 8 semanas de tratamento, comparando os grupos.

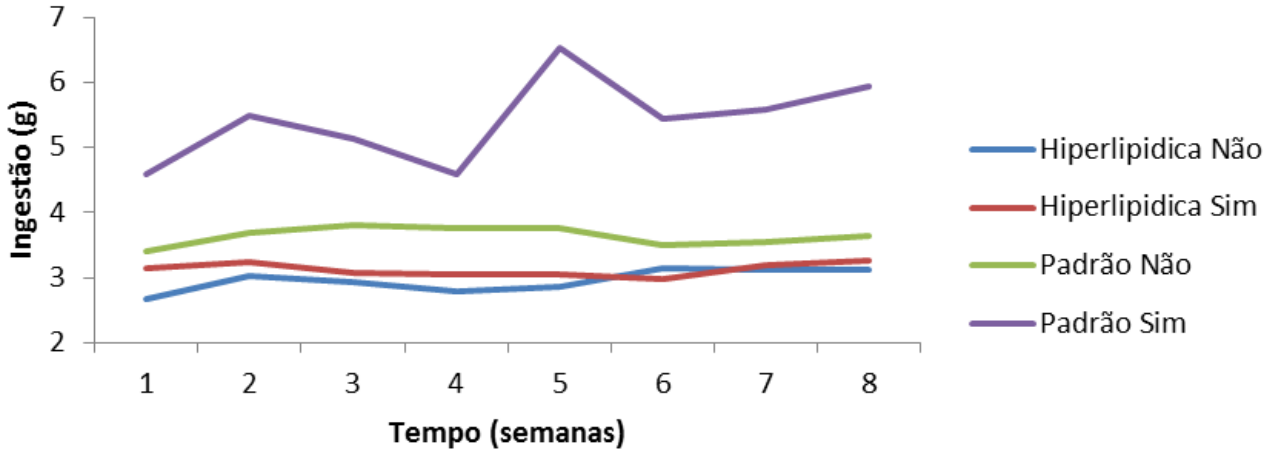


Tabela 4 – Comparações múltiplas de Tukey quanto à ingestão comparando os grupos de interesse em cada semana.

	Comparação				
	Dieta	Cúrcuma	Dieta	Cúrcuma	p-valor
1	Hiperlipídica	Não	Hiperlipídica	Sim	0,0019
	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	<.0001
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
2	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	<.0001
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
3	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	<.0001
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
4	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	<.0001
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
5	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	<.0001
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
6	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	0,0207
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
7	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	0,0071
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001
8	Hiperlipídica	Não	Padrão	Não	0,0007
	Hiperlipídica	Sim	Padrão	Sim	<.0001
	Padrão	Não	Padrão	Sim	<.0001

6.3 Colesterol total, HDL-colesterol, glicemia e triglicérides

Observou-se significância apenas para glicemia (p= 0,0469), sendo que os únicos grupos estatisticamente iguais são dieta padrão com e sem cúrcuma.

Todas as demais comparações apresentaram diferenças, sendo os grupos de dieta padrão com menos glicose do que os demais. O grupo de dieta hiperlipídica apresentou menor média de glicemia na ausência de cúrcuma, quando comparado ao suplementado com cúrcuma (Tabela 5).

Tabela 5 – Análise bioquímica dos camundongos após 8 semanas de tratamento, comparando os grupos.

Variáveis	**DP (n=10)**	**DPC (n=10)**	**DH (n=10)**	**DHC (n=10)**
Colesterol total (mg/dL)	104,6±12,77	96,51±10,62	185,82±24,86	189,08±18,18
HDL-colesterol (mg/dL)	63,11±5,56	58,11±9,32	101,03±7,95	95,31±8,65
Glicemia (mg/dL)	136,2±22,4*	145,01±14,25*	189,63±24,3**	227,76±25,4**
Triglicérides (mg/dL)	132,3±41,9	106,55±37,21	116,17±25,51	105,95±31,94

Média±DP
DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
*p=0,0027; *p<0,0001; *p<0,0001.

6.4 Glicemia Capilar

Como se tem o valor antes e depois do experimento, neste caso a variável da diferença foi utilizada para comparação entre grupos.

Foi possível observar que nenhum dos fatores foi significativo quanto à glicemia capilar, uma vez que todos os p-valores da ANOVA foram superiores a 0,05 (Tabela 6).

Tabela 6 – Análise da glicemia capilar dos camundongos antes (pré-tratamento) e depois (após 4 semanas de tratamento), comparando os grupos.

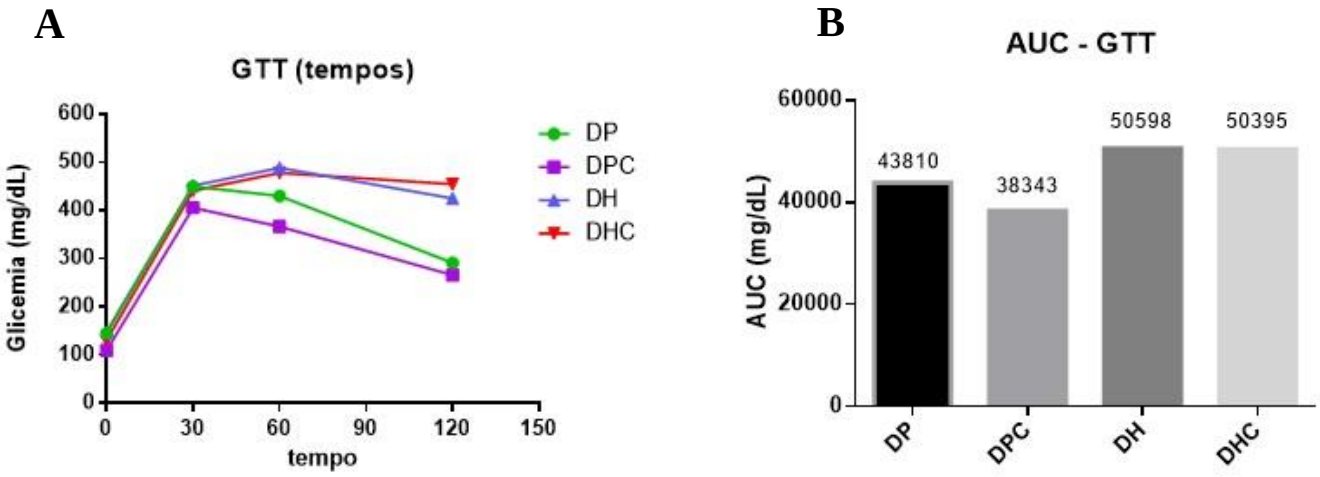
Variáveis	**DP (n=10)**	**DPC (n=10)**	**DH (n=10)**	**DHC (n=10)**
Glicemia Antes (mg/dL)	101,4±18,8	97,8±19,8	94,1±11,9	105,6±20,4
Glicemia Depois (mg/dL)	140,1±36,7	163,9±28,5	141,5±27,5	153,4±39,7
Diferença de glicemia (depois e antes)	38,7	66,1	47,4	47,8

Média±DP
DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
Não houve diferença estatisticamente significante.

6.5 Análise do Teste de Tolerância à Glicose (GTT) e Teste de Tolerância à Insulina (ITT)

Observou-se, na Figura 7A, que as glicemias de jejum no tempo 0' em todos os grupos foram semelhantes. Após a sobrecarga de glicose, houve aumento da glicemia em todos os grupos, sendo a média dos grupos de dieta hiperlipídica com e sem cúrcuma maior, porém sem significância estatística. A Figura 7B mostra as áreas sob a curva das dosagens de glicemia, as quais também não apresentaram diferenças estatisticamente significantes. Porém, é possível observar que os grupos que receberam dieta padrão tiveram uma menor área sob a curva, quando comparados aos grupos que receberam dieta hiperlipídica.

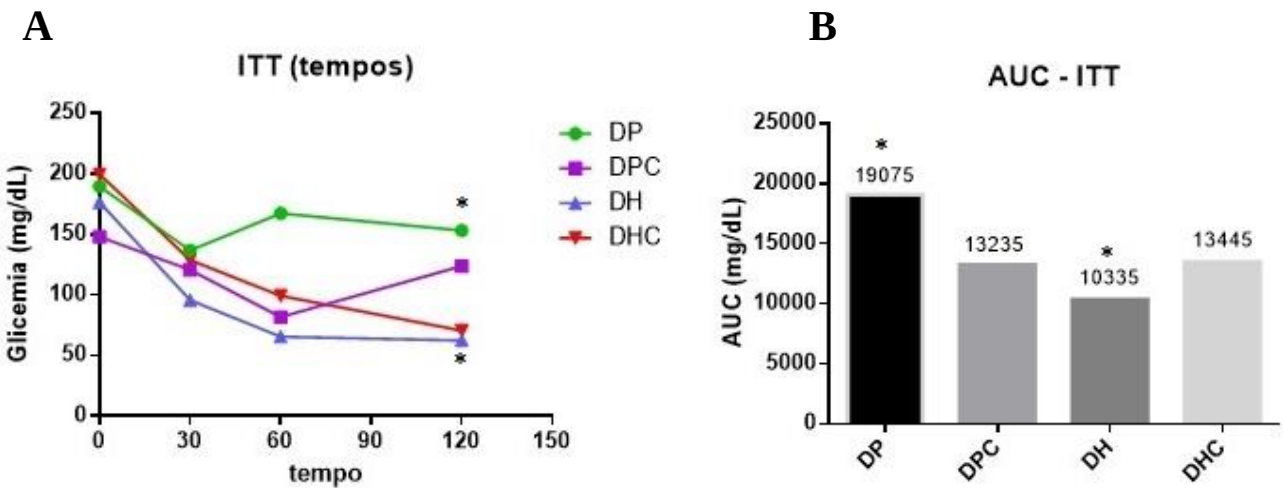
Figura 7A e B – Gráfico dos valores de glicemia no teste de GTT nos diferentes tempos e diferentes grupos e gráfico da área sob a curva no teste de GTT.



DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
Não houve diferença estatisticamente significante.

Ao teste de tolerância à insulina (ITT), o grupo que recebeu dieta padrão foi estatisticamente significante, quando comparado ao grupo que recebeu dieta hiperlipídica, uma vez que esse grupo teve uma menor área sob a curva, quando comparado ao grupo de dieta padrão ($p < 0,05$) (Figura 8A e B).

Figura 8A e B – Gráfico dos valores de glicemia no teste de ITT nos diferentes tempos e diferentes grupos e gráfico da área sob a curva no teste de ITT.

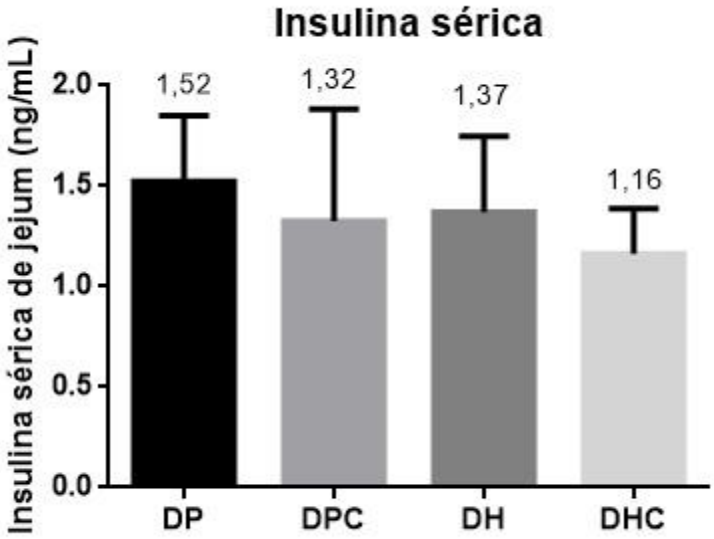


DP = dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
*p= 0,0141.

6.6 Insulinemia

Em relação à dosagem de insulina, embora não tenha havido diferença significante entre os grupos ($p < 0,05$), pode-se notar que os grupos que receberam cúrcuma tiveram uma menor secreção de insulina.

Figura 9 – Gráfico da análise da insulina dos camundongos, comparando os grupos.



Média±DP
DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
Não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos.

6.7 Peso dos tecidos

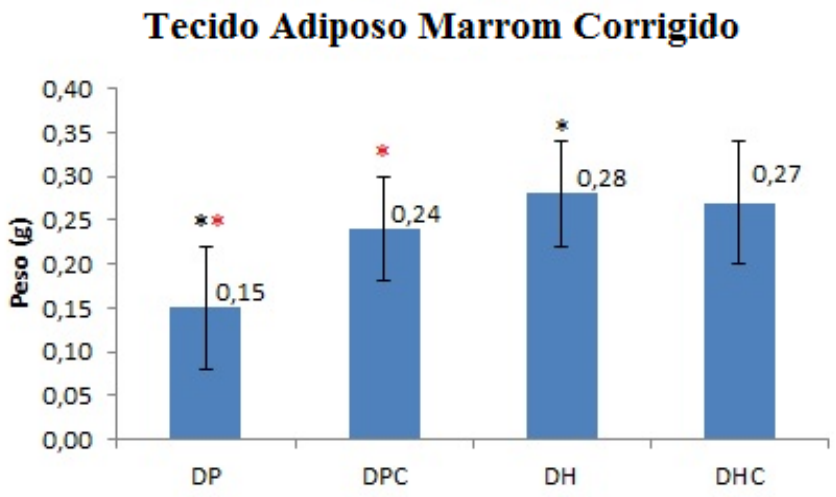
Em relação ao peso dos tecidos, observou-se significância para gordura marrom (p= 0,0353), sendo que a diferença se deu entre a dieta padrão sem presença de cúrcuma e os demais grupos, em que este grupo (dieta padrão sem cúrcuma) apresentou menor gordura média do que os demais e para gordura epididimal (p= 0,007), sendo que a diferença se deu entre a dieta padrão com cúrcuma e as dietas hiperlipídicas com e sem cúrcuma, tendo o grupo padrão com cúrcuma apresentado menor valor médio nesta gordura (Tabela 7).

Tabela 7 – Análise do peso dos tecidos dos camundongos coletados no momento da eutanásia, comparando os grupos.

Variáveis	**DP (n=10)**	**DPC (n=10)**	**DH (n=10)**	**DHC (n=10)**
Fígado Corrigido (g)	4,93±0,79	4,68±0,68	3,72±0,65	3,95±0,56
Tecido Adiposo Marrom Corrigido (g)	0,15±0,07**	0,24±0,06*	0,28±0,06*	0,27±0,07
Tecido Adiposo Epididimal Corrigido (g)	1,45±0,56*	1,09±0,32*	3,72±0,22*	4,36±0,84*
Tecido Adiposo Retroperitonial Corrigido (g)	0,29±0,15	0,22±0,06	1,08±0,57	1,17±0,36
Pâncreas Corrigido (g)	0,56±0,09	0,56±0,06	0,44±0,08	0,39±0,09

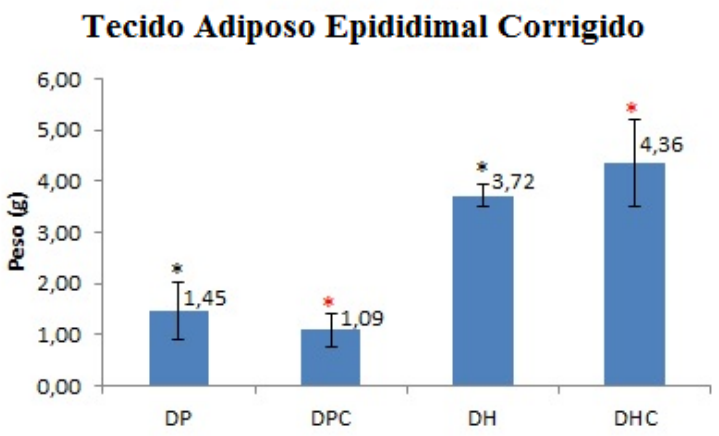
Média±DP
DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
Tecido adiposo marrom: *p= 0,0007; *p= 0,0397.
Tecido adiposo epididimal: *p= <0,0001; *p= <0,0001.

Figura 10 – Gráfico da análise do peso do tecido adiposo marrom corrigido, comparando os grupos.



Média±DP
DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
Tecido adiposo marrom: *p= 0,0007; *p= 0,0397.

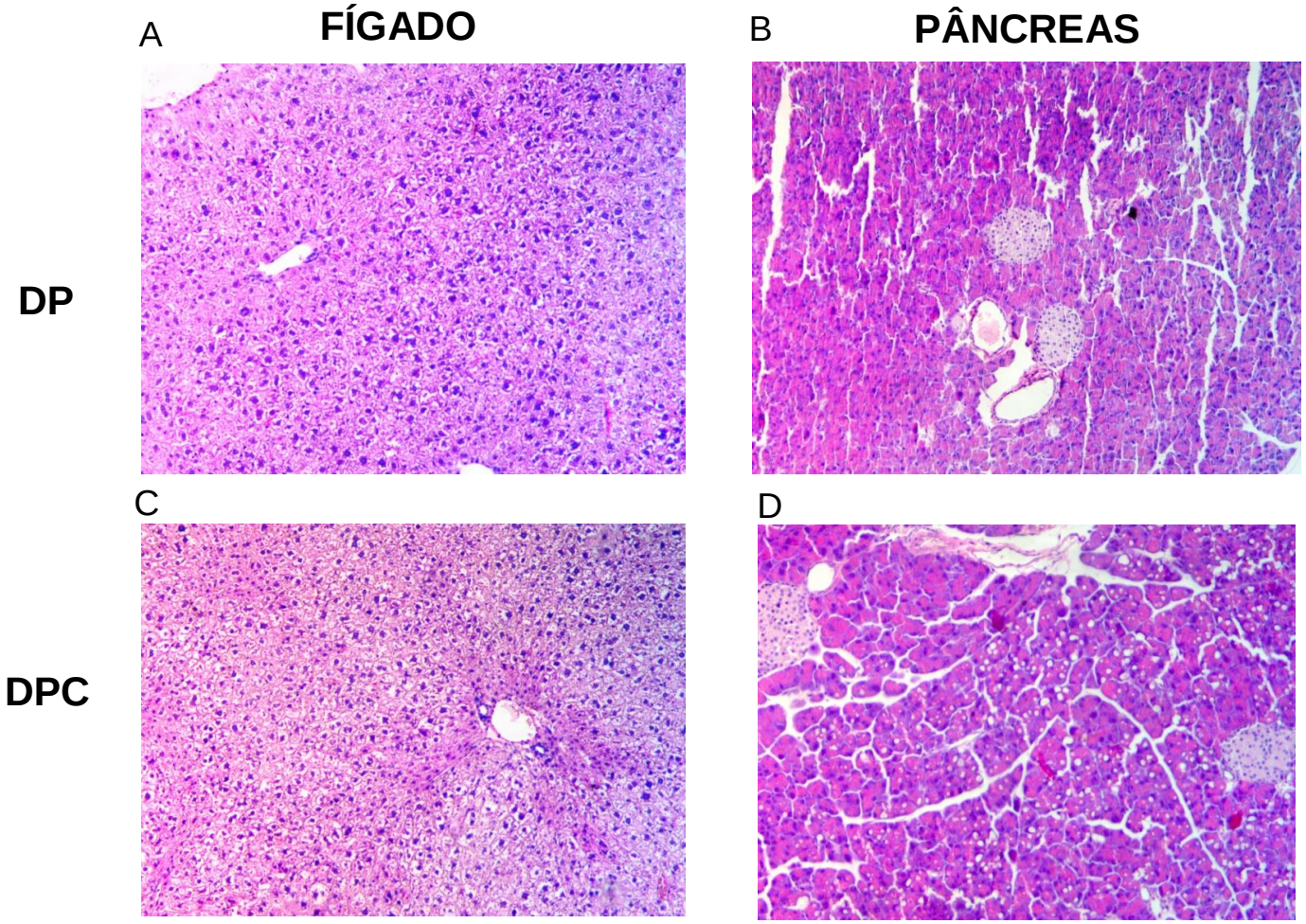
Figura 11 – Gráfico da análise do peso do tecido adiposo epididimal corrigido, comparando os grupos.



Média±DP
DP= dieta padrão, DPC= dieta padrão com cúrcuma, DH= dieta hiperlipídica, DHC= dieta hiperlipídica com cúrcuma.
Tecido adiposo epididimal: *p <0,0001; *p <0,0001.

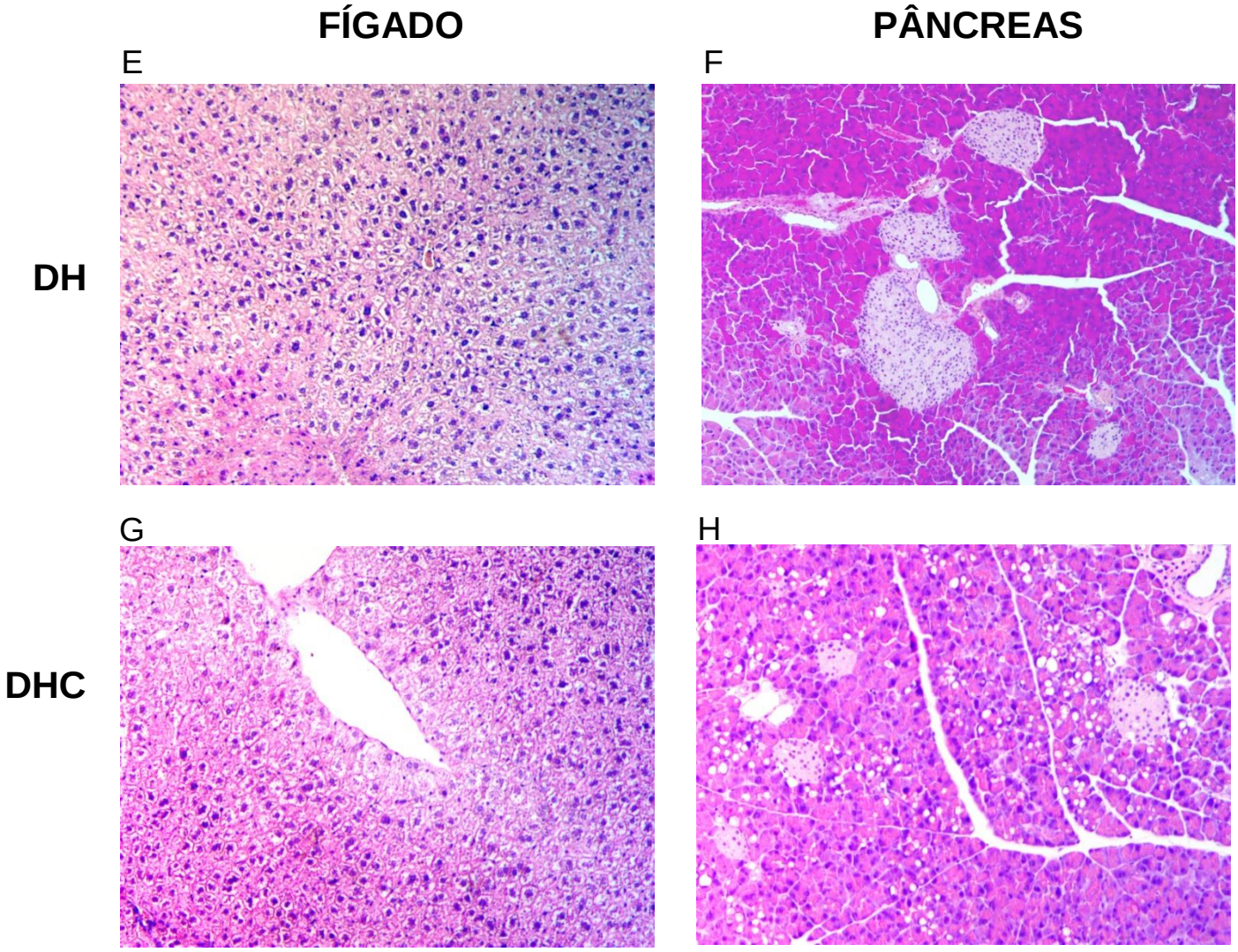
6.8 Histologia

Figura 12 – Cortes de tecido hepático e pancreático dos grupos DP e DPC de camundongos corados com H&E.



Em A, verifica-se o fígado de um animal do grupo dieta padrão com degeneração hidrópica e discreta distorção arquitetural dos cordões hepatocitários. Em B, nota-se o pâncreas de um animal do grupo dieta padrão sem alterações, com aspecto normal. Em C, nota-se o fígado de um animal do grupo dieta padrão tratado com cúrcuma com degeneração hidrópica e discreta distorção arquitetural dos cordões hepatocitários e, em D, nota-se o pâncreas de um animal do grupo padrão tratado com cúrcuma, mostrando esteatose macro e microgoticular em 60% da amostra pancreática (x100).

Figura 13 – Cortes de tecido hepático e pancreático dos grupos DH e DHC de camundongos corados com H&E.



Em E, verifica-se o fígado de um animal do grupo dieta hiperlipídica com degeneração hidrópica e discreta distorção arquitetural dos cordões hepatocitários.

Em F, nota-se o pâncreas de um animal do grupo dieta hiperlipídica sem alterações, com aspecto normal. Em G, nota-se o fígado de um animal do grupo dieta hiperlipídica tratado com cúrcuma com degeneração hidrópica e discreta distorção arquitetural dos cordões hepatocitários e, em H, nota-se o pâncreas de um animal do grupo dieta hiperlipídica tratado com cúrcuma, mostrando esteatose macro e microgoticular em 60% da amostra pancreática (x100).

Discussão

7 DISCUSSÃO

Considerando a epidemia da obesidade e todas as complicações a ela associadas, são necessários estudos que avaliem estratégias nutricionais que auxiliem na sua prevenção. Neste contexto, o uso da cúrcuma poderia exercer efeitos benéficos no tratamento da obesidade pela sua ação relatada de redução da resistência à insulina e da leptina, diminuindo a expressão de citocinas inflamatórias, acelerando a oxidação de ácido graxo, bem como o aumento da expressão de enzimas antioxidantes (ALAPPAET; AWAD, 2010). Com base nesses aspectos, desenvolveu-se este estudo com o objetivo de avaliar e destacar os resultados da adição do extrato de cúrcuma como suplementação na dieta de camundongos C57BL/6, investigando-se, assim, o seu efeito preventivo no ganho de peso, obesidade e resistência à insulina. Ao inferir um tratamento diferencial de alimentação previamente protocolada em um modelo animal com elevada predisposição genética para o desenvolvimento de doenças metabólicas, conseguimos observar os resultados que nos permitiram avaliar o desenvolvimento destes animais ao longo do experimento.

No que diz respeito aos resultados obtidos através da suplementação com extrato de cúrcuma na dieta padrão e hiperlipídica, os camundongos mostraram alguns resultados diferentes daqueles encontrados na literatura.

Em relação à variável peso, a análise evidenciou que o ganho de peso corporal diferiu em todas as semanas, quando comparados os 4 grupos. Apenas o grupo de dieta hiperlipídica que, quando comparado ao grupo dieta hiperlipídica com cúrcuma, foi igual apenas na primeira semana. O ganho de peso total foi maior nos animais que receberam dieta hiperlipídica com cúrcuma em comparação aos animais que receberam dieta padrão com cúrcuma ao final do experimento. Quando comparados os grupos de dieta hiperlipídica e hiperlipídica com cúrcuma, não houve diferença. Esse dado vai ao encontro do que foi observado por Neyrinck et al. (2013), que mostaram que a administração oral de curcumina associada à pimenta não afetou o ganho de peso durante 4 semanas de tratamento entre os grupos dieta hiperlipídica e dieta hiperlipídica com cúrcuma.

De forma controversa aos dados do presente estudo, Shao et al. (2012) mostraram que, após 16 semanas de dieta hiperlipídica, o peso de camundongos aumentou significativamente. Da 16ª a 28ª semana, a dieta com curcumina na dose

aproximada de 20mg bloqueou significativamente o efeito da dieta hiperlipídica sobre o ganho de peso.

Dados de um estudo realizado por Ejaz et al. (2009) mostraram que camundongos C57BL/6 alimentados com dieta hiperlipídica e suplementados com aproximadamente 25mg de cúrcuma por 12 semanas tiveram redução no ganho de peso, o que não corroboram os achados do presente estudo.

Wang et al. (2015), em um estudo com camundongos suplementados com cúrcuma através de gavagem na dose de 50 e 100mg/kg de peso durante 50 dias, verficaram que os animais que consumiram cúrcuma nas duas doses estiveram protegidos contra o ganho de peso, quando comparados aos animais que consumiram dieta padrão, o que vai ao encontro do achado do presente estudo. O ganho de peso reduzido sugere um possível efeito protetor da cúrcuma, uma vez que esse grupo (padrão com cúrcuma) foi aquele que teve maior ingestão. Ademais, a cúrcuma nessas dosagens testadas no estudo de Wang et al. (2015) não afetou a ingestão de alimentos, indicando então que a cúrcuma poderia alterar o metabolismo energético.

Em relação à variável ingestão alimentar, a análise evidenciou que a ingestão foi diferente em todas as semanas, quando comparados os 4 grupos, exceto os grupos de dieta hiperlipídica e dieta hiperlipídica com cúrcuma, que foram maior apenas na primeira semana de tratamento. Nota-se, também, que o grupo que recebeu dieta padrão adicionada de cúrcuma foi aquele que teve maior ingestão desde o início do experimento. Esse dado vai ao encontro do observado por Weisberg et al. (2008), em que animais do grupo padrão com cúrcuma consumiram significativamente mais alimento por dia, quando comparados ao grupo controle.

Quanto aos lipídeos séricos (colesterol total, HDL e triglicérides), as análises não mostraram diferença significativa entre os grupos. Um estudo feito por Neyrinck et al. (2013) mostrou que a suplementação com cúrcuma e piperina não apresentou diferença nos lipídios séricos (triglicérides, ácidos graxos não esterificados, colesterol total, LDL e HDL) sob dieta hiperlipídica após 4 semanas.

Um estudo feito por Ding et al. (2016) concluiu que a suplementação de curcumina, na dose de 40 e 80mg/dia sob dieta hiperlipídica, diminuiu drasticamente os níveis de colesterol total e triglicérides.

Outro estudo realizado por Ejaz et al. (2009) em camundongos C57BL6, alimentados com dieta hiperlipídica e suplementação de curcumina na dosagem

aproximada de 25mg, mostrou que os animais suplementados tendiam a ter menor concentração de triglicérides em relação aos não suplementados, porém sem diferença estatisticamente significante.

Disilvestro et al. (2012) mostraram que pessoas saudáveis de meia idade que consumiram cúrcuma em uma dose de 80mg/dia durante 4 semanas não tiveram efeitos significativos para o colesterol total nem para o HDL, o que vai ao encontro dos resultados encontrados nesse estudo.

Sobre a dosagem de glicemia sérica, foi encontrada diferença estatisticamente significante entre os grupos, em que o grupo de dieta padrão apresentou menor glicemia que os demais. Já na comparação dos grupos dieta padrão com cúrcuma e dieta hiperlipídica com cúrcuma, nota-se que o grupo dieta padrão com cúrcuma apresentou menor glicemia, sendo estatisticamente significante, enquanto no grupo de dieta hiperlipídica, a glicemia foi maior naquele que teve adição de cúrcuma.

Uma pesquisa feita por Neyrinck et al. (2013), que corrobora os dados do presente estudo, mostrou que a suplementação de cúrcuma e piperina em dieta hiperlipídica não apresentou resultados significativos na glicemia, o que difere de um estudo feito em modelo animal, com dois grupos por 8 semanas: um recebendo dieta rica em frutose (60%) e outro recebendo dieta rica em frutose (60%) e 80mg de cúrcuma/kg de peso, que mostrou melhora significativa na glicemia (JAYAKUMAR et al., 2016).

Outro estudo em humanos evidenciou que a suplementação com curcumina por um período de três meses numa dose de 300mg/dia resultou em uma melhora significativa no controle glicêmico em pacientes diabéticos tipo 2 (NA et al., 2013). No entanto, este efeito não foi observado em outros ensaios clínicos realizados em indivíduos com DM2 e em indivíduos com nefropatia diabética tratados com 1,5g de curcuminóides/dia (CHUENGSAMARNA et al., 2014; KHAJEHDEHI et al., 2011).

Em relação à glicemia capilar, não foi encontrada diferença estatisticamente significante entre os grupos. Os trabalhos que avaliam a dosagem de glicemia normalmente mensuram essa variável através de dosagem sérica. Sendo assim, não foi possível comparar esse parâmetro.

A regulação da glicose e colesterol, previamente relatada na literatura para dietas com adição de cúrcuma, não foi observada neste trabalho. Isso pode ter

ocorrido devido à dose muito mais baixa (8mg/animal/dia) de curcuminóides utilizada.

Quanto à dosagem sérica de insulina, nossos resultados foram semelhantes aos encontrados por outro estudo, no qual a suplementação com cúrcuma e piperina não apresentou diferença na insulinemia de jejum após 4 semanas com dieta hiperlipídica (NEYRINCK et al., 2013). Embora não tenha sido significante, achados do presente estudo mostraram que houve uma redução de secreção de insulina nos grupos que receberam adição de cúrcuma. Um estudo conduzido por Shao et al. (2012) mostrou que a adição de cúrcuma na dieta hiperlipídica também resultou em uma redução no nível de insulina, quando comparado ao grupo de dieta hiperlipídica.

Embora existam resultados bastante incentivadores dos ensaios clínicos acessíveis até o presente momento, é precipitado concluir um possível efeito da curcumina sobre a resistência à insulina, pré-diabetes ou diabetes. São indispensáveis estudos com maior número de pacientes, maior período de tratamento, e diferentes origens genéticas para estabelecer uma melhoria definitiva das condições clínicas, atraso, início, ou melhorar o desenvolvimento da diabetes.

Em relação ao GTT, os resultados do presente estudo mostraram que os grupos de dieta hiperlipídica com e sem cúrcuma não tiveram redução significativa nos níveis de glicemia após 120 minutos da administração de glicose. Todavia, é possível notar que os grupos que receberam dieta hiperlipídica tiveram uma maior área sob a curva do que os grupos controles, e o grupo controle com adição de cúrcuma apresentou uma menor área sob a curva, quando comparado ao controle.

Um trabalho realizado por Andrikopoulos et al. (2008) fez uma pesquisa no ano de 2007 em 100 artigos, utilizando as palavras-chave: “glucose tolerance e mouse”, e encontraram variações na forma de administração da glicose (intraperitoneal ou via oral), tempo de jejum, quantidade de glicose administrada, animais anestesiados ou conscientes, o que levou a dados conflitantes. Assim, essas inconsistências levaram os autores do trabalho a reavaliar o teste de tolerância à glicose para determinar o tempo de jejum mais adequado, a via de administração e a quantidade de glicose a administrar. Os autores observaram que, após um jejum de 6 horas, houve uma clara indicação de intolerância à glicose nos animais alimentados com dieta hiperlipídica em comparação aos de dieta padrão, então escolheram essa estimativa de tempo para conduzir os testes do estudo.

Avaliaram o teste e determinaram que a administração de glicose na dose de 2g/kg de peso corporal oralmente, após 6h de jejum, resulta em acentuadas diferenças nos níveis de glicose plasmática e de insulina dos animais alimentados com dieta padrão em comparação aos de dieta hiperlipídica. Assim, fica evidente que as variáveis já mencionadas anteriormente podem ter um grande impacto sobre a mensuração da tolerância à glicose em camundongos.

Quanto aos resultados do ITT**,** observou-se que, após a administração de insulina, os camundongos do grupo DHC tiveram menor área sob a curva. Esse achado, associado ao resultado do GTT, poderia sugerir que os animais do grupo DHC estavam com deficiência de insulina e esta, quando administrada, levou à redução mais pronunciada da glicemia. Em contrapartida, os animais do grupo DPC, nos primeiros 60 minutos, apresentaram uma resposta ao ITT muito parecida com a do grupo DHC, e após os 60 minutos voltaram a apresentar um aumento da glicemia, como observado na Figura 8A. A hipótese para esta resposta poderia ser que, após 60 minutos, houve no grupo DPC um aumento dos hormônios contra-reguladores, o que levou ao aumento da glicemia. É importante ressaltar que a interpretação do ITT se baseia em quanto mais rápida e intensa for a queda da glicose, mais sensível o indivíduo é à insulina. Como já mencionado, as maiores críticas ao ITT são referentes à possibilidade de ativação de uma resposta contra-regulatória pela hipoglicemia sobre hormônios que poderiam influenciar no desaparecimento da glicose, como o glucagon, catecolaminas e hormônio de crescimento. Porém, esta resposta contra-regulatória em geral aparece apenas de 15 a 20 minutos após a injeção da insulina (RIZZA; CRYER; GERICH, 1979; BONORA et al., 1989). Assim, a queda da glicose observada nos primeiros 15 minutos após o início do teste reflete a captação de glicose pelos tecidos induzida pela insulina, assim como a inibição da liberação de glicose pelo fígado (GELONEZE et al., 2000).

Pode-se dizer que, embora a resistência à insulina seja estudada de forma ampla e reconhecida, ainda não se desfruta de um método de investigação laboratorial que preencha todos os critérios para que seja completamente utilizada e aceita.

Em relação ao peso dos tecidos, alguns resultados não corroboraram o estudo de Asai e Miyazawa (2001), que encontrou diferença estatisticamente significante na redução do peso do tecido adiposo epididimal de animais

alimentados com dieta hiperlipídica e cúrcuma, quando comparado a animais alimentados com dieta padrão. Dados de um estudo realizado por Shao et al. (2012) mostraram que a ingestão de dieta hiperlipídica aumentou significativamente o peso do tecido adiposo epididimal de camundongos, enquanto a suplementação com cúrcuma bloqueou essa estimulação, o que não vai ao encontro dos achados do presente estudo, uma vez que a cúrcuma só preveniu o aumento do peso dessa gordura no grupo dieta padrão com cúrcuma e não no grupo de dieta hiperlipídica.

Algumas hipóteses poderiam ser levantadas para explicar essa diferença entre os estudos. A quantidade de cúrcuma suplementada pelos autores foi maior do que a do presente estudo e foi dose dependente.

Quanto ao tecido adiposo marrom, o grupo de dieta padrão que recebeu cúrcuma obteve um aumento significativo deste tecido. Não foram encontrados na literatura estudos que avaliem a relação da ingestão de cúrcuma com o tecido adiposo marrom. No entanto, estudos em animais mostram que o tecido adiposo marrom (TAM) é importante na regulação do peso corporal, e é possível que a variação individual na termogênese adaptativa possa ser atribuída a variações na quantidade ou atividade do tecido adiposo marrom. Existem indícios de que estimular a termogênese adaptativa (definida como calor produzido em resposta ao frio e dieta) pode servir como um meio de prevenir ou tratar a obesidade (LOWELL; SPIEGELMAN, 2000).

Alguns estudos indicaram que o tecido adiposo marrom em roedores assume profundos efeitos no peso corporal, balanço energético e metabolismo de glicose (HOSSAIN; KAWAR; NAHAS, 2007; HIMMS-HAGEN, 1979; LOWELL; FLIER, 1997).

O fato de a obesidade ser considerada hoje em dia uma epidemia mundial, e sabendo-se que o TAM queima lipídeos para produzir calor, reduzindo assim a eficiência metabólica, o achado do presente estudo mostra que o possível efeito da cúrcuma em aumentar o tecido marrom poderia sugerir benefícios e, dessa forma, representar uma nova estratégia de investigação no tratamento ou prevenção dessa doença.

Sobre o peso do fígado, não foi encontrada diferença estatisticamente significante. Neyrinck et al. (2013) não encontraram diferença no peso do fígado entre os grupos controle, dieta hiperlipídica e dieta hiperlipídica com cúrcuma, o que vai ao encontro dos resultados encontrados no presente estudo.

Já em relação ao peso do pâncreas e do tecido adiposo retroperitoneal, não foram encontrados trabalhos na literatura que citam a relação entre cúrcuma e peso desses tecidos.

Quanto à histologia, foi possível observar que não houve alterações significativas no fígado de nenhum dos grupos.

Um estudo feito por Ejaz et al. (2009) mostrou que, embora a dieta hiperlipídica tenha aumentado o acúmulo de lipídios nos hepatócitos (esteatose hepática), a dieta hiperlipídica suplementada com curcumina evitou a presença de esteatose hepática.

No entanto, ao analisar o pâncreas, observou-se uma esteatose macro e microgoticular em 60% da amostra pancreática apenas nos grupos que receberam adição de cúrcuma.

Ainda são escassos na literatura trabalhos que analisaram o efeito da cúrcuma no pâncreas, o que dificulta uma possível discussão da toxicidade pancreática da cúrcuma.

Os achados do presente estudo não confirmaram os efeitos benéficos da cúrcuma em uma dieta hiperlipídica descritos nos outros estudos e uma das explicações para isso poderia ser essa esteatose pancreática observada nos animais suplementados com cúrcuma.

De acordo com Catanzaro et al. (2016), a acumulação de gordura, associada à obesidade e à síndrome metabólica (SM), foi definida como "infiltração gordurosa" ou "doença do pâncreas gorduroso não alcoólica (DPGNA)". Os fatores de risco para o desenvolvimento da DPGNA incluem obesidade, idade crescente, sexo masculino, hipertensão, dislipidemia, álcool e hiperferritinemia.

Diferente do fígado, em que a acumulação de triglicerídeos é principalmente intracelular, a esteatose pancreática é identificada por um aumento do número de adipócitos (FELDMAN; FRIEDMAN; BRANDT, 2016; PINNICK et al., 2008). Van Geenen et al. (2010) levantaram a hipótese de que a obesidade e a resistência à insulina exercem um importante papel na infiltração de adipócitos, gerando esteatose pancreática. A resistência à insulina também causa lipólise periférica, aumentando o fluxo de ácidos graxos para o fígado, levando à doença do fígado gorduroso não alcoólica (NAFLD). Os autores propuseram que a esteatose pancreática precede NAFLD e, portanto, propôs que o termo doença pancreática gordurosa não alcoólica (NAFPD) deve ser usado.

A patogênese da NAFPD ainda é desconhecida devido à falta de definições e pesquisas claras, uma vez que teorias satisfatórias ainda não foram propostas. Sendo assim, existe a necessidade de mais pesquisas nesta área.

Nos últimos 10 anos, uma ampla quantidade de relatos sobre os efeitos benéficos da curcumina foram publicados, e tem-se evidenciado repetidamente que esta substância natural é eficiente e segura para a prevenção e tratamento de várias doenças, incluindo o câncer (ANAND et al., 2008; RAVINDRAN; PRASAD; AGGARWAL, 2009).

É importante ressaltar que há evidências sugerindo que a curcumina possui propriedades benéficas e, por isso, pode ser desenvolvida uma droga a partir dela para a prevenção e tratamento de doenças como câncer (ANAND et al., 2008 e LÓPEZ-LÁZARO, 2008). Dados de um estudo in vivo realizado por López-Lázaro (2008) sugerem que a curcumina também pode exercer efeitos benéficos em órgãos fora do trato gastrointestinal, no entanto, uma vez que a curcumina não atinge esses órgãos em altas concentrações, não é claro neste momento se esses efeitos benéficos são devidos a baixos níveis de curcumina, aos metabolitos da curcumina ou a um efeito indireto desconhecido. Em contrapartida, há evidências acumuladas de que a curcumina pode não ser tão eficaz e segura. Um dos achados do nosso estudo que vale a pena ser investigado é a esteatose que a cúrcuma causou no pâncreas dos animais que receberam sua suplementação, o que sugere um possível efeito tóxico para esse orgão.

O National Toxicology Program (EUA), em 1993, publicou um amplo relatório sobre as propriedades tóxicas e carcinogênicas de um extrato orgânico de açafrão chamado oleorresina de cúrcuma. Este extrato é usualmente adicionado aos alimentos e contém uma quantidade de curcumina (79-85%) semelhante à da curcumina comercial. Ratos e camundongos foram alimentados com dietas contendo concentrações diferentes de oleorresina de cúrcuma por 3 meses e 2 anos, e foram avaliados os possíveis efeitos tóxicos e carcinogênicos. Nos estudos de 2 anos, a ingestão de oleorresina de cúrcuma foi associada ao aumento da incidência de úlceras, hiperplasia e inflamação do estômago, do ceco e do cólon em ratos machos e do ceco em ratos fêmeas.

Estudos experimentais (LÓPEZ-LÁZARO, 2008; SYNG-AI; KUMARI; KHAR, 2004; AHSAN; HADI, 1998; CAO et al., 2006; FANG; LU; HOLMGREN, 2005; SANDUR et al., 2007) evidenciaram que, apesar de baixas concentrações de

curcumina induzirem a efeitos antioxidantes, concentrações mais altas desse composto estendem os níveis celulares de espécies reativas de oxigênio (ROS).

O fato de que o número de estudos que mostram que os efeitos positivos da cúrcuma sejam maiores do que os negativos não necessariamente expressa que a relação risco-benefício da cúrcuma é deslocada apenas para beneficiar, mas pode apontar que existam mais pesquisadores avaliando os efeitos benéficos do que os maléficos. Vale ressaltar a importancia da necessidade de futuras pesquisas para determinar o risco benefício dessa substância e, mesmo assim, é considerável reconhecer que a cúrcuma também possui suas características negativas.

Sendo assim, etnia, dose, tipo de curcuminóides utilizados e a biodisponibilidade da cúrcuma são fatores cruciais para obter resultados confiáveis e reprodutíveis através de um bom desenho de estudo.

As limitações do presente estudo foram constituídas pela dificuldade de determinar uma dose de cúrcuma, uma vez que os trabalhos são heterogêneos em relação à quantidade, além da dificuldade em estabelecer qual composto utilizar, uma vez que os trabalhos não especificam. Alguns citam a cúrcuma em si, outros curcumina, o que não esclarece qual composto foi realmente utilizado. Por outro lado, o ponto forte do presente estudo foi o fato de ser, para nosso conhecimento, o primeiro realizado em nosso meio que avaliou o efeito da cúrcuma em um modelo de animal alimentado com dieta hiperlipídica. Consideramos, assim, que o achado do nosso trabalho é importante, pois chamou a atenção para um possível efeito tóxico da cúrcuma que ainda não foi descrito na literatura até o presente momento.

Conclusão

8 CONCLUSÃO

No presente estudo, foi possível concluir que o consumo de cúrcuma possivelmente preveniu o ganho de peso nos grupos que consumiram uma dieta nutricionalmente balanceada e, apesar da maior ingestão alimentar, aumentou o peso da gordura marrom e diminuiu o peso da gordura epididimal. No entanto, no grupo que consumiu dieta hiperlipídica com suplementação de cúrcuma, não foi possível observar quaisquer mudanças em relação às variáveis estudadas. Conclui-se, também, que a cúrcuma provavelmente induziu esteatose pancreática. Os resultados sugerem uma possível evidência de toxicidade da suplementação de cúrcuma no pâncreas de camundongos C57BL/6.

Referências[2]

[2] De acordo com a Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 6023.

REFERÊNCIAS

ABDOLLAHI, M.; AFSHAR-IMANI, B. A review on obesity and weight loss measures. **Middle East Pharmacy**. 2003; 11: 6-10.

ABESO 76 – Outubro 2010 – Edição Especial. Atualização das diretrizes para o tratamento Farmacológico da obesidade e do sobrepeso. Disponível em: <http://www.abeso.org.br/pdf/diretrizes2010.pdf>, acessado em: 01 fev. 2016.

AHSAN, H.; HADI, S. M. Strand scission in DNA induced by curcumin in the presence of Cu(II). **Cancer Lett**. 1998;124:23-30.

ALAPPAT, L.; AWAD, A. B. Curcumin and obesity: evidence and mechanisms. **Nutr Rev.** 2010 Dec;68(12):729-38.

ALMIND, K. et al. Ectopic brown adipose tissue in muscle provides a mechanism for differences in risk of metabolic syndrome in mice. **Proc Natl Acad Sci**. USA; 2007, 104: 2366-71.

AMMON, H. P. T.; WAHL, M. A. Pharmacology of *Curcuma longa*. **Planta Medica**. 1991; v.57, p.1-7.

ANAND, P. et al. Curcumin and cancer: an ‘‘old-age’’ disease with an ‘‘age-old’’ solution. **Cancer Lett**. 2008; 267:133-64.

ANDRIKOPOULOS, S.; BLAIR, A. R; DELUCA, N.; FAM, B. C.; PROJETTO, J. Evaluating the glucose tolerance test in mice. **Am J Physiol Endocrinol Metab.** 2008 Dec;295(6):E1323-32.

ASAI, A.; MIYAZAWA, T. Dietary curcuminoids prevent high-fat diet-induced lipid accaccumulation in rat liver and epididymal adipose tissue. **J Nutr**. 2001 nov.;131(11):2932-5.

ASAI, A.; NAKAGAWA. K.; MIYAZAWA, T. Antioxidative effects of turmeric, rosemary and capsicum extracts on membrane phospholipid peroxidation and liver lipid metabolism in mice. **Bioscience Biotechnology Biochem**istry, v. 63, n. 12, p. 2118 - 2122, 1999.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil 2011:** vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2012.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Vigitel Brasil 2014:** vigilância de fatores de risco e proteção para doenças crônicas por inquérito telefônico. Brasília: Ministério da Saúde, 2015.

BONORA, E. et al. Estimates of in vivo insulin action in man: Comparison of insulin tolerance tests with euglycemic and hyperglycemic glucose clamp studies. **J Clin Endocrinol Metab**.1989; 68:374-8.

CAO, J. et al. Mitochondrial and nuclear DNA damage induced by curcumin in human hepatoma G2 cells. **Toxicol Sci**. 2006; 91:476-83.

CARVALHO, K. M. B. Obesidade. In: CUPPARI, L. (Org.) **Guia de Nutrição**: Nutrição Clínica no adulto. 2. ed. Barueri: Manole, 2005. p. 149-170.

CATANZARO, R.; CUFFARI, B.; ITALIA, A.; MAROTTA, F. Exploring the metabolic syndrome: Nonalcoholic fatty pancreas disease. **World J Gastroenterol**. 2016 Sep 14; 22(34): 7660–7675.

CECÍLIO FILHO, A. B. Cúrcuma: planta medicinal, condimentar e de outros usos potenciais. ***Cienc. Rural***, v.30, n.1, p.171-175, 2000.

CHEVALIER, C. et al. Gut Microbiota Orchestrates Energy Homeostasis during Cold. **Cell**. 2015, 163, 1360-1374, December 3.

CHUENGSAMARN, S. et al. S. Reduction of atherogenic risk in patients with type 2 diabetes by curcuminoid extract: a randomized controlled trial. **J Nutr Biochem**. 2014 Feb;25(2):144-50.

CORT, W. M. Haemoglobin peroxidation test screns antioxidants. **Food Technology**, Chicago, v.28, p.60, 1974.

COSTA, R. B. et al. Análise química e avaliação da atividade antioxidante do óleo essencial dos rizomas da Curcuma Zedoria (Zingeberaceae). 17º WORKSHOP DE PLANTAS MEDICINAIS DO MATO GROSSO DO SUL. 7º Empório da Agricultura Familiar. Jun. 2015. [*NET*] Disponível em: https://www.google.com.br/search?q=wsplantasmedicinais.com.br/.../Ra%C3%ADssa-Biff-Costa-An%C3%A1lise-qu%C3%ADmica-e-avali..&ie=utf-8&oe=utf-8&gws_rd=cr&ei=NS-1VsPzLomXwgSp9pCQBA Acesso em: 01 de março de 2017.

COUTINHO, M.; LUCATELLI, M. Produção Científica em Nutrição e Percepção Pública da Fome e Alimentação no Brasil. **Revista de Saúde Pública**, São Paulo, v.40, p.86-92, ago. 2006. Número especial.

DING, L. et al. Curcumin rescues high fat diet-induced obesity and insulin sensitivity in mice through regulation SREBP pathway. **Toxicol Appl Pharmacol**. 2016 Aug 1;304:99-109. No prelo.

DISILVESTRO, R. A.; JOSEPH, E.; ZHAO, S.; BOMSER, J. Diverse effects of a low dose supplement of lipidated curcumin in healthy middle age people. **Nutr J**. 2012 Sep 26;11:79.

DUKE, J. A. **The green pharmacy**. Emmaus: Rodale, 1997. 507p.

EJAZ, A.; WU, D.; KWAN, P.; MEYDANI, M. Curcumin inhibits adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice.adipogenesis in 3T3-L1 adipocytes and angiogenesis and obesity in C57/BL mice. **J Nutr**. 2009 May;139(5):919-25.

ENERBÄCK, S. The origins of brown adipose tissue. **N Engl J Med** [S.I.: s.n.] 360 (19): 2021-2023, maio, 2009.

FANG, J.; LU, J.; HOLMGREN, A. Thioredoxin reductase is irreversibly modified by curcumin: a novel molecular mechanism for its anticancer activity. **J Biol Chem**. 2005; 280:25284-90.

FELDMAN, M.; FRIEDMAN, L. S.; BRANDT, L. J. Sleisenger and Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease. 10th ed. Philadelphia: Elsevier, 2016:1428-1441.

FILHO, M. B.; RISSIN, A. A transição nutricional no Brasil: tendências regionais e temporais. **Cad. Saúde Pública**. 2003; 19(Supl.1):S181-S91.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I.; LIMA, F. B. Adipose tissue as an endocrine organ: from theory to practice. **J Pediatr** (Rio J). 2007;83(5 Suppl):S192-203. doi 10.2223/JPED.1709.

FONSECA-ALANIZ, M. H.; TAKADA, J.; ALONSO-VALE, M. I. C.; LIMA, F. B. O tecido adiposo como centro regulador do metabolismo. **Arq Bras Endocrinol Metab**., v.50, n.2, pp.216-229, 2006.

GELONEZE, B. et al. Standardization of insulin tolerance test (ITT) in Brazilian population. **Diabetes Res Clin Pract**. 2000; 50(suppl. 1):S102.

GHAZARIAN, M. et al. Immunopathology of Adipose Tissue during Metabolic Syndrome. **Turk Patoloji Derg**. 2015, 31(Suppl):172-180.

GOVINDARAJAN, V. S. Turmeric – chemistry, technology and quality. **CRC – Critical Review in Food Science and Nutrition**, v.12, n.3, 1980, p.199-301.

GRAMS, J.; GARVEY, W. T. Weight Loss and the Prevention and Treatment of Type 2 Diabetes Using Lifestyle Therapy, Pharmacotherapy, and Bariatric Surgery: Mechanisms of Action. **Curr Obes Rep** (2015) 4:287–302 DOI 10.1007/s13679-015-0155-x.

GUL, N.; MUJAHID T. Y.; JEHAN, N.; AHMAD, S. Studies on the antibacterial effect of the different fractions of *Curcuma longa* against tract infections isolated. ***Pakistan Journal of Biological Sciences***, n.7, v.12, p. 2055-2060, 2004.

HARDMAN, W. et al. Interventions to prevent weight gain: a systematic review of psychological models and behavior change methods. **Int J Obes Relat Metab Disord**. 2000; 24: 131-143.

HASANI-RANJBAR, S.; NAYEBI, N.; LARIJANI, B.; ABDOLLAHI, M. A systematic review of the efficacy and safety of herbal medicines used in the treatment of obesity. **World J Gastroenterol**. 2009; 15(25): 3073-3085.

HEYWARD, V. H.; STOLARCZYK, L. M. **Avaliação da Composição Corporal Aplicada**. 1. ed. São Paulo. Manole, 2000.

HIMMS-HAGEN, J. Obesity may be due to a malfunctioning of brown fat. **Can Med Assoc J**. 1979;121:1361-4.

HOTAMISLIGIL, G. S. Mechanisms of TNF-alpha-induced insulin resistance. **Exp Clin Endocrinol Diabetes**. 1999; 107:119-125.

HOTAMISLIGIL, G. S. et al. IRS-1-mediated inhibition of insulin receptor tyrosine kinase activity inTNF-α- and obesity-induced insulin resistance. **Science**. 1996; 271: 665-668.

HURSEL, R.; WESTERTERP-PLATENGA, M. S. Thermogenic ingredients and body weight regulation. **Int J Obe**. 2010; 34:659-669.

Instituto Brasileiro de Geografia Estatística (IBGE). **Pesquisa de Orçamentos Familiares (POF) 2008-2009** – Antropometria e estado nutricional de crianças, adolescentes e adultos no Brasil. Rio de Janeiro: IBGE, 2010.

JAYAKUMAR, V.; AHMED, S. S. S. J.; EBENEZAR, K. K. Multivariate analysis and molecular interaction of curcumin with PPARγ in high fructose diet induced insulin resistance in rats. ***SpringerPlus***. 2016;5(1):1732.

JURENKA, J. S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of Curcuma longa: a review of preclinical and clinical research. **Altern Med Rev**, v.14, n.2, p.141-53, 2009.

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**. 2006; 444:840-846.

KHAJEHDEHI, P. et al. Oral supplementation of turmeric attenuates proteinuria, transforming growth factor-β and interleukin-8 levels in patients with overt type 2 diabetic nephropathy: a randomized, double-blind and placebo-controlled study. **Scand J Urol Nephrol**. 2011 Nov;45(5):365-70.

KRISHNASWAMY, K. Traditional Indian spices and their health significance. **Asia Pac J Clin Nutr**, v.17, Suppl 1, p.265-8, 2008.

LÓPEZ-LÁZARO, M. Anticancer and carcinogenic properties of curcumin: considerations for its clinical development as a câncer chemopreventive and chemotherapeutic agent. **Mol Nutr Food Res**. 2008;52(Suppl 1):S103–27.

LOWELL, B. B.; FLIER, J. S. Brown adipose tissue, beta 3-adrenergic receptors, and obesity. **Annu Rev Med**. 1997;48:307-16.

LOWELL, B. B.; SPIEGELMAN, B. M. Towards a molecular understanding of adaptive thermogenesis. **Nature**. 2000; 404:652-60.

MATA, A. R. et al. Identificação de compostos voláteis da cúrcuma empregando microextração por fase sólida e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v.24, n.1, p.151-157, mar. 2004.

MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais**: guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil. Fortaleza: Imprensa Universitária UFC, 2000.

MONTEIRO, R.; AZEVEDO, I. Chronic Inflammation in Obesity and the Metabolic Syndrome. **Mediators of Inflammation**, v.2010, Article ID 289645,10 pages.

NA, L. X. et al. Curcuminoids exert glucose-lowering effect in type 2 diabetes by decreasing serum free fatty acids: a double-blind, placebo-controlled trial. **Mol Nutr Food Res**. 2013 Sep.;57(9).

NEDERGAARD, J.; BENGTSSON, T.; CANNON, B. Unexpected evidence for active brown adipose tissue in adult humans. **Am J Physiol Endocrinol Metab**. 293: E444-E452, 2007.

NEYRINCK, A. M. et al. Curcuma longa extract associated with white pepper lessens high fat-induced inflammation in subcutaneous adipose tissue. **PLoS One**. 2013 Nov. 19; 8(11):e81252.

NTP Toxicology and Carcinogenesis Studies of Turmeric Oleoresin (CAS No. 8024-37-1) (Major Component 79%-85% Curcumin, CAS No. 458-37-7) in F344/N Rats and B6C3F1 Mice (Feed Studies). **Nati Toxicol Program Tech Rep Ser**. 1993; 427:1-275.

PEREIRA, L. O.; FRANCISCHI, R. P.; LANCHA JÚNIOR, A. H. Obesidade: hábitos nutricionais, sedentarismo e resistência à insulina. **Arq Bras Endocrinol Metab**. 2003; 47(2):111-127.

PINNICK, K. E. et al. Pancreatic ectopic fat is characterized by adipocyte infiltration and altered lipid composition. **Obesity** (Silver Spring) 2008; 16:522-530.

RAMASWAMY, T. S.; BANERJEE, B.N. Vegetable dyes as antioxidant for vegetable oils. **Annals of Biochemistry and Experimental Medicinal**, Calcutá, v.8, p.55, 1948.

RAMIREZ-BOSCÁ, A.; SOLER, A.; GUTIERREZ, M. A. C. Antioxidant curcuma extracts decrease the blood lipid peroxide levels of human subjects. **Age**, v.18, p.167-169, 1995.

RAVINDRAN, J.; PRASAD, S.; AGGARWAL, B. B. Curcumin and cancer cells: how many ways can curry kill tumor cells selectively? **AAPS J** 2009; 3:459-510.

REINBACH, H. C. et al. Effects of capsaicin, green tea and CH-19 sweet pepper on appetite and energy intake in humans in negative and positive energy balance. **Clin Nutr** (Edinburgh, Scotland) 2009, 28: 260-265.

RIZZA, R. A.; CRYER, P. E.; GERICH, J. E. Role of glucagon, cathecolamines, and growth hormone in human glucose counterregulation. Effects of somatostatin and combined alfa and beta-adrenergic blockade on plasma glucose recovery and glucose flux rates after insulininduced hypoglycemia. **J Clin Invest**. 1979;64:591.

SALTIEL, A. R.; KAHN, C. R. Insulin signalling and the regulation of glucose and lipid metabolism. **Nature**. 2001; 414:799-806.

SANDUR, S. K. et al. Role of pro-oxidants and antioxidants in the anti-inflammatory and apoptotic effects of curcumin (diferuloylmethane). **Free Radic Biol Med**. 2007;43:568-80.

SASIKUMAR, B. Genetic resources of Curcuma: diversity, characterization and utilization. **Plant Genetic Resources**. v.3, n.2, p. 230-251, 2005.

SHAO, W. et al. Curcumin prevents high fat diet induced insulin resistance and obesity via attenuating lipogenesis in liver and inflammatory pathway in adipocytes **PLoS One**. 2012;7(1):e28784.

SHAW, J. E.; SICREE, R. A.; ZIMMET, P. Z. Global estimates of the prevalence of diabetes for 2010 and 2030. **Diabetes research and clinical practice**, v. 87, n. 1, p. 4-14, 2010.

SHISHODIA, S.; SINGH, T.; CHATURVEDI, M. M. Modulation of transcription factors by curcumin. **Adv Exp Med Biol**. 2007; 595:127-48.

SHOBA, G. et al. Influence of piperine on the phamarcokineties of curcumin in animals and human volunteers. **Planta Medical,** v.64, p. 353-356, 1998.

STECKHAN, N. et al. Effects of different dietary approaches on inflammatory markers in patients with metabolic syndrome: A systematic review and meta-analysis. **Nutrition**. 2016 Mar;32(3):338-48.

SYNG-AI, C.; KUMARI, A. L.; KHAR, A. Effect of curcumin on normal and tumor cells: role of glutathione and bcl-2. **Mol Cancer Ther**. 2004;3: 1101-8.

TACO: Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos. Disponível em: <https://www.unicamp.br/nepa/taco/contar/taco_4_edicao_ampliada_e_revisada> Acesso em: 15 set. 2016.

TAKEUCHI, H.; MATSUO, T.; TOKUYAMA, K.; SHIMOMURA, Y.; SUZUKI, M. Diet-induced thermogenesis is lower in rats fed a lard diet than in those fed a high oleic safflower oil diet, a saf-flower oil diet or a linseed oil diet. **J Nutr**.125:920-5. 1995.

TRIGUEROS, L. et al. Food Ingredients as Anti-Obesity Agents: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**. 2013, 53:9, 929-942

VAN GEENEN, E. J. et al. Nonalcoholic fatty liver disease is related to nonalcoholic fatty pancreas disease. **Pancreas**. 2010;39(8):1185-1190.

WANG, S. et al. Curcumin promotes browning of white adipose tissue in a norepinephrine-dependent way. **Biochem Biophys Res Commun**. 2015 Oct 16;466(2):247-53.

WEISBERG, S. P.; LEIBEL, R.; TORTORIELLO, D. V. Dietary curcumin significantly improves obesity-associated inflammation and diabetes in mouse models of diabesity. **Endocrinology**. 2008 Jul;149(7):3549-58.

WHO - World Health Organization. Obesity – preventing and managing the global epidemic. Geneva: Report of a WHO Consultation, 2000.

WILD, S. et al. Global prevalence of diabetes: estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**. 2004; 27:1047–1053.

YANOVSKI, S. Z; YANOVSKI, J. A. Long-term drug treatment for obesity: a systematic and clinical review. **JAMA**. 2014 Jan 1;311(1):74-86

YUNES, R. A.; PEDROSA, R. C.; CECHINEL-FILHO, V. Fármacos e fitoterápicos: a necessidade do desenvolvimento da indústria de fitoterápicos e fitofármacos no Brasil. **Química Nova**, v.24, n.1, p.147-52, 2001.

ZHANG., Y.; PROENCA, R.; MAFFEI. M.; BARONE, M.; LEOPOLD, L.; FRIEDMAN, J. M. Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. **Nature 1994**;372:425-32

ZHOU, H. et al. Targets of curcumin. **Curr Drug Targets**, v. 12, n. 3, p. 332–347, 2012.

Anexos

ANEXOS

ANEXO 1 – Aprovação do CEUA – Comitê de Ética para Uso Animal da FMUSP.

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE MEDICINA DE RIBEIRÃO PRETO

— Comissão de Ética no Uso de Animais —
(16)3315-3301

CERTIFICADO

Certificamos que o Protocolo para Uso de Animais em Experimentação **nº 006/2015-1**, sobre o projeto intitulado *"Efeitos da ingestão de cúrcuma no controle do ganho de peso em ratos Wistar adultos obesos"*, sob a responsabilidade da **Professora Doutora Vivian Marques Miguel Suen** está de acordo com os Princípios Éticos em Experimentação Animal adotado pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi **APROVADO** em reunião de 29 de junho de 2015.

We certify that the protocol ***n° 006/2015-1***, entitled ***"Effects of ingestion of turmeric in controlling weight gain in obese adult rats"***, is in accordance with the Ethical Principles in Animal Research adopted by the National Council for the Control of Animal Experimentation (CONCEA) and was approved by the Local Animal Ethical Committee from the Ribeirão Preto Medical School of the University of São Paulo in ***06/29/2015.***

Ribeirão Preto, 29 de junho de 2015.

Prof. Dr. Fernando Silva Ramalho
Presidente da CEUA – FMRP - USP

Anexo 2 – Laudo de Análise do Componente Botânico – *Curcuma Longa L.*

florien
www.florien.com.br

INFORMAÇÕES GERAIS

Nosso lote:	055508	**Origem:**	China	**Fabricação:**	11/2014	**Nossa Validade:**	11/2017
Nomenclatura:	CURCUMIN EXTRATO SECO 96%	**Parte utilizada:**	Raiz	**Lote Origem:**	15010771A		
Nome Científico:	Curcuma longa L	**Esterilização:**	Não houve	**Validade:**	11/2017		

CARACTERÍSTICAS ORGANOLÉPTICAS

Cor: Amarelo - Alaranjado **Odor:** Característico **Sabor:** Característico

CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

Análise	Especificação	Resultado
Aspecto	Pó fino	De acordo
Elementos Estranhos	Ausente	De acordo
Umidade	< 3,0%	0,09%
Cinzas Totais	< 1,5%	0,02%
Densidade	Sem compactação	0,50 g/mL

TESTES DE IDENTIFICAÇÃO

Análise	Método
[illegible]itivo para Circumin	Outros

CARACTERÍSTICAS MICROBIOLÓGICAS

Análise	Especificação	Resultado	Conclusão
Contagem Padrão em placas	Máx. 10.000 ufc/g	< 10 ufc/g	De acordo
Escherichia coli (coliformes)	Ausência	Negativo	De acordo
Staphylococcus aureus	Ausência	Negativo	De acordo
Salmonella sp	Ausência	Negativo	De acordo

TEOR DE PRINCÍPIO ATIVO

Análise	
Teor de Curcuminóides >96,0%:	99,06%

OBS

Dados transcritos do laudo do fornecedor.

CONCLUSÃO

Data da análise: 2015-03-02 10:58:00 **Conclusão:** Aprovado

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

FB(Farmacopéia Brasileira) / USP(United States Pharmacopoeia)/
JP(Japanese Pharmacopoeia).
[illegible]ecificação e metodologia conforme laudo do fornecedor.

RESPONSÁVEIS

Farmacêutica Responsável

Paula M. Pezzatti

Farmacêutica Co-responsável

Karina M. Silva

Tel: +55 (19) **3429-1199** | Estrada Vicente Bellini, 175 • CEP 13428-000 • Piracicaba • SP
CNPJ: 00.602.210/0001-50 | Inscrição Estadual: 535.230.985.119 | Aut. func: MS.1.059837

Anexo 3 – Histologia em Parafina.

Fixação: formol 10% tamponado (tampão fosfato 0,1 M pH 7,4) por 24 horas

Lavagem: banho em água corrente (tirar o excesso de formol)

Desidratação: para incluir em parafina

Álcool 80%	por 30 minutos
Álcool 90%	por 30 minutos
Álcool 95%	por 30 minutos

As soluções puras (absolutas: 100%) não podem exceder o tempo estipulado, somente as misturas.

Álcool absoluto 1	por 30 minutos
Álcool absoluto 2	por 30 minutos
Álcool absoluto 3	por 30 minutos
Mistura álcool absoluto + xilol (1/1)	durante a noite

No dia seguinte continua-se:

Diafanização: xilol para deixar a amostra transparente

Xilol 1	por 30 minutos
Xilol 2	por 30 minutos

Inclusão de parafina: Banho de parafina na estufa a 60° C por 2h

Banho 1	por 1 hora
Banho 2	por 1 hora

Inclusão da amostra na bandeja: Executar esse procedimento em chapa quente (60° C) para manter a parafina líquida. Colocar a amostra na bandeja na posição desejada (de tal forma que se consiga ter no corte as camadas da pele [epiderme, derme e subcutâneo]). Colocar a cassete, preencher com parafina líquida, tirar o molde da chapa quente para solidificar a parafina e, por fim, colocar o molde no freezer para se soltar perfeitamente da cassete.

Corte: regular no micrótomo a espessura para 3 µm. Para melhor qualidade do corte, ideal que a sala esteja bem fria e os blocos de parafina bem gelados. Afixar a cassete no micrótomo com a epiderme e derme lateralmente (ou na diagonal com a epiderme para cima) e começar a cortar. Pegar as “tripinhas” e colocar diretamente num banho histológico aquecido à 57°C para o corte esticar-se. Mergulhar parte da lâmina no banho e “pescar” a amostra. Secar o excesso de água com o papel higiênico. Colocar a lâmina em pé no suporte. A lâmina está pronta para ser corada.

Desparafinização: as lâminas são colocadas inclinadas no suporte, por 1h na estufa a 60° C. Em seguida, banhos de xilol são para retirar a parafina:

Xilol 2 por 5 minutos

Xilol 1 por 5 minutos

Hidratação: os corantes são hidrossolúveis. Deve-se hidratar a amostra para corar.

2 min em: Álcool absoluto 2

Álcool absoluto 1

Álcool 95%

Álcool 90%

Álcool 80%

2 min em água corrente

Coloração (HE): ou qualquer outro corante

5 minutos em Hematoxilina (o tempo pode variar)

5 minutos em água corrente

Álcool 80% (1 passada)

1 minuto em Eosina (esse tempo pode variar)

Desidratação: antes de montar precisa desidratar

Álcool 80% (passadas em poucos segundos)

Álcool 90%

Álcool absoluto 1

Álcool absoluto 2

Xilol 1

Xilol 2

Xilol 3

montagem

Montagem: colar a lamínula com Entelan, Permout ou Bálsamo do Canadá.