

EFEITOS METABÓLICOS DO EXTRATO DE *Musa cavendishii* EM MODELO EXPERIMENTAL DE SÍNDROME METABÓLICA EM RATOS INDUZIDOS POR PREDNISONA

ALES JUNIOR, José Helvecio¹
ABREU, Iracelle Carvalho²

RESUMO

A síndrome metabólica (SM) é caracterizada como um transtorno de associação de fatores de risco como dislipidemia, hiperglicemia e resistência insulínica (RI) no desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCVs). Os glicocorticoides (GCs) atuam antagonicamente à insulina, diminuindo a captação de glicose gerando RI onde o uso crônico pode propiciar SM. A espécie vegetal utilizada nesse estudo foi a *Musa cavendishii* que é popularmente conhecida como banana. O objetivo do trabalho foi desenvolver uma formulação oral do extrato de *M. cavendishii* para verificar seus efeitos sobre a SM induzida por prednisona 100mg, em ratos, durante 60 dias. As alterações metabólicas foram avaliadas por monitoramento do peso, análises bioquímicas e TOTG (teste de tolerância à glicose). Os ratos foram divididos nos grupos: Controle Negativo (Xarope), Controle Positivo (Pred) e grupos teste: PFEM100 e PFEM250. Na análise estatística utilizou-se teste “t” de *Student*, seguida do teste *Newman-Keuls*. A administração da formulação nos grupos teste, PFEM 100 e 250, paralelo ao uso da prednisona, evitou o sobrepeso nos animais, em relação ao grupo Pred. A glicemia e perfil lipídico foram estabilizados em relação ao grupo Pred, evitando hiperglicemia, hipertrigliceridemia e hipercolesterolemia nos grupos teste. No TOTG observou-se uma melhora na absorção de glicose nos tecidos periféricos. Conclui-se que a formulação evitou fatores de risco para a SM, e tem potencial terapêutico e profilático na diabetes, DCVs e situações que exigem uso prolongado de GCs.

PALAVRAS-CHAVE: Glicocorticóide. *Musa cavendishii*. Síndrome Metabólica

METABOLIC EFFECTS OF *Musa cavendishii* EXTRACT IN AN EXPERIMENTAL MODEL OF METABOLIC SYNDROME IN RATS INDUCED BY PREDNISONE

ABSTRACT

Metabolic syndrome (MS) is characterized as a disorder associated with risk factors such as dyslipidemia, hyperglycemia and insulin resistance (IR) in the development of cardiovascular diseases (CVDs). Glucocorticoids (GCs) act antagonically to insulin, decreasing glucose uptake generating IR where chronic use can provide MS. The plant species used in this study was *Musa cavendishii*, which is popularly known as banana. The objective of the study was to develop an oral formulation of *M. cavendishii* extract to verify its effects on MS induced by prednisone 100mg, in rats, for 60 days. Metabolic changes were assessed by monitoring weight, biochemical analyzes and TOTG (glucose tolerance test). The rats were divided into groups: Negative Control (Xarope), Positive Control (Pred) and test groups: PFEM100 and PFEM250. In the statistical analysis, Student “t” test was used, followed by the *Newman-Keuls* test. The administration of the formulation in the test groups, PFEM 100 and 250 in parallel with the use of prednisone, prevented overweight in animals, compared to the Pred group. The glycemia and lipid profile were stabilized in relation to the Pred group, avoiding hyperglycemia, hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia in the test groups. At TOTG, there was an improvement in glucose absorption in peripheral tissues. It is concluded that the formulation avoided risk factors for MS, and has therapeutic and prophylactic potential in diabetes, CVDs and situations that require prolonged use of GCs.

KEYWORDS: Glucocorticoid. *Musa cavendishii*. Metabolic syndrome

¹ Discente do curso de Medicina do Centro Universitário FAG. Mestre em Saúde do Adulto pela UFMA. E-mail: jh.junior@hotmail.com.br

² Docente pHD do Departamento de Ciências Fisiológicas da UFMA. E-mail: iracelec@hotmail.com

1. INTRODUÇÃO

Síndrome metabólica é um fator preponderante para a ocorrência de doenças cardiovasculares, que por sua vez representa 30% do total de óbitos no Brasil (BRASIL, 2016). Além disso, indivíduos diagnosticados com síndrome metabólica possuem o dobro de chance de desenvolverem eventos cardiovasculares quando comparados aos que não possuem (ALBERTI *et al*, 2009).

A nível mundial a prevalência varia de 20 a 35%. Observa-se também que nas últimas duas décadas, a prevalência de síndrome metabólica apresenta-se em total crescimento em várias regiões do mundo, sendo considerada um grave problema de saúde pública. (LI *et al*, 2018; AGUILAR *et al*, 2015; ARSENTALES-MONTALVA *et al*, 2019; VIDIGAL *et al*, 2013)

Levando esses dados alarmantes em consideração investigamos nesse estudo a ação de uma formulação oral desenvolvida com o extrato obtido das cascas da espécie vegetal *Musa cavendishii* em parâmetros metabólicos e morfométricos de animais expostos a um modelo experimental de indução de síndrome metabólica através do uso crônico de um glicocorticóide oral de potência intermediária (prednisona). O gênero *Musa spp.* engloba espécies que são popularmente conhecidas como banana, um pseudofruto de fácil acesso e amplamente distribuído no nosso país.

Entre os parâmetros bioquímicos, avaliamos a ação da formulação oral na glicemia e perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol total e HDL), na absorção periférica de glicose e acúmulo de reservas energéticas (glicogênio e gordura hepáticos). Analisou-se também a morfometria de órgãos e como se comportavam as funções renal e hepática dos animais durante o tratamento proposto. Além disso, também averiguamos a relação dos animais frente ao consumo de alimento e as consequências disso.

2. METODOLOGIA

2.1 ESPÉCIE VEGETAL

As cascas do fruto de *Musa Cavendishii* foram coletadas no município de São Luís – Maranhão, no bairro “cohafuma”. Selecionou-se as bananas com as cascas “verdes” para se obter maior concentração de metabólitos secundários (taninos e compostos fenólicos). Uma amostra da casca foi identificada no Herbário Ático Seabra da Universidade Federal do Maranhão (nº01091).

2.2 ANIMAIS

Utilizou-se ratos da espécie *Rattus norvegicus*, linhagem wistar, adultos, machos, 60 dias de idade, fornecidos pelo Biotério Central da UFMA. Os animais foram mantidos em gaiolas de polietileno, forradas com xilana, com ração e água *ad libitum* e sob ciclo claro/escuro de 12h, em temperatura de 22°C. Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFMA, registrado sob o nº23115.012396/2011-15.

2.3 OBTENÇÃO DO EXTRATO HIDROALCÓOLICO

Após a coleta e limpeza, triturarou-se em turbolizador as cascas *in natura* com etanol 70% na proporção de 1:3 p/v e submetidas à maceração durante 72h. Em seguida realizou-se filtração a vácuo e o produto filtrado foi concentrado em rotaevaporador LABOROTA 4000 (60°C – 100rpm). Em seguida o extrato foi seco com secador de fluxo de ar quente.

2.4 Preparo de extrato, xarope e suspensão do glicocorticoide sintético prednisona para indução dos animais

O extrato seco foi ressuspendido com os seguintes veículos: propilenoglicol e xarope à base de sorbitol (não-glicogênico) e denominado formulação do extrato de Musa (FEM). A suspensão de prednisona foi preparada com prednisona (Tianjin Tianyao Pharmaceutical/China) dissolvida em xarope até a concentração de 100 mg/mL

2.5 GRUPOS EXPERIMENTAIS

Os animais foram divididos em grupos de 6 animais com a seguinte configuração:

- Grupo 1: Controle negativo (Xarope), tratado apenas com xarope de sorbitol
- Grupos 2: Controle positivo (Pred), induzido com prednisona 100mg/kg;
- Grupo 3: Grupo teste (PFEM100), induzido com prednisona 100mg/kg e tratado com FEM 100mg/mL;
- Grupo 4: Grupo teste (PFEM250), induzido com prednisona 100mg/kg e tratado FEM 250mg/mL.

2.6 INDUÇÃO DA SÍNDROME METABÓLICA EXPERIMENTAL EM ROEDORES

Os animais dos grupos Pred, PFEM100 e PFEM250, receberam diariamente, uma solução de prednisona, via oral, na dose de 100 mg/kg de peso corporal, por 60 dias. Administrou-se a droga cerca de duas horas após a administração da FEM que ocorreu entre 12-13:00h.

2.7 AVALIAÇÃO CLÍNICA E LABORATORIAL DO TRATAMENTO DOS ANIMAIS

Os parâmetros de glicemia, variação de peso e consumo de ração, foram monitorados durante todo o tratamento. A glicemia capilar foi mensurada através de glicosímetro a cada 15 dias, e a variação de peso e consumo de ração com a verificação dos pesos dos animais e do peso de ração consumida, respectivamente.

As coletas de sangue ocorreram antes (tempo 0) e com 4 semanas de tratamento para monitoramento dos parâmetros bioquímicos: colesterol total, triglicerídeos, colesterol HDL, aspartato aminotransferase (AST), alanina aminotransferase (ALT), uréia, proteínas totais e frações com o aparelho de análises bioquímicas Bioplus BIO-2000®. O sangue foi retirado via região periorbital para a realização das análises.

Ao final do tratamento de 8 semanas, os animais, após jejum de 8h, foram eutanasiados com anestesia profunda de xilasina e ketamina, retirando-se sangue da artéria aorta para determinações bioquímicas e tecido hepático para análises de glicogênio e gordura hepáticos. Para análise morfométrica, os rins, fígado, pâncreas, gordura retroperitoneal, epididimal e glândula adrenal também foram isolados e pesados.

2.8 TESTE DE TOLERÂNCIA ORAL À GLICOSE

Os animais foram mantidos em jejum alimentar de 8h. Após verificação dos níveis basais de glicose (tempo zero), receberam glicose a 50% por via oral. Novas alíquotas de sangue foram coletadas nos tempos 15, 30, 60, 120min, após a administração de glicose.

2.9 TESTE DE TOLERÂNCIA À INSULINA

Os animais após verificação dos níveis basais de glicose (tempo zero), receberam insulina na concentração de 0,3 UI/100g de peso corpóreo, via subcutânea. Novas alíquotas de sangue foram coletadas nos tempos 5, 10, 15 e 20min, após a injeção de insulina. O quadro de tolerância à insulina

foi verificado pela área sob a curva de decaimento dos níveis de glicose nos diferentes tempos de coleta.

2.10 QUANTIFICAÇÃO DE GLICOGÊNIO E GORDURA TOTAL HEPÁTICOS

Utilizou-se amostras de tecido hepático (1 g) que foram digeridas em 1ml de solução de NaOH a 30%, durante 60 minutos, em banho quente. A precipitação do glicogênio hepático foi realizada em 0,1ml de solução saturada de Na₂SO₄ e 3,5ml de etanol e posteriormente dosada em espectrofotômetro NOVA 2000 UV.

A dosagem de gordura também utilizou 1g de amostra de tecido hepático. O tecido foi homogeneizado com uma solução de clorofórmio e metanol na proporção de 2:1 v/v. A mistura ficou *overnight* e no dia seguinte filtradas. O conteúdo foi centrifugado por 5 minutos a 1000 rpm e adicionou-se salina 0,9%. Centrifugou-se novamente por 5 minutos a 1000 rpm. Após a centrifugação a fase superior da mistura foi descartada e a fase inferior foi posta em estufa para evaporação do clorofórmio. Em seguida determinou-se o peso da gordura total no tecido hepático.

2.11 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão das médias. Foi utilizado teste “t” de *Student*, para a comparação de duas médias pareadas, seguida do teste de Newman-Keuls para múltiplas comparações. Todas as discussões estatísticas foram realizadas no nível de 95% de significância.

3. REFERÊNCIAL TEÓRICO

A Síndrome Metabólica é descrita na literatura como um distúrbio onde coexistem três ou mais fatores de risco para o desenvolvimento de patologias cardiovasculares, tais como: obesidade abdominal, hiperglicemias e resistência à insulina, hipertensão arterial e dislipidemias (hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia e redução dos níveis séricos de colesterol lipoprotéico de alta densidade) (PUCCI *et al*, 2017).

As dislipidemias apresentam papel central no desenvolvimento da obesidade e aterosclerose que consequentemente culminam em doenças cardiovasculares (UNGKMOKER *et al*, 2007). Dessa forma a obesidade é o alvo principal do tratamento de síndrome metabólica, já que a redução de peso

corpóreo melhora o perfil lipídico, diminui a pressão arterial, a glicemia, além de melhorar a sensibilidade à insulina (UNGKMOKER *et al.*, 2006).

Nesse contexto, os glicocorticóides (GCs), que são potentes hormônios esteroides, já tem sido associado com a síndrome metabólica pela comunidade acadêmica (ARNALDI *et al.*, 2003). O uso crônico de GCs sintéticos conduz à obesidade central, dislipidemia, hipertensão, intolerância à glicose e resistência à insulina. O mecanismo principal para isso está na ação antagônica dos GCs à insulina no corpo humano (ARNALDI *et al.*, 2003). Os GCs exercem ação predominante sobre o metabolismo intermediário, com efeitos principalmente sobre os tecidos hepático, muscular e adiposo (REYNOLDS; WALKER, 2003). Utilizamos a prednisona para esse estudo, glicocorticóide sintético de ação intermediária, para indução de síndrome metabólica nos animais de modo que permita observar a evolução das alterações metabólicas de forma mais gradativa.

Dessa forma, a espécie *Musa cavendishii*, pertencente ao gênero *Musa* e família Musaceae, popularmente conhecidas como banana, foi pensada como alternativa terapêutica para a profilaxia da síndrome metabólica, visto que as cascas contêm alta fibra dietética e alto teor fenólico (PEREIRA; MARASCHIN, 2015), as quais foram relatadas como possuindo propriedades biológicas como atividade antioxidantes (FIDRIANNY; KIKI RIZKI; INSANU, 2014), além de atividade antimicrobiana (CHABUCK *et al.*, 2013). Como tal, as cascas de banana têm um forte potencial para uma maior utilização nas indústrias farmacêutica e gerar um possível medicamento fitoterápico.

4.0 ANÁLISES E DISCUSSÃO

Nessa pesquisa foi proposto trabalhar com um corticoide de ação intermediária e potência quatro vezes maior que o cortisol, a prednisona, pela possibilidade em observar a evolução das alterações metabólicas de forma mais gradual. Nos últimos anos, a influência dos corticóides no metabolismo vem sendo cada vez mais discutida, principalmente, a dexametasona, por serem uma das classes de medicamentos mais prescritas e utilizadas em várias condições clínicas (SOLÍS *et al.* 2016). A administração desse fármaco à 1mg/kg, durante cinco dias, promove redução de peso acentuada, hiperinsulinemia, resistência à insulina nos tecidos periféricos, hiperglicemia, dislipidemia acentuada, aumentando principalmente, triglicerídeos séricos (RAFACHO *et al.*, 2012; RAFACHO *et al.*, 2009).

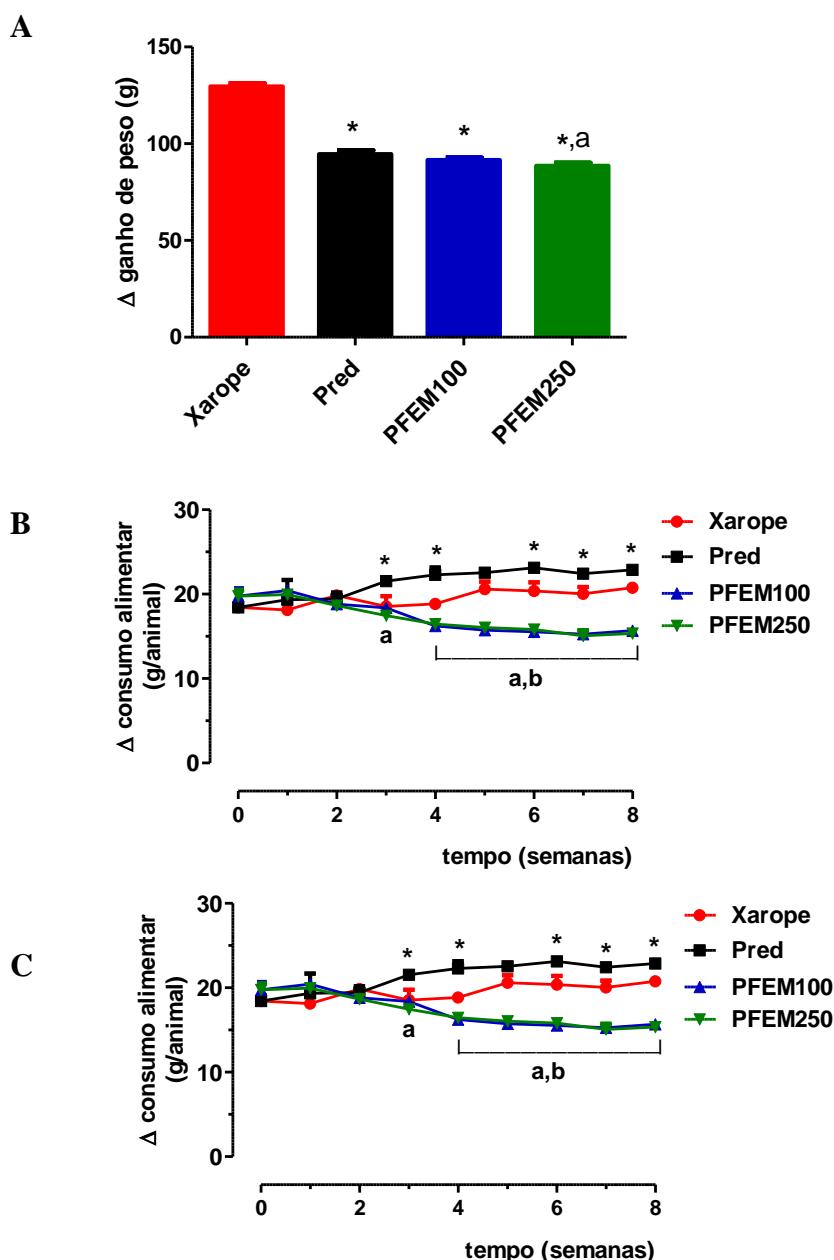
4.1. A ADMINISTRAÇÃO DA FEM MANTÉM O GANHO DE PESO E MELHORA A EFICIÊNCIA ALIMENTAR DE RATOS TRATADOS COM PREDNISONA

Observando o desenvolvimento ponderal dos animais (**Figura 1**), verificamos que os grupos que receberam prednisona, durante 8 semanas, apresentam menor ganho de peso em relação ao grupo Xarope ($129,6 \pm 1,600$ g), representando uma redução de 27,08%, 29,32% e 31,71% ($p < 0,0001$) para os grupos Pred, PFEM100 e PFEM250, respectivamente. O grupo PFEM250 ($88,50 \pm 1,628$ g) também acumulou menos peso em relação ao grupo Pred ($94,50 \pm 2,045$ g) em 6,35% ($p < 0,05$) (**Figura 1A**).

No que se refere ao consumo de ração (**Figura 1B**), na 3^a semana o grupo Pred apresenta um consumo maior que o Xarope ($18,54 \pm 1,211$ g) em 16,18% ($p < 0,015$). Os animais tratados com a formulação (PFEM100 e PFEM250) apresentam a mesma média de consumo, menor em relação ao grupo Pred ($21,54 \pm 0,535$ g) em 18,94% ($p < 0,015$) na 3^a semana. Na 4^a semana, eles também se diferenciam do grupo Xarope ($18,86 \pm 0,343$ g) em 12,72% ($p < 0,05$) e aumenta um pouco a diferença em relação ao grupo Pred ($22,28 \pm 0,865$ g) para 26,12% ($p < 0,0001$). Estas diferenças foram mantidas até o final do tratamento.

A relação entre o menor ganho de peso e o consumo de ração nos grupos que receberam prednisona resultou em uma menor eficiência alimentar, em relação ao grupo Xarope ($0,143 \pm 0,0052$), já na 1^a semana, com valores menores em 12,43% ($p < 0,001$) para o grupo Pred, e de 21,93% ($p = 0,0001$) para os grupos tratados com a formulação (**Figura 1C**). O grupo Pred apresentou uma eficiência cada vez menor, reduzindo em até 40,36% (Xarope= $0,098 \pm 0,006$, $p < 0,0001$) no final do tratamento. Os grupos PFEM100 e PFEM250 apresentam um coeficiente de eficiência alimentar estável a partir da 2^a semana de experimento, melhorado em relação ao grupo Pred ($0,076 \pm 0,003$) na 4^a semana em 20,52% ($p < 0,05$), chegando a aumentar este coeficiente em 54,40% ($p < 0,0001$) no final do tratamento (Pred= $0,058 \pm 0,003$).

Figura 1. Variações no Ganhos de peso (A); Consumo de ração (B) e do Coeficiente de eficiência alimentar (C) dos grupos Xarope, Pred e PFEM 100 e PFEM 250 durante as 8 semanas de tratamento



Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Valores expressos como médias \pm SEM. *: Pred vs. Xarope; a: PFEM100 e 250 vs. Pred (Teste one-way ANOVA, seguido de *Newman-Keuls*, n=5-6).

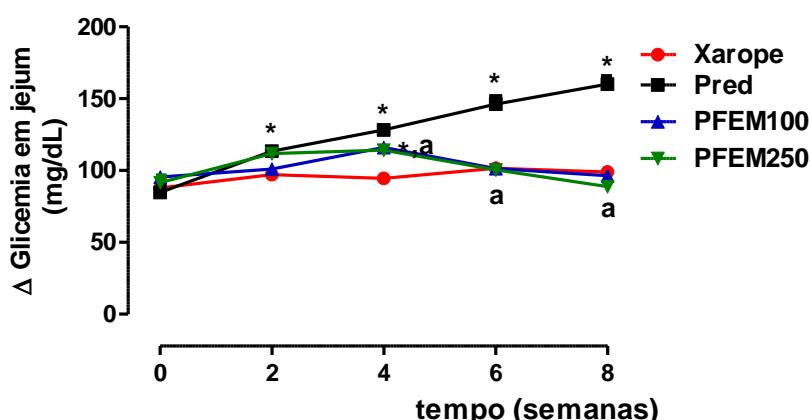
O perfil de crescimento menor dos grupos tratados com prednisona, principalmente o grupo Pred, apesar do aumento no consumo, ocorre pelo aumento do gasto calórico basal. Segundo Gathercole et al (2013), os glicocorticoides expõe o tecido adiposo à ação de hormônios lipolíticos (adrenalina e noradrenalina) promovendo aumento da hidrólise de triglicerídeos e liberação de ácidos graxos para o sangue, acelerando o metabolismo basal dos animais.

Os grupos tratados com a formulação tiveram menor ganho de peso, em relação aos demais grupos, provavelmente pelo menor consumo de ração ao longo das 8 semanas. O consumo diminuído poderia ser explicado pela capacidade do extrato na formação de gel a partir de suas fibras solúveis, com alimentos na mucosa gastrintestinal, retardando o esvaziamento gástrico e prolongando a saciedade (NEVES *et al*, 2011).

4.2. A ADMINISTRAÇÃO DA FEM MELHORA OS VALORES GLICÊMICOS E EVITA A DISLIPIDEMIA EM RATOS TRATADOS COM PREDNISONA

As Figura 2 e 3 mostram a evolução dos parâmetros bioquímicos glicemia em jejum e do perfil lipídico (triglicerídeos, colesterol e HDL), respectivamente, monitorados antes do tratamento (tempo 0) e a cada 2 semanas até o final de 8 semanas. Na Figura 2 o grupo Pred apresenta um perfil crescente para os valores de glicemia em jejum em relação ao grupo Xarope, ao longo do tratamento, representando um aumento de 61,62% (Pred= $160,0 \pm 5,24$ mg/dL; Xarope= $99,0 \pm 2,97$ mg/dL, $p < 0,0001$) ao final de 8 semanas. O tratamento com a formulação nas doses de 100 e 250mg/kg foi capaz de evitar a elevação dos valores glicêmicos, diferenciando-se do grupo Pred ($128,3 \pm 2,813$ mg/dL) em 11% ($p=0,01$) após 4 semanas. Além disso, reduziu a glicemia nas semanas seguintes, voltando aos seus valores basais (PFEM100= $96,4 \pm 2,62$ mg/dL; PFEM250= $88,8 \pm 1,82$ mg/dL). Corroborando com esses resultados, Neves (2011) observou em seu estudo que a farinha da casca da banana apresenta ação hipoglicemiante.

Figura 2: Evolução da glicemia em jejum dos grupos Xarope, Pred, PFEM100 e PFEM250, durante oito semanas.



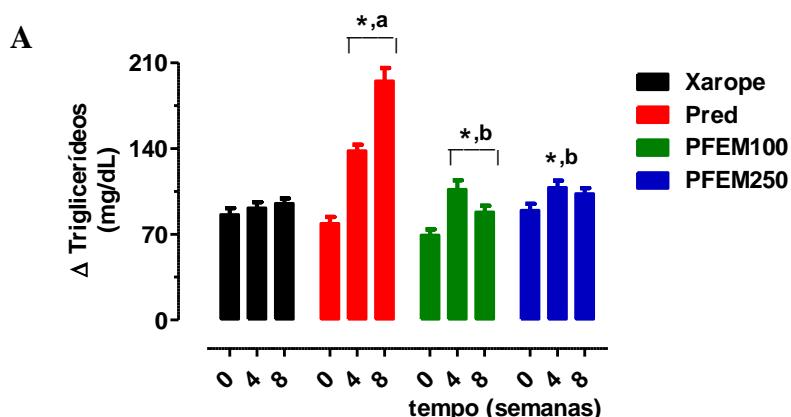
Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Valores expressos como médias \pm SEM, *: Pred vs. Xarope; ^a:PFEM100 e 250 vs. Pred (teste one-way ANOVA, seguido de Newman-Keuls, $n=5-6$).

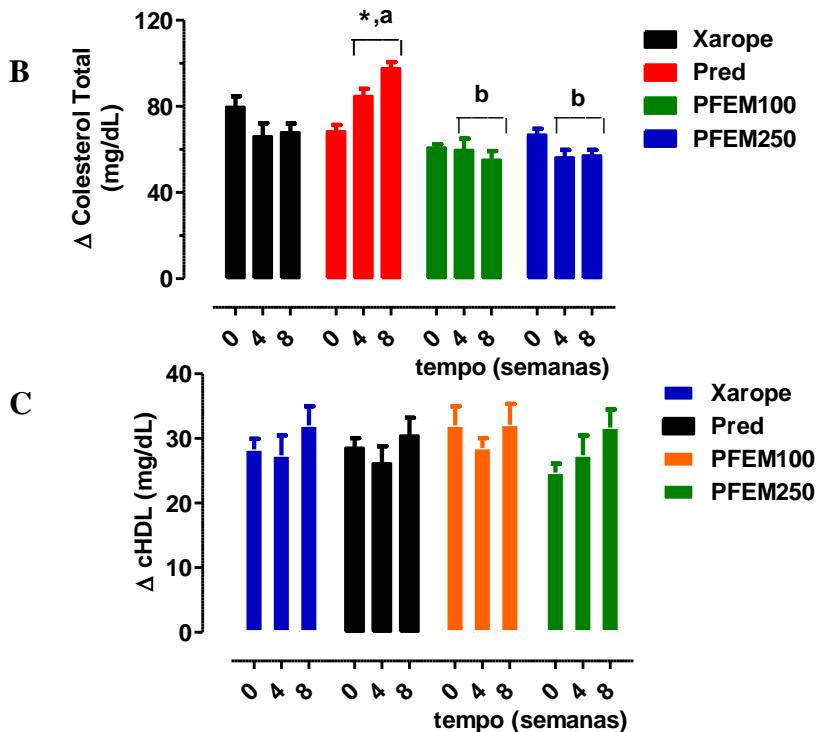
Na **Figura 3A**, observa-se que os grupos que receberam prednisona (Pred; PFEM100 e PFEM250) apresentaram, após 4 semanas, elevação dos valores de triglicerídeos (TG) séricos em 75,40%; 54,10% e 20,85% respectivamente em relação aos seus valores iniciais, (Pred= $78,79 \pm 5,355$ mg/dL; PFEM100= $69,24 \pm 4,731$ mg/dL e PFEM250= $89,53 \pm 5,213$ mg/dL) quando comparados aos seus valores iniciais. Porém somente o grupo Pred apresentou hipertrigliceridemia na 8^a semana, representando um aumento de 147,75% ($195,20 \pm 10,350$ mg/dL; $p < 0,0001$) em relação ao seu valor basal e de 105,08% ($p < 0,0001$) em relação ao grupo Xarope ($95,18 \pm 4,176$ mg/dL). Após a 4^a semana, a formulação mostrou-se capaz de reduzir os valores de triglicerídeos, voltando, estatisticamente aos seus valores basais (PFEM100= $88,16 \pm 5,08$ mg/dL e PFEM250 = $103,10 \pm 4,558$ mg/dL), inibindo as ações da prednisona, no final do tratamento.

O grupo Pred também aumentou os níveis séricos de colesterol total na 4^a semana ($84,67 \pm 3,448$ mg/dL), em 23,73% ($p = 0,0035$) e na 8^a semana ($97,67 \pm 2,98$ mg/dL), em 42,73% ($p = 0,0026$) em relação ao seus valores iniciais ($68,43 \pm 3,00$ mg/dL), representando um aumento de 43,80% ($p < 0,0001$) em relação ao grupo Xarope ($67,92 \pm 4,167$ mg/dL). O tratamento com a formulação consegue bloquear as ações da prednisona, mantendo os valores de seus grupos iguais aos apresentados antes do tratamento (PFEM100= $55,20 \pm 4,122$ mg/dL e PFEM250= $57,20 \pm 2,605$ mg/dL) (**Figura 3B**).

Não houveram alterações nos níveis do colesterol HDL entre os valores da 4^a e 8^a semanas e os valores basais, bem como não houve diferença significante entre os grupos monitorados neste trabalho (**Figura 3C**).

Figura 3: Evolução das concentrações plasmáticas (mg/dL) de Triglicerídeos (A), Colesterol total (B), Colesterol da lipoproteína de alta densidade (cHDL, C) dos grupos Xarope, Pred e PFEM100 e PFEM250, durante oito semanas.





Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Valores expressos como médias \pm SEM, *: vs. valores basais (test t pareado, n=5,6);^a: Pred vs. Xarope; ^b: PFEM100 e 250 vs Pred (teste one-way ANOVA seguido Newman-Keuls, n=5-6).

A tendência inicial em elevar os valores de triglicerídeos (TG) (**Figura 3A**) séricos em relação aos seus valores iniciais nos grupos tratados com a prednisona está relacionado com a capacidade dos glicocorticóides de aumentar a oferta de glicose e de ácidos graxos livres e glicerol ao fígado, bem como de aumentar a atividade de enzimas envolvidas na lipogênese hepática favorecendo a hipertrigliceridemia e consequente aumento dos níveis de colesterol total característicos da RI, como observado na **Figura 3B** (GATHERCOLE et al 2013). Os grupos tratados com a FEM foi eficaz em evitar nas taxas lipídicas elevadas, diminuindo o risco de dislipidemia e os indicativos de resistência à insulina, embora não tenha apresentado efeito sobre os níveis de cHDL.

4.3. A ADMINISTRAÇÃO DA FEM MELHORA A CAPTAÇÃO DE GLICOSE EM RATOS TRATADOS COM PREDNISONA

A **figura 4A** mostra o comportamento dos grupos diante de uma sobrecarga de glicose 50%, no teste de tolerância à glicose (TOTG). Observa-se que o grupo Pred já apresenta glicemia basal elevada ($149,7 \pm 4,193$ mg/dL), quando comparada com o grupo xarope ($101,8 \pm 2,437$ mg/dL), e com os grupos da formulação (PFEM100= $104,0 \pm 1,673$ mg/dL e PFEM250= $105,2 \pm 3,719$ mg/dL, $p < 0,0001$). Os grupos que receberam prednisona, apresentam picos glicêmicos 15 min após a administração da

glicose, representando um acúmulo de 82,16% no grupo Pred ($272,7 \pm 8,176$ mg/dL), 80,77% no PFEM100 ($188,0 \pm 1,602$ mg/dL) e 76,14% no PFEM250 ($185,3 \pm 8,127$ mg/dL), em relação aos seus valores iniciais. Diferentemente, o grupo Xarope apresentou seu pico glicêmico ($175,8 \pm 5,073$ mg/dL) aos 30 min, acumulando glicose em 72,69%.

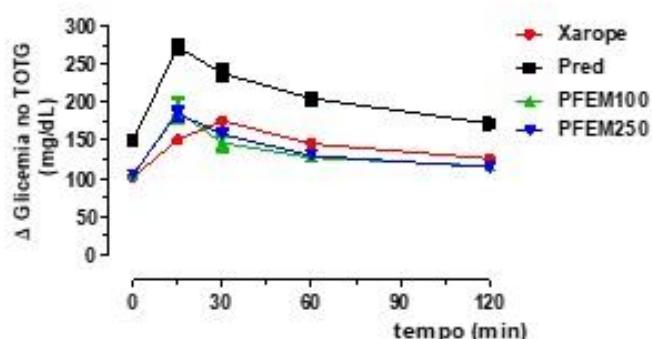
A **Figura 4B** mostra a área sob a curva do TOTG. O grupo Pred apresenta uma área sob a curva 84,94% ($p < 0,0009$) maior em relação ao grupo Xarope. Os grupos tratados com a formulação apresentam áreas sob a curva semelhantes ao grupo Xarope.

Os resultados são compatíveis com o estudo de Imam e Akter (2011) que demonstraram que o extrato metanólico de *Musa sapientum* melhora a sensibilidade periférica à ação da insulina, reduzindo a glicemia, hemoglobina glicada e glicosúria, além de melhorar a resposta periférica no teste do TOTG em animais diabéticos por aloxana.

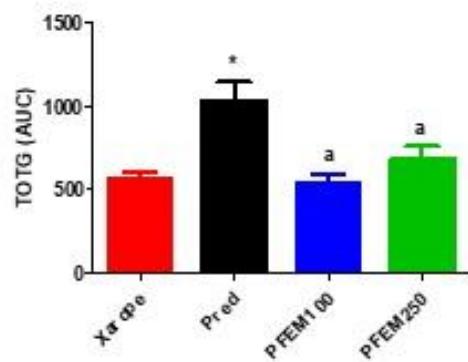
Na **Figura 4C**, observa-se o comportamento dos grupos diante de uma aplicação intraperitoneal de insulina, no teste de tolerância à insulina (ITT). O grupo Pred já apresenta inicialmente, valores pós-prandiais de glicemia ($168 \pm 5,136$ mg/dL) maiores que o grupo Xarope ($127 \pm 3,763$ mg/dL). Observa-se também um padrão parecido de captação à glicose, estimulada pela insulina, entre os grupos Pred e Xarope, porém o grupo Pred é mais lento, acumulando mais glicose ($124,2 \pm 3,081$ mg/dL) que o grupo xarope ($85,8 \pm 3,072$ mg/dL) ao final de 20 min. Os grupos PFEM100 e PFEM250, apresentam resposta no ITT muito semelhante à resposta do grupo Xarope. Estes dados são confirmados com os valores de Área sob a curva (**Figura 4D**), de forma que o grupo Pred apresenta uma área sob a curva 60,61% ($756,5 \pm 44,21$, $p < 0,0001$) maior que o Xarope ($471,0 \pm 39,01$), enquanto os grupos PFEM100 ($443,4 \pm 31,39$) e 250 ($548,9 \pm 40,71$) mostraram valores equivalentes ao xarope.

Figura 4: Variação da glicemia e Área sob a curva dos valores de glicose no TOTG (**Figuras A e B**) e ITT (**Figuras C e D**) dos grupos Xarope, Pred, PFEM 100 e PFEM250, durante oito semanas

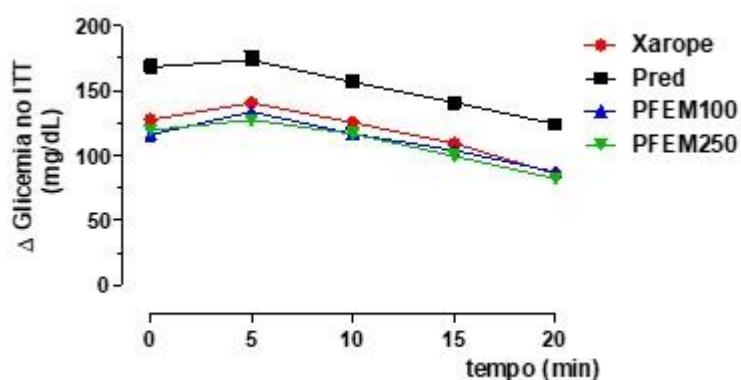
A



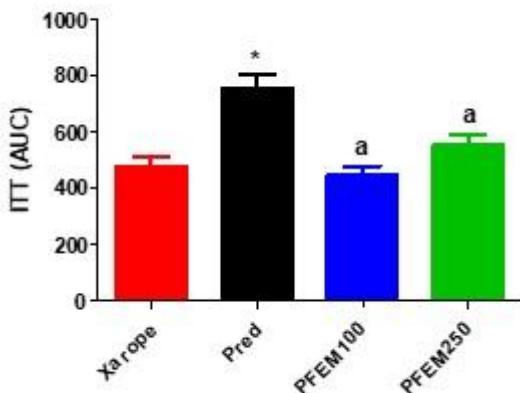
B



C



D



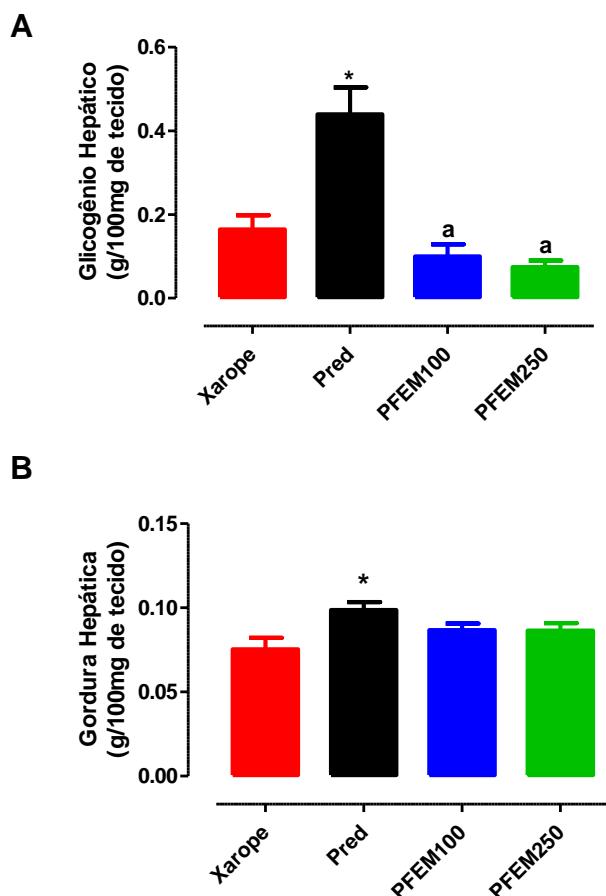
Fonte: elaborado pelo autor (2020). Valores expressos como médias \pm SEM, *: Pred vs. Xarope; ^a: PFEM100 e 250 vs. Pred (teste one-way ANOVA seguido *Newman-Keuls*, n=5-6).

4.4. A ADMINISTRAÇÃO DA PFEM INIBE ACÚMULO DE RESERVAS ENERGÉTICAS HEPÁTICAS

A **Figura 5A** mostra que a prednisona aumenta as reservas de glicogênio hepático no grupo Pred em 167,91% ($p<0,0001$) em relação ao grupo xarope ($0,164\pm0,0340\text{mg}/100\text{g}$ de fígado). Entretanto, o tratamento com a formulação nos grupos teste inibe este acúmulo de glicogênio, apresentando valores equivalentes ao grupo Xarope.

Na **Figura 5B**, observa-se que o grupo Pred acumulou mais gordura hepática, em 31,08% ($p<0,0342$) em relação ao grupo xarope ($0,075\pm0,0069\text{mg}/100\text{g}$ de fígado). Os grupos PFEM não apresentaram diferença significativa em relação aos outros grupos.

Figura 5: Quantitativo de Glicogênio (A) e Gordura (B) em tecido hepático isolado de ratos dos grupos Xarope, Pred, PFEM100 e PFEM250, durante oito semanas



Fonte: elaborado pelo autor (2020)..Valores expressos como médias \pm SE, *: Pred vs Xarope; ^a: PFEM vs Pred (teste one-way ANOVA seguido *Newman-Keuls*, $n=5-6$).

4.5. A ADMINISTRAÇÃO DA FEM INIBE HIPERTROFIA DE ÓRGÃOS METABÓLICOS E EVITA ACÚMULO DE GORDURA EM RATOS TRATADOS COM PREDNISONA

Na **Tabela 1**, observa-se o peso de órgãos dos animais após eutanásia no término do tratamento. Verifica-se que o grupo Pred tem aumento de massa no fígado (23%, $p<0,0028$) e no pâncreas (27,45%, $p<0,05$) em relação ao grupo Xarope, provavelmente devido ao acúmulo de glicogênio e gordura hepáticos, além da maior oferta de substratos dos tecidos periféricos ao fígado desses animais. No caso do pâncreas o aumento do peso do órgão se deu provavelmente pelo aumento de respostas compensatória do pâncreas e no aumento do número e do tamanho das células betapancreáticas, secretando mais insulina, diante de valores crescentes e permanentes de glicemia. Rafacho (2009) demonstrou que ratos tratados com dexametasona 1mg/kg durante 5 dias apresentaram um aumento de 1,7 vezes na massa de ilhotas pancreáticas quando comparado com ratos tratados com salina.

Os grupos teste (PFEM100 e PFEM250) inibiram o aumento de massa hepática em 14% e 14,36% ($p<0,0028$), respectivamente, e da massa do pâncreas, apresentando valores equivalentes ao grupo Xarope. A formulação evita esta provável hipertrofia e hiperplasia pancreática por conseguir manter os níveis glicêmicos sob controle, não exigindo maior secreção de insulina nos seus animais.

A gordura retroperitoneal mostra uma redução nos grupos que receberam prednisona em 63,28%; 49,59% e 45,76%, respectivamente para os grupos Pred, PFEM100 e PFEM250, em relação ao grupo Xarope ($1,279\pm0,0522g$, $p=0,0004$). Quanto à gordura epididimal, observamos que os grupos PFEM100 e PFEM250, reduziram sua gordura em 24,81% ($p<0,001$) e 40,2% ($p<0,0001$), em relação ao grupo Pred ($1,418\pm0,1299g$), que não apresentou diferença em relação ao grupo Xarope. A maior taxa para o grupo Pred em ambos os tecidos de gordura possivelmente também está associada com o aumento das atividades lipolíticas nos tecidos adiposos.

O peso das glândulas adrenais mostra que o grupo Pred teve uma retração de 25,02% ($p<0,0324$) em relação ao grupo Xarope. Tal comportamento pode ocorrer pela manutenção exógena de níveis circulantes elevados do hormônio, promovendo *feedback* neuroendócrino negativo do sistema do eixo hipotálamo-pituitária-adrenal reduzindo a atividade da glândula. Não houve diferença estatística, quanto ao peso dos rins, entre os grupos monitorados.

Tabela 1: Peso dos órgãos dos grupos Xarope, Pred, PFEM100 e PFEM250

Órgãos	Xarope	Pred	PFEM 100	PFEM250
Fígado	2,74 ± 0,085	3,10 ± 0,137*	2,90 ± 0,088 ^a	2,97 ± 0,040 ^a
Pâncreas	0,53 ± 0,042	0,62 ± 0,042*	0,46 ± 0,045 ^a	0,54 ± 0,015 ^a
Gordura retroperitoneal	1,28 ± 0,052	0,81 ± 0,114*	0,65 ± 0,089 ^b	0,69 ± 0,072 ^b
Gordura epididimal	1,74 ± 0,135	1,42 ± 0,130	1,25 ± 0,15 ^{a,b}	0,95 ± 0,055 ^{a,b}
Glândulas Adrenais	0,021 ± 0,001	0,015 ± 0,001*	0,019 ± 0,002	0,016 ± 0,001
Rins	0,72 ± 0,018	0,70 ± 0,063	0,76 ± 0,037	0,69 ± 0,018

Fonte: Elaborado pelo autor (2020). Valores expressos como médias ± SEM, *: vs. valores basais (test t pareado, n=5,6);^a: Pred vs. Xarope; ^b: PFEM100 e 250 vs Pred (teste one-way ANOVA seguido Newman-Keuls, n=5-6).

4.6. A ADMINISTRAÇÃO DA FEM NÃO CAUSA INDÍCIOS DE TOXICIDADE NAS FUNÇÕES HEPÁTICAS E RENAIAS EM RATOS TRATADOS COM PREDNISONA

A Tabela 2 apresenta os parâmetros bioquímicos das provas funcionais hepáticas e renais, monitorados antes do tratamento (tempo 0) após quatro semanas (tempo 4) e no final do tratamento (semana 8). Verificou-se que não houveram alterações nas dosagens das enzimas hepáticas –aspartato aminotransaminase (AST) e alanina aminotransaminase (ALT) e dos marcadores renais: proteínas totais (PT), albumina e uréia, durante todo o tratamento, bem como não houve diferença significante entre os grupos monitorados neste trabalho indicando pré-liminamente que a utilização da FEM é segura toxicologicamente e pode ser usada por um período maior de tempo.

Tabela 2: Análise de provas funcionais hepáticas e renais dos grupos Xarope, Pred, PFEM 100 e PFEM 250, durante oito semanas

	Sem	Xarope	Pred	PFEM100	PFEM250
AST (U/L)	0	41,67 ± 1,02	43,87 ± 2,41	40,87 ± 2,32	44,40 ± 2,81
	4	42,00 ± 2,87	51,51 ± 2,51	39,62 ± 2,11	43,73 ± 2,64
	8	41,47 ± 2,19	44,45 ± 2,17	41,40 ± 1,74	43,85 ± 2,70
ALT (U/L)	0	22,89 ± 1,11	21,13 ± 1,36	25,25 ± 2,22	24,65 ± 2,61
	4	18,49 ± 2,64	20,25 ± 1,62	15,85 ± 1,67	21,13 ± 1,93
	8	20,80 ± 0,66	20,83 ± 0,35	20,76 ± 0,75	20,28 ± 0,43
PT (g/dL)	0	6,68 ± 0,24	6,44 ± 0,27	6,44 ± 0,22	6,31 ± 0,11
	4	6,11 ± 0,19	6,15 ± 0,24	6,35 ± 0,18	6,19 ± 0,28
	8	6,10 ± 1,08	6,11 ± 0,17	6,24 ± 0,16	6,35 ± 1,35
Albumina (g/dL)	0	2,72 ± 0,10	2,79 ± 0,11	2,61 ± 0,21	2,77 ± 0,14
	4	2,38 ± 0,12	2,56 ± 0,06	2,54 ± 0,14	2,71 ± 0,11
	8	2,52 ± 0,20	2,48 ± 0,11	2,49 ± 0,15	2,64 ± 0,12
Uréia (mg/dL)	0	78,05 ± 7,67	66,16 ± 2,47	64,76 ± 5,85	60,79 ± 3,74
	4	78,11 ± 5,88	69,78 ± 4,19	73,47 ± 5,61	67,36 ± 4,60
	8	81,60 ± 3,34	61,50 ± 2,92	66,30 ± 6,73	66,00 ± 1,77

Fonte: Ela pelo autor (2020). AST–aspartato aminotransaminase; ALT – alanina aminotransaminase; PT- proteínas totais. Valores expressos como médias ± SEM.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conclui-se assim que a formulação oral obtida com o extrato hidroalcoólico de *Musa cavendishii* foi capaz de evitar alterações nos valores da glicemia e na absorção periférica pelos principais tecidos, dislipidemia secundária e não é tóxicos para as funções hepática e renal. Ao melhorar a sensibilidade periférica à insulina, a FEM evita o acúmulo de reservas energéticas, cujas são dependentes da disponibilidade de substratos, a partir de rotas catabólicas na corrente sanguínea. Desta forma, acreditamos que esta formulação possa ter potencial terapêutico e profilático, em patologias cujo tratamento exija uso relativamente prolongado de glicocorticoides em altas doses, e que também possa contribuir para o tratamento da Síndrome metabólica e do *Diabetes mellitus* tipo 2. Entretanto, outros protocolos são necessários para que sejam investigados os mecanismos de ação pelos quais a formulação esteja atuando.

REFERÊNCIAS

- AGUILAR, M. Prevalence of the metabolic syndrome in the United States, 2003-2012. **JAMA**. v.313, p.1973-4, 2015. <https://doi.org/10.1001/jama.2015.4260>
- ALBERTI, K. G. *et al*, Harmonizing the metabolic syndrome: A Joint Interim Statement of The International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, p.1640-5, 2009. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.109.192644>
- ARNALDI, G. *et al*, Diagnosis and complications of Cushing's syndrome: a consensus statement. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 88, p. 5593-5602, 2003. <<https://doi.org/10.1210/jc.2003-030871>>
- ARSENTALES-MONTALVA, V. *et al*, Asociación entre actividad física ocupacional y síndrome metabólico: Un estudio poblacional en Perú. **Ver. Chil. Nutr.** v.46, p.392-9, 2019. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-75182019000400392>
- Brasil. Ministério da Saúde. Datasus. **Morbidade e informações epidemiológicas**. Brasil: Ministério da Saúde, 2016. Disponível em: <http://www.datasus.gov.br> (acesso: Maio de 2020)
- CHABUCK, Z. A. G. *et al*, Antimicrobial effect of aqueous banana peel extract. **Research Gate Pharmaceutical Science**. v. 1, p. 73–75, 2013 <https://www.researchgate.net/publication/259266080_Antimicrobial_Effect_of_Aqueous_Banana_Peel_Extract_Iraq/citation/download>
- FIDRIANNY, I.; KIKI RIZKI, R.; INSANU, M. In vitro antioxidant activities from various extracts of banana peels using ABTS, DPPH assays and correlation with phenolic, flavonoid, carotenoid content. **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 6, p. 299–303, 2014. <<https://innovareacademics.in/journals/index.php/ijpps/article/view/2783.>>

GATHERCOLE, L. L. *et al*, Regulation of lipid metabolism by glucocorticoids and 11beta-HSD1 in skeletal muscle. **Endocrinology**, v. 154, p.2374–2384, 2013 < <https://doi.org/10.1210/en.2012-2214>>

IMAM, M.Z.; AKTER, S. *Musa paradisiaca L.* and *Musa sapientum L.*: A Phytochemical and Pharmacological Review. **J. App. PharmSci.**, vol.1, p.14-20, 2011. < https://www.japsonline.com/admin/php/uploads/78_pdf.pdf>

LI, Y. *et al*, Metabolic syndrome prevalence and its risk factors among adults in China: A nationally representative cross-sectional study. **PloS One**. v. 13, p.80-93, 2018. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0199293>

NEVES, W. *et al*, Efeito hipoglicemiante das farinhas de banana verde e de maracujá no controle da glicemia em diabéticos. **Revista UNIFOA**, vol. 4, p.41-49, 2011. < <http://revistas.unifoabr/index.php/cadernos/article/view/1220/0>>

PEREIRA, A.; MARASCHIN, M. Banana (*Musa spp*) from peel to pulp: Ethnopharmacology, source of bioactive compounds and its relevance for human health. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 160, p. 149–163, 2015. < <https://doi.org/10.1016/j.jep.2014.11.008>>

PUCCI, G. *et al*, Sex and gender-related prevalence, cardiovascular risk and therapeutic approach in metabolic syndrome: a review of the literature. **Pharmacol. Res.** Vol. 120, p. 34-42, 2017. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28300617>)

RAFACHO, A. *et al*, High doses of dexamethasone induce increased beta-cell proliferation in pancreatic rat islets. **Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.**, v. 296, p.681–689, 2009. < <https://doi.org/10.1152/ajpendo.90931.2008>>

RAFACHO, A.; BOSCHERO, A.C.; ORTSÄTER, H. Functional and molecular aspects of glucocorticoids in the endocrine pancreas and glucose homeostasis. **Therapeutic Endocrinology**. v.189, p. 121-152, 2012. < DOI:10.5772/50233>

REYNOLDS, R. M.; WALKER, B. R. Human insulin resistance: the role of glucocorticoids. **Diabetes Obes. Metab.**, v. 5, p. 5-12, 2003. < <https://doi.org/10.1046/j.1463-1326.2003.00221.x>>

SOLÍS, M. *et al*, Evaluación del uso de corticoides inhalados en altas dosis para el tratamiento de crisis asmática. **Revista Americana de Medicina Respiratoria**, vol. 16, núm. 1, pp. 4-10, 2016 < <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=382144644002>>

UNGKMOEKER, R. H. *et al*, Lipid homeostasis, lipotoxicity and the metabolic syndrome. **Biochim.Biophys Acta**.v.1801, p. 209–214, 2010. < <https://doi.org/10.1016/j.bbaliip.2009.10.006>>

VIDIGAL, F.C. *et al*, Prevalence of metabolic syndrome in Brazilian adults: a systematic review. **BMC Public Health**. v.13, p.1198, 2013. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-13-1198>