



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Botucatu



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA

"Júlio de Mesquita Filho"

INSTITUTO DE BIOCÊNCIAS DE BOTUCATU

EFEITO DO LITOSPERMOSÍDEO EM CAMUNDONGOS
DIABÉTICOS DO TIPO 1 INDUZIDOS POR
ESTREPTOZOTOCINA

Aislan Quintiliano Delgado

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências,
Campus de Botucatu, UNESP, para obtenção do título
de Mestre no Programa de Pós-Graduação em
Biologia Geral e Aplicada, Área de concentração:
Biologia de processos e Sistemas.

Orientador: Prof. Dr. José Roberto Bosqueiro

BOTUCATU – SP
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: LUCIANA PIZZANI-CRB 8/6772

Delgado, Aislan Quintiliano.

Efeito do litospermosídeo em camundongos diabéticos do tipo 1 induzidos por estreptozotocina / Aislan Quintiliano Delgado. - Botucatu, 2019

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Instituto de Biociências de Botucatu

Orientador: José Roberto Bosqueiro Capes:
20702000

1. Diabetes mellitus. 2. Fígado. 3. Hipoglicemiantes.

Palavras-chave: Cianoglicosídeo; Diabetes mellitus; Fígado; Hipoglicemiante.

Dedico esse trabalho a Deus, que me capacitou para a realização do mesmo, e aos meus pais, Rosenwald e Edinês, pelo amor, paciência dedicação e apoio em todo meu período acadêmico.

Agradecimento

Agradeço primeiramente a Deus, por estar constantemente me capacitando e dando saúde para poder realizar essa etapa em minha vida.

Agradeço aos meus pais, Rosenwald, Edinês, minha irmã Stephanie e minha vó Inês, grandes incentivadores da minha carreira acadêmica, pelos ensinamentos, dedicação, carinho, amor e apoio indispensáveis.

Agradeço à minha família, principalmente, ao Tio Edson, à Tia Tania, à prima Júlia e meu cunhado Kelsey.

Agradeço em especial meu orientador José Roberto Bosqueiro, por ter acreditado no meu trabalho, pela paciência, amizade, por compartilhar todo seu vasto conhecimento com os pesquisadores mais jovens e pelo exemplo de dedicação profissional. Muito obrigado pela oportunidade de tê-lo como orientador.

Agradeço imensamente a todos os colaboradores que contribuíram de alguma forma com a realização deste trabalho. Em especial ao pessoal do laboratório de Química de Produtos Naturais da Unesp- Bauru, Laboratório de Bioquímica da Usp-Bauru e do laboratório de ciências farmacêuticas da universidade de Genebra.

Agradeço a todos os professores que participaram da banca do exame de qualificação, bem como a todos que aceitaram compor a banca de defesa de dissertação, pela dedicação de tempo e pelas contribuições para esse trabalho.

Agradeço a todos os meus amigos que direta ou indiretamente contribuíram de alguma forma com a realização deste trabalho.

Agradeço a FAPESP, CAPES e CNPQ, pelos auxílios financeiros que viabilizaram o desenvolvimento desta dissertação.

A todos, meu muito obrigado!

“Até aqui me ajudou o Senhor”

1 Samuel 7:12

RESUMO

O termo *Diabetes mellitus* (DM) descreve uma desordem metabólica, caracterizada por hiperglicemia crônica, resultante da falta de produção de insulina e/ou de resistência à ação do mesmo. Atualmente, muitos medicamentos são utilizados para tratar diabetes, incluindo insulina exógena e drogas alopáticas como biguanidas, sulfonilureias e inibidores de alfa-glicosidases. Entretanto, possuem muitos efeitos adversos que diminuem a qualidade de vida do paciente e a resposta por uso prolongado. Somado ao fato de que a incidência do DM vem se elevando de modo alarmante, os estudos com plantas que possuam efeitos antidiabéticos vêm despertando o interesse por parte dos pesquisadores. Estudos anteriores do nosso grupo de pesquisa sobre o efeito hipoglicemiante do extrato de folhas de *Bauhinia holophylla* nos permitiu identificar e isolar a molécula responsável pelo efeito hipoglicemiante. Tal molécula é denominada litospermosídeo, um cianoglicosídeo não-cianogênico. Assim, o presente estudo teve como objetivo realizar a caracterização geral do efeito do litospermosídeo no quadro diabético de camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina e tratados por 14 dias nas doses 1, 5, 10 e 20mg/Kg, na busca de uma alternativa para o tratamento do diabetes. Foram utilizados camundongos machos *Swiss*, que foram separados em 1 grupo normoglicêmico e 5 grupos diabéticos. A glicemia de jejum mensurada nos dias 7 e 14, e a ingestão hídrica e alimentar e o peso corpóreo foram medidos diariamente. No 14º dia, foram analisadas a sensibilidade à insulina e a tolerância à glicose. Após os 14 dias, os animais foram eutanasiados e tiveram órgãos pesados; foram retirados fragmentos de músculo e fígado para a mensuração de glicogênio hepático e muscular, do fígado para análise proteômica, e sangue foi coletado para análise dos parâmetros bioquímicos. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. Para comparação entre múltiplos resultados paramétricos foi utilizado ANOVA de dois caminhos seguido do pós teste de *Tukey*. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$. O tratamento com o litospermosídeo durante quatorze dias não se mostrou tóxico aos animais e diminuiu a glicemia em jejum já no 7º dia de tratamento. Também aumentou a sensibilidade à insulina e maior tolerância à glicose. Impediu também a proteólise muscular e conseqüentemente a perda de massa muscular, assim como reduziu a perda de peso corpóreo. Houve a diminuição do colesterol total e os triglicerídeos, aumento do colesterol HDL e a albumina sérica, além de aumentar o armazenamento de glicogênio hepático. Através das análises proteômica pode-se perceber que o litospermosídeo foi capaz de amenizar as anomalias no metabolismo lipídico e

energético causados pelo diabetes. O litospermosídeo foi capaz de melhorar o quadro diabético em camundongos induzidos por estreptozotocina.

Palavras-chave: Cianoglicosídeo, *Diabetes mellitus*, fígado, hipoglicemiante.

Abstract

The term Diabetes mellitus (DM) describes a metabolic disorder characterized by chronic hyperglycemia resulting from lack of insulin production and/or resistance to insulin action. Many medications are currently being used to treat diabetes, including exogenous insulin and allopathic drugs such as biguanides, sulfonylureas, and alpha-glycosidase inhibitors. However, they have many adverse effects that decrease the quality of life of the patient and the response for prolonged use. In addition to the fact that the incidence of DM is rising alarmingly, studies with plants that have anti-diabetic effects have aroused the interest of the researchers. Previous studies by our research group on the hypoglycemic effect of *Bauhinia holophylla* leaf extract have allowed us to identify and isolate the molecule responsible for the hypoglycemic effect. Such a molecule is called lithospermoside, a non-cyanogenic cyanoglycoside. The aimed of this study was to characterize the lithospermoside effect in the diabetic group of diabetic mice induced by streptozotocin and treated for 14 days at doses 1, 5, 10 and 20mg / kg, in the search for an alternative treatment of diabetes. Male Swiss mice were used, which were separated into 1 normoglycemic group and 5 diabetic groups. Fasting glycemia measured on days 7 and 14, and water and food intake and body weight were measured daily. On the 14th day, insulin sensitivity and glucose tolerance were analyzed. After 14 days, the animals were euthanized and had heavy organs; muscle and liver fragments were collected for the measurement of hepatic and muscular glycogen from the liver for proteomic analysis, and blood was collected for analysis of biochemical parameters. The results were expressed as mean \pm standard error of the mean. For comparison between multiple parametric results, two-way ANOVA was used followed by *Tukey's* test post. The level of significance was set at $p < 0.05$. Treatment with lithospermoside for fourteen days did not prove to be toxic to the animals and decreased fasting glycemia by the 7th day of treatment. It also increased insulin sensitivity and increased glucose tolerance. It also prevented muscle proteolysis and consequently loss of muscle mass, as well as reduced body weight loss. There was a decrease in total cholesterol and triglycerides, an increase in HDL cholesterol and serum albumin, and an increase in the storage of hepatic glycogen. Through proteomic analysis it can be seen that lithospermoside was able to alleviate the anomalies in lipid and energy metabolism caused by diabetes. Lithospermoside was able to improve the diabetic condition in streptozotocin-induced mice.

Key Words: Cyanoglycoside, *Diabetes mellitus*, liver, hypoglycemic

Lista de Ilustrações

- Figura 1:** Estrutura molecular do composto litospermosídeo, um cianoglicosídeo não-cianogênico isolado das folhas de *Bauhinia holophylla*.....20
- Figura 2:** Glicemia de jejum (mg/dL) de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias.....30
- Figura 3:** Glicogênio hepático (mg%) de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias.....31
- Figura 4:** Glicogênio muscular (mg%) de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias.....33
- Figura 5:** Ingestão alimentar (g ração/100g peso corpóreo) de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias35
- Figura 6:** Ingestão hídrica (mL/animal) de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias.....35
- Figura 7:** Teste de tolerância à glicose de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias.....36
- Figura 8:** Gráfico de área sob a curva a partir da glicemia no ipGTT de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias37
- Figura 9:** Teste de sensibilidade à insulina de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias.....38
- Figura 10:** Gráfico de área sob a curva a partir da glicemia no ipGTT de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratado com salina ou litospermosídeo durante 14 dias38

Lista de Tabelas

- Tabela 1-** Efeito da administração de salina ou litospermosídeo sobre o peso dos órgãos de camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina 33
- Tabela 2-** Efeito da administração de salina ou litospermosídeo sobre o peso corpóreo de camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina 34
- Tabela 3-** Efeito da administração de salina ou litospermosídeo sobre os parâmetros bioquímicos de camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina..... 40
- Tabela 4-** Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos do tratado com litospermosídeo 10 mg/Kg (DL10) em comparação com o grupo normoglicêmico tratado com salina (CS)..... 41
- Tabela 5-** Proteínas identificadas no fígado de camundongos normoglicêmicos tratados com salina(CS)..... 42
- Tabela 6-** Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo a 10 mg/Kg (DL10). 42
- Tabela 7-** Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos do grupo tratado com litospermosídeo 10 mg/Kg (DL10) em comparação com o grupo diabético tratado com salina (DS). 42
- Tabela 8-** Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo a 10 mg/Kg (DL10). 43
- Tabela 9-** Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos tratados com salina (DS) em comparação com o grupo normoglicêmico tratado com salina (CS)..... 43
- Tabela 10-** Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com salina (DS). 44
- Tabela 11-** Proteínas identificadas no fígado de camundongos normoglicêmicos tratados com salina (CS). 44

Lista de Abreviaturas e Siglas

ADA	Associação Americana de Diabetes
ALT	Alanina Aminotransferase
AST	Aspartato Transaminase
ATP	Adenosina Trifosfato
CEUA	Comissão de Ética no Uso de Animais
CS	Grupo controle normoglicêmico tratado com salina
DKD	Doença renal diabética
DL1	Grupo diabético tratado com litospermosídeo 1mg/kg
DL5	Grupo diabético tratado com litospermosídeo 5mg/kg
DL10	Grupo diabético tratado com litospermosídeo 10mg/kg
DL20	Grupo diabético tratado com litospermosídeo 20mg/kg
DM	<i>Diabetes Mellitus</i>
DMT1	<i>Diabetes Mellitus</i> tipo1
DMT2	<i>Diabetes Mellitus</i> tipo2
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DS	Grupo diabético tratado com salina
ERO	Espécies reativas de oxigênio
Et al.	E outros
Glut2	Transportador de glicose do tipo 2
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
Kg	Quilogramas
KOH	Hidróxido de Potássio

M	Molar
Mg	Micrograma
ml	Microlitros.
Mm	Micrometro
mM	Millimolar
NaCl	Cloreto de Sódio
NAD	Dinucleótido de nicotinamida e adenina
Na ₂ SO ₄	Sulfato de sódio
nm	Nanômetros
NO	Óxido Nítrico
OMS	Organização Mundial da Saúde
RI	Resistência à Insulina
SEM	erro padrão da média
STZ	Estreptozotocina

Sumário

1. Introdução	15
1.1 Insulina	15
1.2 <i>Diabetes Mellitus</i>	16
1.3 Diabetes Experimental	17
1.4 Gênero <i>Bauhinia</i>	18
1.5 Litospermosídeo.....	19
2. Objetivo Geral.....	20
2.1 Objetivo Específico	20
3. Material e Método.....	22
3.1 Obtenção do litospermosídeo	22
3.2 Animais.....	22
3.3 Indução ao Diabetes	24
3.4 Tratamento com litospermosídeo	24
3.5 Glicemia de jejum	24
3.6 Ingestão Hídrica e alimentar	25
3.7 Peso corpóreo.....	25
3.8 Teste intraperitoneal de tolerância à insulina (IGITT)	25
3.9 Teste intraperitoneal de tolerância à glicose (IpITT).....	25
3.10 Glicogênio Hepático e Muscular	26
3.11 Obtenção do Soro.....	26
3.12 Parâmetros Bioquímicos	27
3.13 Análise proteômica do tecido hepática.....	27
3.13.1 Preparo da amostra.....	27
3.13.2 Análise por UPCC acoplada a espectrometria de massa	28
3.14 Análise Estatística	28
4. Resultados	29
4.1 Glicemia.....	29
4.2 Glicogênio hepático	30
4.3 Glicogênio muscular	31
4.4 Peso dos órgãos.....	32
4.5 Peso corpóreo.....	33
4.6 Ingestão Alimentar e Hídrica	34
4.7 IpGTT	37
4.8 IpITT.....	37
4.9 Parâmetros Bioquímicos Plasmáticos	39
4.10 Análise proteômica do fígado	40
5. Discussão	45
6. Conclusão	53

7. Referência Bibliográfica	54
8. Anexos	59

1. INTRODUÇÃO

1.1 Insulina

A insulina é o hormônio anabólico mais conhecido e essencial para a manutenção da homeostase da glicose, além de atuar na diferenciação e crescimento celular. A insulina é secretada pelas células β das ilhotas pancreáticas em resposta ao aumento dos níveis de glicose e aminoácidos no sangue após as refeições (Carvalho *et al.*, 2002). Seus efeitos ocorrem através de receptores localizados na membrana celular de tecidos responsivos à insulina, como músculo estriado, fígado e tecido adiposo (Argilés & Lopez-Soriano, 2001). A insulina atua em vários processos metabólicos, que incluem o controle do metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas (Anderson *et al.*, 1994).

A secreção da insulina pelas células β sofre influência de vários fatores, como os níveis plasmáticos de glicose, de somatostatina, de glucagon e pelos sistemas nervoso simpático e parassimpático. A glicose é o principal estimulador da secreção de insulina, e tem sua entrada nas células β proporcionada pelo transportador de glicose 2 (GLUT 2). A elevação da concentração de glicose e sua metabolização aumentam a concentração intracelular de ATP. Como resultado, os canais de potássio sensíveis ao ATP fecham-se causando despolarização da membrana e abertura de canais de cálcio dependentes de voltagem. Esse fluxo de cálcio é percebido por proteínas de ligação ao cálcio, o que impulsiona o deslocamento de grânulos secretórios ao longo dos microtúbulos que levam à fusão das vesículas com a membrana plasmática e exocitose do hormônio (Bressler & Johnson, 1997; Kalwat, M. A & Cobb, M. H, 2017).

A homeostase da glicose é controlada pela insulina através de inúmeros processos, que incluem a síntese de glicogênio (glicogênese), ou sua degradação devido a períodos de jejum (glicogenólise), a quebra de glicose para liberação de energia (glicólise), ou ainda a inibição da produção de glicose pelo fígado através de compostos que não são carboidratos

(gliconeogênese) em situação de jejum intenso ou ainda doenças, como o *Diabetes mellitus* (DM) (Carvalho *et al.*, 2002).

Defeitos na ação ou secreção da insulina podem levar à instalação do DM e têm como consequência a hiperglicemia crônica, desequilíbrio no metabolismo de proteínas e lipídeos, além de poliúria, polifagia e polidipsia (Carvalho *et al.* 2002).

1.2 Diabetes Mellitus

O DM é uma desordem metabólica que tem a hiperglicemia crônica como característica devido a defeitos na secreção, ação de insulina ou ambos. Tal desordem resulta em um desequilíbrio nos metabolismos de carboidratos, lipídeos e proteínas, acarretando em grandes complicações em longo prazo (Varela *et al.*, 2014).

A Organização Mundial de Saúde (OMS) afirma que o diabetes afeta aproximadamente 422 milhões de pessoas ao redor do mundo, e estima-se que afetará cerca de 642 milhões em 2040, devido ao crescimento populacional, ao envelhecimento, à urbanização, ao sedentarismo e ao aumento da obesidade. O DM está entre as dez principais causas de morte nos países ocidentais, responsável por 1,5 milhões de mortes até o ano de 2012, sendo que 43% dessas mortes ocorreram em pessoas com menos de 70 anos devido ao aumento da incidência de doenças cardiovasculares e, apesar dos crescentes estudos a respeito dessa doença, ainda não foi possível controlar de fato suas complicações. Em 2016 16 milhões de pessoas foram acometidas pelo DM, sendo a mesma responsável pela morte de 72,2 mil brasileiros com mais de 30 anos, representando 6% de todas as mortes no Brasil. A OMS ainda acrescenta que 1 mês de tratamento com insulina custaria aos brasileiros o equivalente ao seu salário de 2,8 dias de trabalho.

De acordo com a etiologia, podemos citar duas classes clínicas principais que são

classicamente descritos: *Diabetes mellitus* tipo 1 (DMT1), caracterizado pela total deficiência na produção de insulina, resultado de destruição autoimune das células β pancreáticas, representando de 5 a 10% de todos os casos de diabetes. Afeta principalmente crianças e jovens que necessitam da administração diária de insulina exógena para a manutenção da homeostase da glicemia. O *Diabetes mellitus* tipo 2 (DMT2), que se instala pela ação ineficiente da insulina nos tecidos periféricos (Öztürk *et al.*, 1996; WHO, 2016), é mais frequente, compreendendo cerca de 95% dos casos, e tende a se manifestar em indivíduos adultos, com idade superior a 40 anos, e que possuem dieta inadequada associada ao estilo de vida sedentário (Dias *et al.*, 2007). A resistência à insulina (RI) se instala quando as células alvo não respondem aos níveis normais de insulina no sangue e, por isso, a elevação dos níveis de insulina é necessária para assim manter a normoglicemia. Entretanto, isso resulta em mais insulina produzida pelo pâncreas, ocasionando a hiperinsulinemia. Com o decorrer do tempo, a compensação de células β pancreáticas para a resistência à insulina se minimiza, tendo como resultado o declínio exponencial da função dessas células, resultando na instalação do DMT2. As principais características da resistência à insulina são o aumento da lipólise no tecido adiposo, aumento da gliconeogênese no fígado e diminuição da absorção da glicose pelo músculo (Kasuga, 2006).

A hiperglicemia crônica leva a várias complicações, como deficiências renais, vasculares, oftálmicas, neurológicas, perda de peso, problemas digestivos, alterações no processo de cicatrização de lesões e amputações em casos mais graves (Ciardullo *et al.*, 2004).

1.3 Diabetes Experimental

A estreptozotocina (STZ) é um produto químico amplamente utilizado na indução de diabetes experimental em roedores e é altamente específica, agindo seletivamente sobre as

células β , nas quais penetra através do transportador de glicose GLUT2 (Elsner *et al.*, 2000; Wu *et al.*, 2015). A STZ causa danos ao DNA, através da formação de óxido nítrico (NO), um agente citotóxico, levando à morte das células β pancreáticas. O efeito diabetogênico da STZ provém da alcalinização do DNA celular e a subsequente ativação da poli-ADP ribose sintetase que causa depleção rápida e letal de NAD nas células- β pancreáticas, com redução no nível de ATP e posterior inibição da síntese e secreção da insulina (Bennett, 1981; Bolzán, 2002; Szkudelski, 2001). A ação simultânea do óxido nítrico (NO) e espécies reativas de oxigênio também podem contribuir para a fragmentação do DNA e outras alterações deletérias causadas pela STZ (Szkudelski, 2001).

Sua atividade caracteriza-se por apresentar um efeito de natureza trifásica, com um período inicial (2 a 4 horas) de hiperglicemia, ao inibir a liberação de insulina, um período intermediário (7 a 9 horas) de hipoglicemia através da ação ofensiva sobre as células β com a liberação da insulina que estava armazenada e um período final caracterizado por apresentar um quadro irreversível de hiperglicemia (24 horas após a indução) (Rerup, 1970).

1.4 Gênero *Bauhinia*

O gênero *Bauhinia*, pertence à família Fabaceae, compreendendo aproximadamente 300 espécies. Muitas destas plantas são usadas via oral, em forma de chás ou outras preparações fitoterápicas de suas cascas e folhas, no tratamento de diversas doenças, como diabetes, agindo como anti-inflamatório, diurético e analgésico. São popularmente conhecidas como “Pata-de-vaca” ou “Unha-de-boi” (Cechinel Filho, 2002; Vasconcelos *et al.*, 2004).

Plantas pertencentes ao gênero *Bauhinia* e seus compostos isolados vêm despertando grande interesse por parte da comunidade científica nos últimos anos desde que alguns estudos mostraram a sua eficácia no tratamento de doenças, dentre elas o diabetes (Da Silva & Cechinel Filho, 2002; Da Silva *et al.*, 2010; Ribeiro *et al.*, 2018).

Foram realizados estudos fotoquímicos e farmacológicos demonstrando que plantas do gênero *Bauhinia* possuem significativas quantidades de glicosídeos, esteroídicos, triterpenos, lactonas e flavonoides. Por mais que muitos compostos sejam conhecidos, pouco se conhece sobre a atividade farmacológica das plantas do gênero *Bauhinia* (Silva K & Cechinel, 2002).

Ribeiro *et al.* (2017) demonstraram *in vitro* que o extrato bruto de *Bauhinia holophylla* (Bong.) Steud. não apresenta efeitos citotóxicos e ainda mostrou efeitos protetores que podem estar associados a uma possível atividade quimiopreventiva contra agentes carcinogênicos.

Rozza *et al.* (2015) verificaram que o extrato bruto de *B. holophylla* apresenta atividade antiúlcera principalmente por diminuir o estresse oxidativo e atenuar a resposta inflamatória, sem induzir efeitos adversos.

1.5 Litospermosídeo

O fracionamento do extrato bruto de *B. holophylla*, realizado através de técnicas cromatográficas em parte no Lab. de Química de Produtos Naturais (FC/UNESP/Bauru) e em parte no Lab. de Fitoquímica e Produtos Naturais Bioativos (Universidade de Genebra), revelou um composto majoritário presente no extrato. A identificação de tal composto revelou tratar-se de um cianoglicosídeo não-cianogênico, o litospermosídeo (Fig. 1). Os compostos conhecidos como cianoglicosídeos são encontrados em fontes naturais, derivados de várias rotas de biossíntese em plantas. Estes compostos são caracterizados pela presença de uma unidade de açúcar, normalmente glicose, ligada à cianidrina e apresentam fórmula molecular genérica $C_nH_nNO_n$ de baixo peso molecular. A maior parte dos cianoglicosídeos na natureza é tóxica, pois através de reações enzimáticas de hidrólise são capazes de gerar HCN (Yamasaki, 1999). São conhecidos, então, como cianoglicosídeos cianogênicos. Já outra classe, a dos cianoglicosídeos não-cianogênicos, como litospermosídeo, formam um pequeno grupo de substâncias que não apresentam o grupo nitrila adjacente à ligação do açúcar, o que os torna não-cianogênicos. Outros compostos não-cianogênicos com estruturas similares à do

litospermosídeo foram isolados de plantas medicinais. Como por exemplo, o Riachin isolado da *Bauhinia pentandra* (Farias *et al.*,2015) ou o Roseosídeo isolado da *Rourea induta* (Kalegari, 2014).

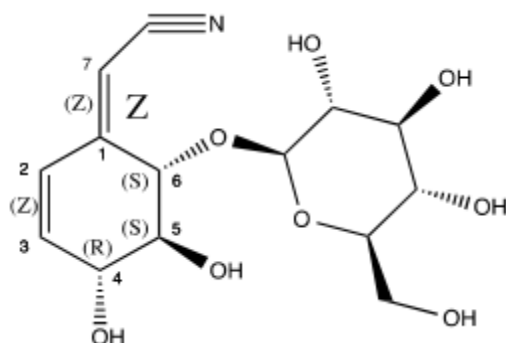


Figura 1. Estrutura molecular do composto litospermosídeo, um cianoglicosídeo não-cianogênico isolado das folhas de *Bauhinia holophylla* (Fabaceae).

2. Objetivo Geral

Investigar alterações realizadas pelo tratamento com o litospermosídeo em camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina.

2.1 Objetivos Específicos

- Avaliar a AST e ALT sérica afim de verificar uma possível hepatotoxicidade.
- Avaliar glicemia de jejum, triglicérides, colesterol total, colesterol HDL, proteínas totais e albumina de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratados com litospermosídeo ou solução salina por 14 dias.
- Avaliar a ingestão hídrica, ingestão alimentar e peso corpóreo de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratados com litospermosídeo ou solução salina por 14 dias.
- Avaliar os graus de tolerância à glicose e sensibilidade à insulina, através do ipGTT e ipITT.
- Quantificar os níveis de glicogênio hepático e muscular de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratados com litospermosídeo ou solução salina por 14 dias.
- Avaliar o perfil do proteômico hepático de camundongos normoglicêmicos e diabéticos tratados com litospermosídeo ou solução salina por 14 dias.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Obtenção do Litospermosídeo

O isolamento e purificação do litospermosídeo estiveram a cargo do Laboratório de Química de Produtos Naturais da FC/Bauru, sob a responsabilidade da Profa. Dra. Anne Lígia Dokkedal. Em resumo, as folhas de *B. holophylla* foram secas em estufa a 60°C. Em seguida, foram pulverizadas em moinho de facas, a fim de facilitar a extração de seus constituintes químicos. A extração foi feita por percolação do pó com solvente orgânico (EtOH 70%) à temperatura ambiente. Após a extração o solvente foi concentrado em rotaevaporador sob pressão reduzida, em temperatura <50C e em seguida as amostras foram liofilizadas. O fracionamento dos extratos foi realizado principalmente por HPLC-PAD-ELSD semipreparativo, porém, de acordo com as necessidades específicas de cada extrato, foi desenvolvido métodos de *clean up*/fracionamento do extrato bruto por extração em fase sólida (SPE), cromatografia a vácuo (VLC), cromatografia de média pressão (MPLC), coluna de permeação em gel (GPC), extração líquido-líquido (LLE) para posterior fracionamento HPLC-PAD-ELSD semipreparativo a fim de se identificar a região do cromatograma que contém o composto ativo. O método cromatográfico foi otimizado em escala analítica em HPLC-PAD-ELSD (15–25 µm, 250 × 4.6 mm i.d., Zeochem C-18), e transferido geometricamente para escala preparativa em MPLC (15–25 µm, 460 × 49 mm i.d., Zeochem C-18), o que tornou possível o isolamento de dezenas de miligramas das moléculas de interesse (Challal *et al.*, 2015) para os testes *in vivo*.

3.2 Animais

Foram utilizados camundongos Swiss albinos machos com 60±10 dias de idade, provenientes Centro de Pesquisa e Produção de Animais (CPPA), localizado no Campus de Botucatu, SP. Os animais foram mantidos sob temperatura controlada (23 ± 2°C) em ciclo de iluminação claro-escuro (12 horas), com livre acesso à comida e água, recebendo

ração balanceada e água *ad-libitum*. Os procedimentos foram executados de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas éticas estabelecidas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP – Faculdade de Ciências, campus Bauru (Processo nº 637/2017, v.1) (Anexo 1). Para formar os grupos experimentais os animais foram aleatoriamente divididos em 6 grupos:

Grupo controle salina (CS): animais controle tratados com salina.

Grupo diabético salina (DS): animais induzidos ao diabetes por administração de estreptozotocina e tratados com salina.

Grupo diabético tratado com litospermosídeo (DL1): animais induzidos ao diabetes por administração de estreptozotocina e tratados com litospermosídeo na concentração de 1 mg/Kg.

Grupo diabético tratado com litospermosídeo (DL5): animais induzidos ao diabetes por administração de estreptozotocina e tratados com litospermosídeo na concentração de 5 mg/Kg.

Grupo diabético tratado com litospermosídeo (DL10): animais induzidos ao diabetes por administração de estreptozotocina e tratados com litospermosídeo na concentração de 10 mg/Kg.

Grupo diabético tratado com litospermosídeo (DL20): animais induzidos ao diabetes por administração de estreptozotocina e tratados com litospermosídeo na concentração de 20 mg/Kg.

3.3 Indução do diabetes

A indução do diabetes foi realizada através de uma injeção diária de STZ durante 5 dias consecutivos, na dose de 40 mg/kg, em camundongos em jejum de 4 horas. A STZ foi dissolvida em tampão citrato com pH 4,5 e injetada por via intraperitoneal, imediatamente após o preparo. Os animais foram deixados em jejum por mais 1 hora após a indução. Após um período de 7 dias, a glicemia dos camundongos foi medida com glicosímetro (OneTouch-Johnson & Johnson) para verificação do estabelecimento do diabetes. Os animais apresentando glicemia de jejum superior à 250mg/dL foram considerados diabéticos e incluídos nos respectivos grupos.

3.4 Tratamento com litospermosídeo

Os animais CS e DS receberam apenas salina na dose de 1ml/kg. Animais do grupo DL receberam diariamente, por gavagem, o litospermosídeo diluído em salina e administrado na dose de 1, 5, 10 ou 20 mg/kg de peso corpóreo durante 14 dias consecutivos. 7 dias após a indução do diabetes, a gavagem foi realizada uma vez ao dia, sempre no mesmo horário, entre 7 e 9 horas da manhã.

3.5 Glicemia de jejum

Animais de todos os grupos foram deixados em jejum de 8 a 10 horas e tiveram a glicemia medida com glicosímetro (OneTouch-Johnson & Johnson) a partir do sangue retirado da ponta da cauda, a cada sete dias do tratamento.

3.6 Ingestão hídrica e alimentar

Animais de todos os grupos tiveram suas ingestões hídrica e alimentar mensuradas diariamente. A ingestão alimentar foi corrigida pelo peso dos animais e expressa em gramas de ração por 100g de animal (g ração/100g animal).

3.7 Peso corpóreo

Animais de todos os grupos foram pesados diariamente durante o tratamento, em balança eletrônica (Marte AD2000) e os pesos expressos em gramas.

3.8 Teste intraperitoneal de tolerância à glicose (ipGTT)

Ao final do tratamento (14° dia), os camundongos foram submetidos a um jejum de 12h antes do procedimento experimental, que se iniciou com a coleta de sangue para a dosagem da glicemia de jejum dos animais (tempo 0'). Em seguida, foi administrada glicose intraperitonealmente na dose de 2g/kg e, a partir de então, o sangue foi coletado nos tempos 15, 30, 60, 90 e 120 minutos. A coleta de sangue em todos os tempos foi realizada pela cauda do animal e a glicemia medida através de glicosímetro.

3.9 Teste de tolerância à insulina intraperitoneal (ipITT)

Ao final do tratamento (14° dia), os camundongos (alimentados) foram anestesiados com tiopental sódico (30mg/kg, peso corpóreo). Insulina humana recombinante (Biohulin®) equivalente a 2U/kg de peso corpóreo, foi injetada intraperitonealmente logo após verificação da glicemia basal no tempo 0 a partir da extremidade caudal. Amostras de sangue foram coletadas para dosagem dos níveis séricos de glicemia nos tempos 5, 10, 20 e 30 min. A constante de decaimento de glicose (K) foi calculada a partir do “slope” da

linha de regressão obtida com valores de glicose log-transformadas entre 0 e 30min depois da administração da insulina.

3.10 Glicogênio Hepático e Muscular

Foram removidos cerca de 300 a 500mg de amostras de fígado e músculo dos animais e digeridos em 2 ml de solução de KOH 30% em tubos Falcon em banho Maria fervente por 1 hora. Após esta fase, foi acrescentado 0,2 ml de Na₂SO₄ e o material foi agitado. Em seguida, foram acrescentados 6,0 ml de etanol, agitado novamente e levado ao banho Maria por cerca de 15 segundos. Em seguida, o material foi centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos a 22°C. Após a centrifugação o sobrenadante foi descartado e o precipitado ressuspendido em 2 ml de água destilada à 60°C. Posteriormente, foram acrescentados 6,0ml de etanol e o material foi agitado e aquecido em banho Maria e novamente centrifugado a 2000 rpm por 10 minutos a 22°C. O precipitado foi diluído em 15 µl de solução fenol e 2 ml de ácido sulfúrico. Após diluição do precipitado o conteúdo de glicogênio foi levado ao banho fervente por 15 minutos e então foi quantificado por espectrofotometria a 490nm (Rafacho *et al.*, 2008).

3.11 Obtenção do Soro

Ao final do tratamento (14° dia), os camundongos de todos os grupos foram deixados em jejum por período de 8-10 horas. Após esse período, foram eutanasiados, o sangue foi coletado através de pulsão cardíaca e colocado em tubos de ensaio de vidro, previamente lavados com solução salina, e levado à estufa (Olidex CZ) a 37°C por 1 hora para formação e distinção do precipitado (coagulado) do soro. Em seguida, os tubos foram centrifugados a 1500 rpm por 10 minutos a 22°C (Eppendorf 5810R) e o soro foi aliquoteado e armazenado em freezer -80°C (Harris ELT-13V-85D34) para posterior análise de parâmetros sorológicos

através kits bioquímicos específicos (BioSystems, Espanha) lidos em espectrofotômetro automático A15 (BioSystems Analyzer) e respeitando o limite de detecção de cada protocolo.

3.12 Parâmetros Bioquímicos

- Disfunção hepática: foi avaliada através da determinação das enzimas AST e ALT presentes no soro através de kits específicos (BioSystems, Espanha).
- Albumina e proteínas totais mensuradas a partir do soro por kits específicos (BioSystems, Espanha).
- Perfil lipídico: foram dosados triglicérides, colesterol total e HDL a partir do soro por kits específicos (BioSystems, Espanha).

3.13 Análise proteômica do tecido hepático

3.13.1 Preparo da amostra

Para extração das proteínas hepáticas, 50 mg do tecido foram transferidos para um microtubo, onde foram adicionados 100 µL de tampão de extração contendo uréia 5 M, tiouréia 2 M, CHAPS 2% e ditioneitol (DTT) 1%. Após 1 h de incubação em gelo, com agitação em vórtex a cada 10 min, o homogenato foi submetido à centrifugação a 8000 g por 30 min a 4°C e o sobrenadante foi em seguida coletado. Após a extração, as proteínas foram quantificadas com auxílio do Kit Quick Start Bradford (Bio-Rad) que está baseado no método de (Bradford 1976). As amostras de proteína (50 µg) foram então transferidas para um microtubo e a estas adicionados 10 µL de bicarbonato de amônio 50 mM e 25 µL de RapiGest® 0,2% (Waters). Em seguida, as amostras foram reduzidas através da incubação a 40°C com DTT 100 mM. Em seguida, adicionou-se Iodoacetamida (IAA) 300 mM por 30 min em temperatura ambiente, para devida alquilação das amostras. Após a alquilação foi

realizada a digestão proteolítica com a adição de 150 ng de tripsina grade MS (Promega) e incubação a 37°C por 14 h. Ao fim das 14 h, a ação da enzima foi paralisada pela adição de 5 µL de ácido fórmico 3%. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 14000 g durante 10 min. O sobrenadante contendo os peptídeos foi então destinado à análise por UPLC -MS.

3.13.2 Análise por nanoUPLC acoplado a espectrometria de massas

A análise dos peptídeos trípticos foi realizada no sistema nanoACQUITY UPLC (Waters, Milliford, USA) acoplado ao espectrômetro de massas Xevo Q-TOF G2 (Waters, Milliford, USA). Para tanto, o sistema UPLC nanoACQUITY foi equipado com uma coluna do tipo HSS T3 (Acquity UPLC HSS T3 column 75 mm x 150 mm; 1,8 µm, Waters), previamente equilibrada com 7% da fase móvel B (100% ACN + 0,1 % ácido fórmico). Os peptídeos foram separados através de um gradiente linear de 7-85 % de fase móvel B durante 70 min com fluxo de 0,35 µL/min e a temperatura da coluna mantida a 45°C. O MS foi operado em modo íon positivo, com o tempo de aquisição de dados de 75 min. Os dados obtidos foram processados através do software ProteinLynx GlobalServer (PLGS) versão 3.03 (Waters, Milliford, USA). A identificação das proteínas foi obtida através do algoritmo de contagem de íons incorporado ao software. Os dados obtidos foram buscados no banco de dados da espécie *Mus musculus* baixado do catálogo do UniProt (Universal Protein Resource) em 13 de novembro de 2018.

3.14 Análise estatística

Os resultados estão apresentados como média ± erro padrão da média (EPM). Para comparação múltipla de resultados paramétricos foi utilizado ANOVA de dois caminhos, seguido de pós teste de Tukey. O nível de significância adotado foi $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 Glicemia

Após sete dias de tratamento, os camundongos do grupo DS mostraram aumento de 5,74% quando comparado ao primeiro dia. Os animais do grupo DL20 apresentaram diminuição da glicemia de 11,13%; já os do grupo DL10 apresentaram diminuição de 11,15% em relação ao primeiro dia. Ambos os grupos apresentaram diferença significativa ($P < 0,001$) em relação ao grupo DS. No grupo DL5 houve diminuição de 1,99% no sétimo dia quando comparado ao primeiro. Os animais do grupo DL1 tiveram aumento de 1,69% na glicemia em relação ao seu primeiro dia. Os grupos DL1 e DL5 não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) em relação ao grupo DS.

No décimo quarto dia os animais do grupo DL20, apresentaram queda no valor da glicemia de 33,58% e o DL10 de 32,74%, quando comparados ao primeiro dia de tratamento. O grupo DL1 aumentou 6,20%, e o grupo DL5 diminuiu 5,23% em relação ao primeiro dia. Todos os grupos apresentaram diferença significativa ($P < 0,001$) em relação aos DS. Os animais do grupo DS tiveram aumento de 15,41% em relação ao primeiro dia. O grupo DL5 em relação ao grupo DL1 e o grupo DL20 em relação ao grupo DL10 não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) (Figura 2).

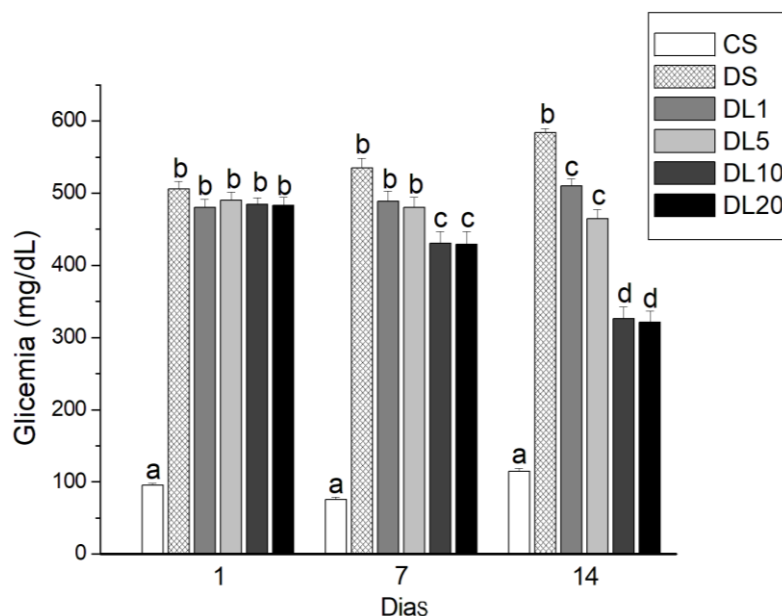


Figura 2. Glicemia de jejum (mg/dL) dos animais controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p < 0,05$.

4.2 Glicogênio hepático

Os grupos diabéticos tratados com litospermosídeo a 10 e 20mg/Kg (DL10 e DL20) não apresentaram diferença significativa quando comparados entre si ($P > 0,05$), mas quando comparado aos demais grupos diabéticos (DS, DL1 e DL5), tiveram aumento significativo ($P < 0,001$) na quantidade de glicogênio hepático armazenado. Os grupos DL10 e DL20 apresentaram queda significativa ($P > 0,01$) na armazenagem do glicogênio hepático quando comparados com o grupo normoglicêmico (CS). Os grupos DS, DL1 e DL5 quando comparados entre si não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$), mas apresentaram diminuição significativa ($P < 0,001$) na armazenagem de glicogênio hepático, quando comparados com o grupo CS (Figura 3).

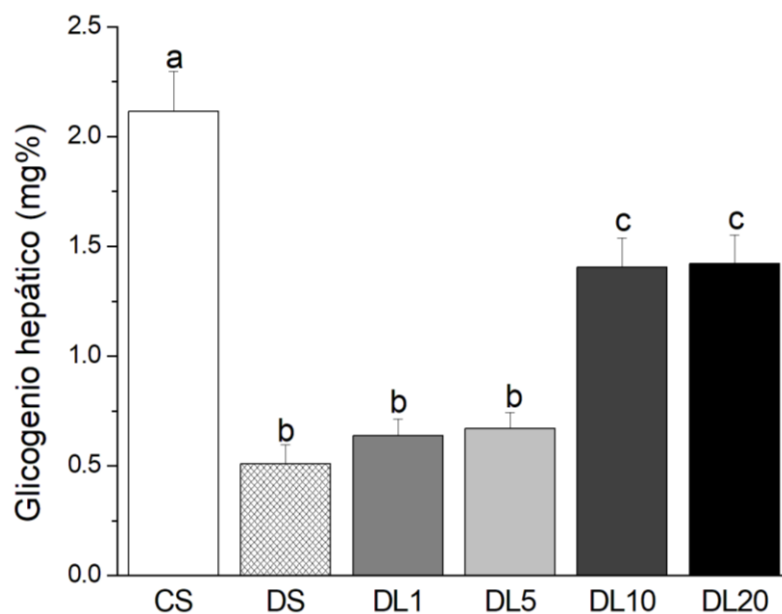


Figura 3. Glicogênio hepático (mg%) dos animais controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*; $p < 0,05$.

4.3 Glicogênio muscular

Os grupos diabéticos tratados ou não com litospermosídeo (DS, DL1, DL5, DL10 e DL20) não apresentaram diferença estatística ($P > 0,05$) quando comparados entre si, mas apresentaram queda significativa ($P < 0,001$) no armazenamento do glicogênio muscular, quando comparados com o grupo controle normoglicêmico (CS) (Figura 4).

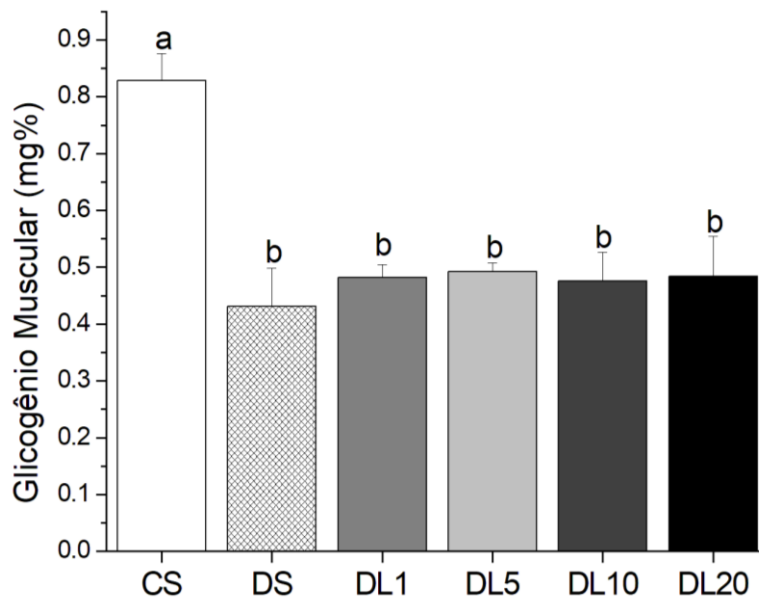


Figura 4. Glicogênio muscular (mg%) dos animais controles normoglicêmico (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA Seguindo de pós teste de *Tukey*; $p < 0,05$.

4.4 Pesos dos órgãos

Após o tratamento de quatorze dias, o peso do baço não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) entre os grupos (Tabela 1).

O peso do fígado dos grupos DL20, DL10 e DL5 não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) quando comparado ao CS; já os grupos DS e DL1 apresentaram aumento significativo ($P < 0,001$) no peso do fígado em relação ao grupo CS. Os grupos DL20 e DL10 apresentaram diminuição significativa ($P < 0,05$) em relação aos grupos DS e DL1 (Tabela 1).

Os músculos dos grupos DL10 e DL20 mostram-se significativamente ($P < 0,001$) em relação ao grupo DS. O grupo DL5 teve aumento significativo ($P < 0,05$) em relação ao DS. Os grupos diabéticos tratados quando comparado entre si, não demonstraram diferença significativa ($P > 0,05$). Os grupos diabéticos apresentaram perda de peso significativa ($P < 0,001$) quando comparados com o grupo controle CS (Tabela 1). Os rins dos grupos

diabéticos (DS, DL1, DL5, DL10 e DL20) apresentaram aumento significativo ($P < 0,001$), quando comparados ao grupo controle (CS). Entretanto quando comparados entre si, não apresentam diferença significativa ($P > 0,05$) (Tabela 1).

Tabela 1. Peso dos órgãos (mg/Kg) após 14 dias dos grupos controle (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 E DL20).

Peso dos órgãos (mg/Kg)	CS	DS	DL1	DL5	DL10	DL20
Baço	3,45± 0,18	3,84± 0,31	3,42± 0,21	3,64± 0,17	3,55± 0,12	3,51± 0,13
Fígado	49,70± 0,92 a	57,89± 1,78 b	57,99± 1,57 b c	54,44± 1,00 a b c d	52,80± 0,73 a d	51,85± 0,89 a d
Gastrocnêmio	11,11± 0,35 a	7,39± 0,14 b	8,41± 0,14 b c	8,61± 0,18 c	9,10± 0,20 c	9,18± 0,41 c
Rins	17,02± 0,43 a	19,99± 0,44 b	18,67± 0,49 b	18,86± 0,65 b	19,29± 0,37 b	19,37± 0,46 b

Valores expressos como média ± EPM, n=10. Na mesma linha, letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p < 0,05$.

4.5 Peso Corpóreo

Os grupos DS, DL1 e DL5 tanto no sétimo dia quanto no décimo quarto dia, apresentaram perda de peso significativa ($P < 0,001$) em relação ao grupo CS. Os grupos DL10 e DL20 apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$), tanto no sétimo quanto no décimo quarto dia, em comparação ao DS. Os grupos tratados DL1 e DL5 quando comparados ao grupo DS no décimo quarto dia apresentaram aumento de peso significativo ($P < 0,05$). Os grupos diabéticos tratados não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) quando comparados entre si no sétimo dia, já no décimo quarto dia os grupos DL10 e DL20 apresentaram aumento significativo ($P < 0,05$) quando comparados com os grupos DL1 e DL5 (Tabela 2).

Tabela 2. Peso corpóreo (g) dos grupos controle e diabéticos tratados com salina (CS e DS) e litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 E DL20).

Peso (g)	CS	DS	DL1	DL5	DL10	DL20
1º Dia	38,291± 0,39 a	31,13±0, 91 b	32,78± 0,53 b	31,54± 1,05 b	31,83± 0,71 b	31,67± 0,42 b
7º Dia	38,65± 0,89 a	29,55±0, 90 b	32,35± 0,65 b c	32,88± 0,67 b c	33,13± 0,91 c	33,62± 0,56 c
14º Dia	39,23± 0,84 a	29,42± 0,91 b	33,04± 0,54 c	32,83± 0,66b c	36,09± 0,48 d	35,87± 0,86 d

Resultados expressos como média ± EPM, n=10. Na mesma linha, letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, p<0,05.

4.6 Ingestão Alimentar e Hídrica

Durante os quatorze dias de tratamento, foram mensuradas a ingestão hídrica e alimentar dos animais diariamente.

Os animais do grupo DL10 e DL20 tiveram ingestão tanto hídrica quanto alimentar significativamente menor (P<0,001) em relação aos demais grupos diabéticos (DS, DL1 e DL5). Todos os grupos diabéticos tiveram ingestão hídrica e alimentar significativamente maior (P<0,001) em relação ao grupo CS. Os grupos DL1 e DL5 não apresentaram diferença significativa (P>0,05) quando comparados com o grupo DS, em ambas as ingestões (Figura 5 e 6).

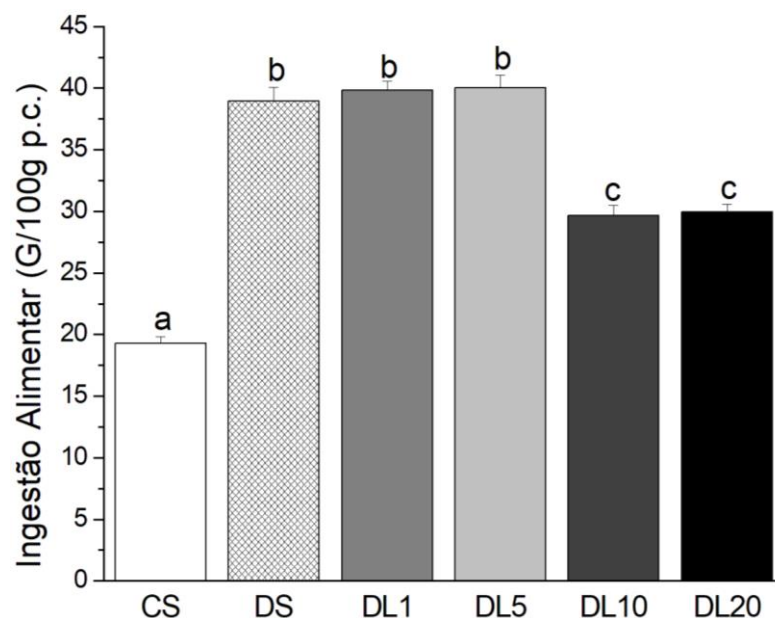


Figura 5. Ingestão alimentar (G/100g p.c) dos animais controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p < 0,05$.

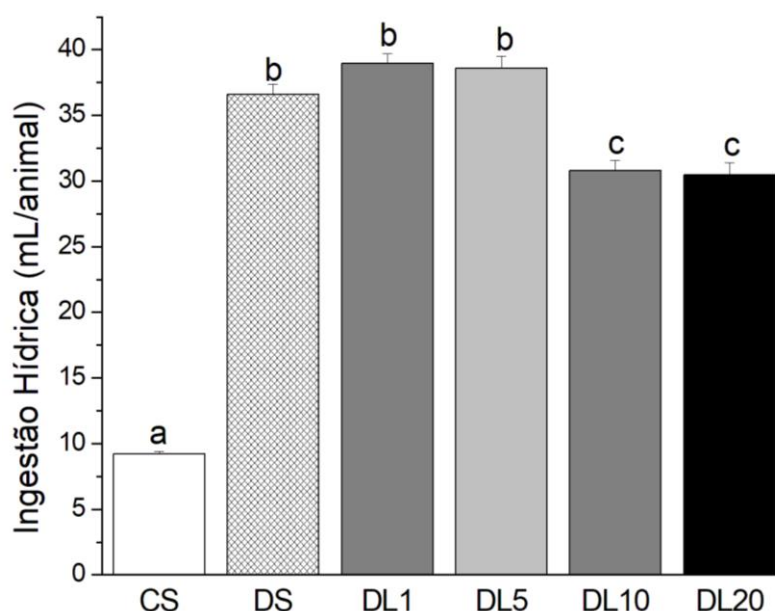


Figura 6. Ingestão hídrica (mL/animal) dos camundongos controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p < 0,05$.

4.7 IpGTT

Os resultados revelaram que camundongos tratados com litospermosídeo a 10 e 20 mg/Kg (DL10 e DL20) apresentaram maior tolerância à glicose quando comparados aos animais diabéticos controle (DS) e os tratados com litospermosídeo nas doses de 1 e 5mg/Kg (DL1 e DL5) (Figuras 7 e 8).

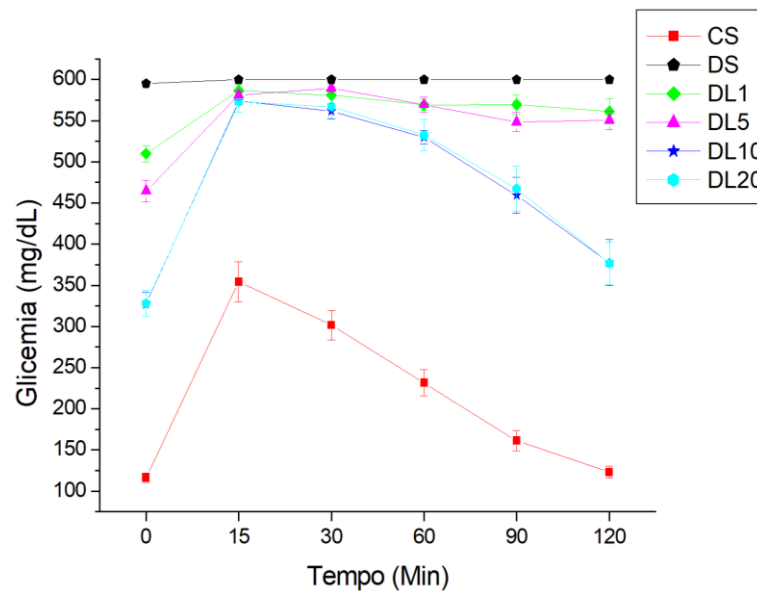


Figura 7. Valores de glicemia durante o teste de tolerância à glicose (ipGTT), nos camundongos controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p < 0,05$.

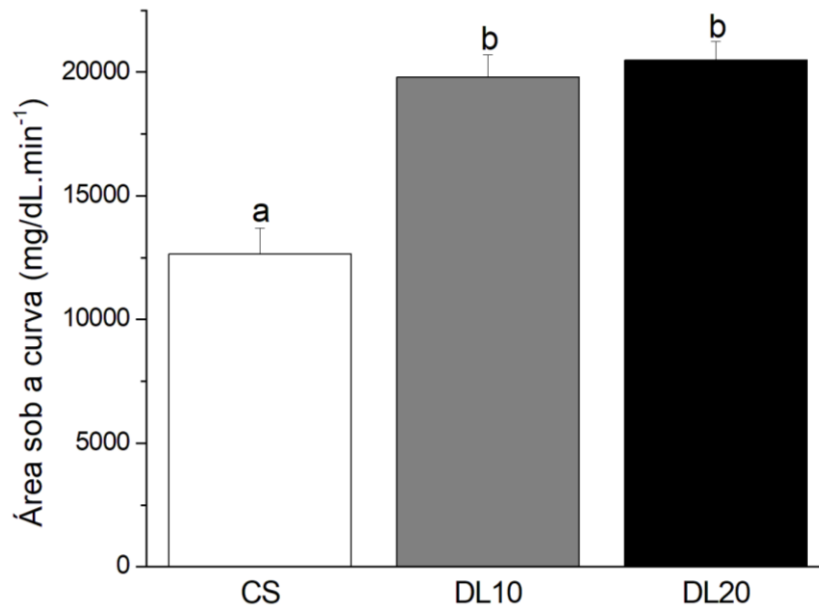


Figura 8. Gráfico de área sob a curva a partir da glicemia no ipGTT. Camundongos controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p < 0,05$.

4.8 IpITT

O teste intraperitoneal de tolerância à insulina (ipITT) demonstrou que camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo nas doses 10 e 20 mg/Kg (DL10 e DL20) se mostraram estatisticamente ($P < 0,001$) mais sensíveis à administração de insulina intraperitoneal quando comparados com o grupo diabético não tratado (DS) e não apresentaram diferença ($P > 0,05$) quando comparados com os camundongos normoglicêmicos (CS). Já o grupo diabético tratado com litospermosídeo na dose de 1 mg/Kg (DL1), apresentou sensibilidade maior à insulina ($P < 0,05$) que o grupo DS e sensibilidade menor à insulina ($P < 0,05$) quando comparado ao grupo controle (CS). O grupo diabético tratado com litospermosídeo na dose de 5mg/Kg (DL5) apresentou sensibilidade maior à insulina ($P < 0,01$) que o grupo DS e sensibilidade menor à insulina ($P < 0,05$) quando comparado ao grupo

controle (CS). Os grupos diabéticos tratados com litospermosídeo não apresentaram diferença ($P>0,05$) quando comparados entre si (Figuras 9 e 10).

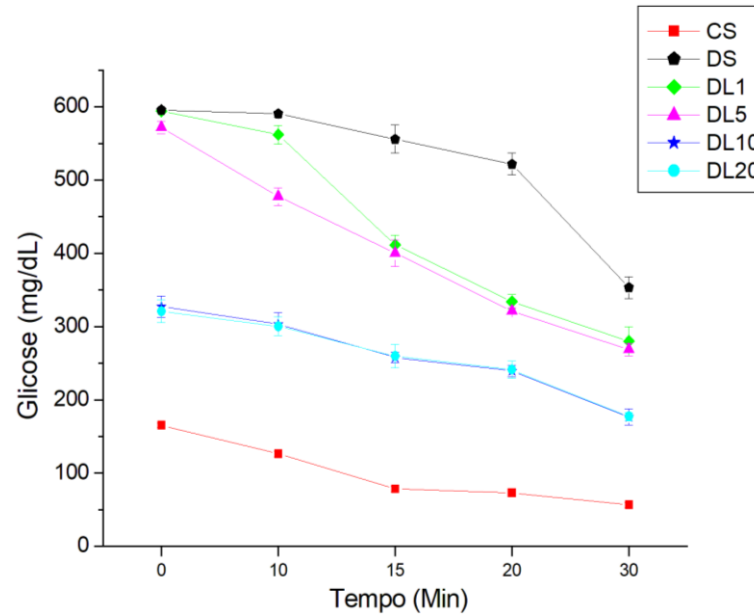


Figura 9. Valores de glicemia durante o teste intraperitoneal de tolerância à insulina (ipITT), nos camundongos controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20).

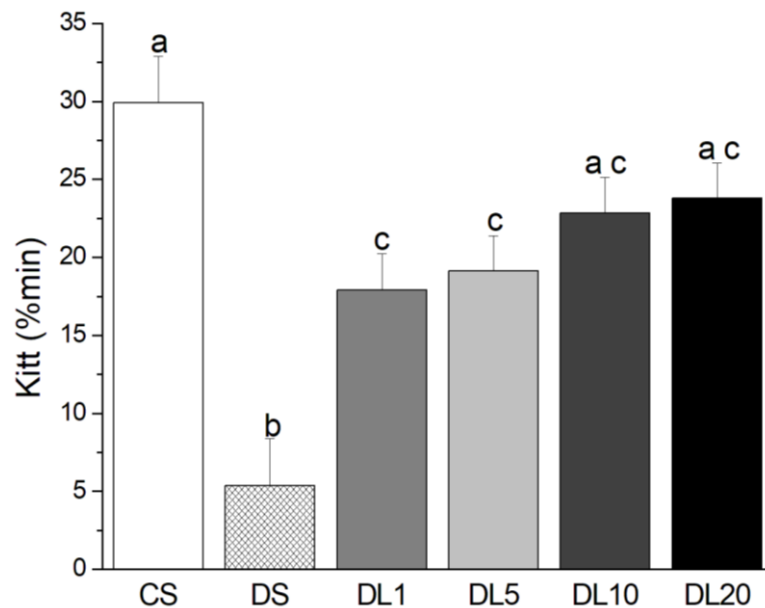


Figura 8. Cinética de decaimento da glicemia (KITT). Camundongos controles normoglicêmicos (CS) e diabéticos tratados com salina (DS) e com litospermosídeo (DL1,

DL5, DL10 e DL20). Resultados expressos como média \pm EPM, n=10. Letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p < 0,05$.

4.9 Parâmetros Bioquímicos Plasmáticos

Camundongos tratados por 14 dias com litospermosídeo DL10 e DL20 apresentaram diminuição significativa ($P < 0,001$) nos níveis séricos de ALT e AST quando comparados aos demais grupos diabéticos (DS, DL1 e DL5), porém apresentaram aumento significativo quando comparados ao grupo CS. Os demais grupos diabéticos (DS, DL1 e DL5) apresentaram aumento significativo ($P < 0,001$) nos níveis séricos de ALT e AST em comparação com o grupo CS (Tabela 3).

Os níveis de proteínas totais séricas não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) quando comparado os grupos tratados com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20) aos grupos controles normoglicêmico (CS) e diabético (DS). Já o grupo controle diabético (DS), apresentou diminuição significativa ($P < 0,01$) quando comparado ao grupo controle normoglicêmico (CS) (Tabela 3).

Os animais pertencentes ao grupo DL10 e DL20 não apresentaram diferença significativa ($P > 0,05$) nos níveis de albumina sérica quando comparados aos grupos CS, DS, DL1 e DL5. Os grupos DS, DL1 e DL5 demonstraram diminuição significativa ($P < 0,001$) nos níveis de albumina quando comparado ao grupo CS (Tabela 3).

A quantidade de colesterol total não apresentou diferença significativa ($P > 0,05$) quando se compara os grupos DL10 e DL20 com o grupo CS. Os demais grupos diabéticos (DS, DL1 e DL5) apresentam elevação significativa ($P < 0,001$) nos níveis de colesterol total quando comparados ao CS (Tabela 3).

Os grupos DS, DL1 e DL5 apresentaram diminuição significativa ($P < 0,001$) no conteúdo de colesterol HDL quando comparados aos grupos CS, DL10 e DL20. Os grupos DL10 e DL20 apresentaram diminuição significativa ($P < 0,01$) nos níveis de colesterol HDL

quando comparados ao grupo CS (Tabela 3).

Animais do grupo DL10 e DL20 não apresentaram diferença significativa ($P>0,05$) nos níveis de triglicerídeos quando comparados ao grupo controle (CS). Entretanto, quando comparado ao grupo DS, apresentaram redução significativa ($P<0,001$). Os grupos DL1 e DL5 apresentaram aumento significativo ($P<0,01$) quando comparados aos demais grupos diabéticos tratados com litospermosídeo (DL10 e DL20). Os grupos DS, DL1 e DL5 apresentaram aumento significativo ($P<0,001$) quando comparado ao grupo CS (Tabela 3).

Tabela 3. Parâmetros bioquímicos após 14 dias de tratamento do grupo controle (CS) e diabético (DS) tratados com salina e diabéticos tratados com litospermosídeo (DL1, DL5, DL10 e DL20).

Parâmetros	CS	DS	DL1	DL5	DL10	DL20
AST (U/L)	161,1± 6,1 a	252± 7,6 b	254,4± 4,7 b	254,2± 4,1 b	178,5± 4,7 a	176,9± 6,2 a
ALT (U/L)	64,11± 2,5 a	158,33± 5,1 b	148,56± 4,5 b	151,67± 4,2 b	89,45± 3,8 c	91,12± 4,1 c
Colesterol Total(mg/dL)	95,7± 4,0 a	160,2± 6,4b	162,2± 4,7b	158,1± 3,3b	104,1± 9,1a	98,2± 8,0a
HDL (mg/dL)	84,6± 1,5a	52,6± 1,7b	54,9± 1,7b	53,7± 1,2b	74,9± 1,8c	77,4± 1,6c
Triglicérides (mg/dL)	92,9± 5,9a	148,5± 6,3b	142,2± 8,5b	145,2± 7,4b	100± 5,8a	103,4± 8,6a
Proteína Total (g/dL)	4,68± 0,11a	3,70± 0,10b	4,02± 0,20ab	4,01± 0,18ab	4,19± 0,21ab	4,33± 0,14ab
Albumina (g/dL)	2,17± 0,11 a	1,32± 0,13 b	1,29± 0,12 b	1,35± 0,09 b	1,74± 0,14 ab	1,68± 0,16 ab

Valores expressos com média ± EPM, n=10. Na mesma linha, letras diferentes indicam diferença significativa; ANOVA seguido de pós teste de *Tukey*, $p<0,05$.

4.10 Análise proteômica do fígado

Em média, foram 795 proteínas adequadamente identificadas, em cada comparação entre os grupos, sendo elas: DL10 vs DS, DL10 vs CS e DS vs CS. Entretanto,

nas análises comparativas, serão descritas apenas as comparações relevantes baseando-se no foco do trabalho (tabelas completas no anexo 2).

Na comparação entre o grupo diabético tratado com litospermosídeo a 10 mg/kg (DL10) e o grupo controle normoglicêmico tratado com salina (CS) foram encontradas e selecionadas 16 proteínas em comum entre os grupos (Tabela 4), 3 exclusivas do grupo controle (CS) (Tabela 5) e 5 exclusivas do grupo diabético (DL10) (Tabela 6).

Dentre as proteínas encontradas na comparação entre os grupos diabéticos tratados com litospermosídeo (DL10) ou salina (DS), foram encontradas 18 proteínas em comum entre os grupos (Tabela 7), 2 proteínas exclusivas do grupo tratado com litospermosídeo (DL10) (Tabela 8); no grupo tratado com salina (DS) não houve proteína exclusiva.

A comparação do grupo diabético tratado com salina (DS) com o grupo normoglicêmico tratado também com salina (CS), resultou em 14 proteínas comuns entre os grupos (Tabela 9), 5 proteínas exclusivas do grupo DS (Tabela 10) e 3 exclusivas do grupo CS (tabela 11).

Tabela 4. Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos do tratado com litospermosídeo 10 mg/Kg (DL10) em comparação com o grupo normoglicêmico tratado com salina (CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da proteína	Score	Ratio DL10: CS
Q9QXD6	Fructose 1 6 bisphosphatase 1	1037,78	3,09
P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1 mitochondrial	503,9	1,95
P14152	Malate dehydrogenase cytoplasmic	225,81	1,57
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	94,03	1,25
P06151	L lactate dehydrogenase A chain	568,3	1,23
P21550	Beta enolase	857,85	0,91
P41216	Long chain fatty acid CoA ligase 1	718,34	0,88
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	145,46	0,66
P17182	Alpha enolase	3429,64	0,65
Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta mitochondrial	824,83	0,61
P16858	Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase	8093,76	0,56
Q9CQ62	2 4 dienoyl CoA reductase mitochondrial	760,66	0,51
Q921H8	3 ketoacyl CoA thiolase A peroxisomal	1624,12	0,49
Q8VCW8	Acyl CoA synthetase family member 2 mitochondrial	385,6	0,41
P54869	Hydroxymethylglutaryl CoA synthase mitochondrial	4391,62	0,30
Q9QXD6	Fructose 1 6 bisphosphatase 1	1037,78	3,10

Proteínas identificadas estão organizadas de acordo com o *Ratio*. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados da Uniprot.

Tabela 5. Proteínas identificadas no fígado de camundongos normoglicêmicos tratados com salina(CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
Q8CI94	Glycogen phosphorylase brain form	34,05
Q9WUB3	Glycogen phosphorylase muscle form	39,99
Q9D0F9	Phosphoglucomutase 1	45,36

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 6. Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo a 10 mg/Kg (DL10).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
P55264	Adenosine kinase	186,03
P97807	Fumarate hydratase mitochondrial	420,58
Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase cytosolic [GTP]	269,57
Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit mitochondrial	272,22
Q9WUM5	Succinate CoA ligase [ADP/GDP-forming] subunit alpha mitochondrial	212,22

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 7. Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos do grupo tratado com litospermosídeo 10 mg/Kg (DL10) em comparação com o grupo diabético tratado com salina (DS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da proteína	Score	Ratio DL10: DS
P41216	Long chain fatty acid CoA ligase 1	120,36	1,55
P12710	Fatty acid binding protein liver	588,9	1,45
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	627,93	1,43
Q921H8	3 ketoacyl CoA thiolase A peroxisomal	1418,19	1,38
P54869	Hydroxymethylglutaryl CoA synthase mitochondrial	4540,31	1,38
P16858	Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase	7101,23	1,34
Q9CQ62	2 4 dienoyl CoA reductase mitochondrial	406,28	1,28
Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta mitochondrial	510,78	1,26
P17182	Alpha enolase	3296,59	1,23
P21550	Beta enolase	366,08	1,11
P06151	L lactate dehydrogenase A chain	884,71	0,87
P97807	Fumarate hydratase mitochondrial	420,58	0,79
Q8VCW8	Acyl CoA synthetase family member 2 mitochondrial	385,6	0,76

Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit_mitochondrial	43,55	0,74
Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase cytosolic [GTP]	269,57	0,71
Q9QXD6	Fructose 1 6 biphosphatase 1	3978,92	0,68
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	498,55	0,63
P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1 mitochondrial	1218,82	0,55

Proteínas identificadas estão organizadas de acordo com o *Ratio*. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados da Uniprot.

Tabela 8. Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo a 10 mg/Kg (DL10).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteínas	Score
Q4LDG0	Bile acyl-CoA synthetase	211,95
Q9D0F9	Phosphoglucomutase-1	45,36

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 9. Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos tratados com salina (DS) em comparação com o grupo normoglicêmico tratado com salina (CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da proteína	Score	Ratio DS:CS
P54869	Hydroxymethylglutaryl CoA synthase mitochondrial	337,8	2,69
Q9QXD6	Fructose 1 6 biphosphatase 1	1037,78	2,16
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	156,88	1,32
P14152	Malate dehydrogenase cytoplasmic	225,81	1,18
P21550	Beta enolase	366,08	0,94
Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta mitochondrial	510,78	0,86
P17182	Alpha enolase	3296,59	0,83
P16858	Glyceraldehyde 3 phosphate dehydrogenase	7101,23	0,75
Q9CQ62	2 4 dienoyl CoA reductase mitochondrial	406,28	0,67
P41216	Long chain fatty acid CoA ligase 1	398,06	0,67
Q8VCW8	Acyl CoA synthetase family member 2 mitochondrial	83,8	0,57
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	289,13	0,54
P12710	Fatty acid binding protein liver	4113,46	0,37
P54869	Hydroxymethylglutaryl CoA synthase mitochondrial	337,8	2,69

Proteínas identificadas estão organizadas de acordo com o *Ratio*. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados da Uniprot.

Tabela 10. Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com salina (DS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição das Proteínas	Score
P55264	Adenosine kinase	71,37
P97807	Fumarate hydratase mitochondrial	207,77
Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase cytosolic [GTP]	147,14
Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit mitochondrial	43,55
Q9Z2I8	Succinate CoA ligase [GDP-forming] subunit beta mitochondrial	44,13

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 11. Proteínas identificadas no fígado de camundongos normoglicêmicos tratados com salina (CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteínas	Score
Q8CI94	Glycogen phosphorylase brain form	34,05
Q9ET01	Glycogen phosphorylase liver form	106,73
Q9WUB3	Glycogen phosphorylase muscle form	39,99

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

5. DISCUSSÃO

O DM é uma doença metabólica que leva a alterações no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas. É principalmente caracterizada por hiperglicemia crônica de jejum (maior ou igual a 126 mg/dL), já que na ausência de insulina, os níveis de glicose no sangue são drasticamente aumentados, uma vez que a glicose não pode ser facilmente absorvida nos principais tecidos sensíveis à insulina: adiposo, muscular esquelético e hepático (Coleman *et al.*, 2016; WHO, 2016).

O tratamento de camundongos diabéticos induzidos por STZ durante quatorze dias consecutivos com 1, 5, 10 ou 20 mg/kg de litospermosídeo foi capaz de diminuir a glicemia desses animais em comparação ao grupo de animais diabéticos sem tratamento, sendo o tratamento com 10 ou 20 mg/kg mais efetivo quando comparado aos de 5 e 1mg/kg, demonstrando assim que a queda na glicemia é proporcional à dose até os 10 mg/Kg. Isso demonstra que os efeitos causados por fitoterápicos dependem da concentração dos constituintes ativos e da espécie, assim como da via de administração e do tipo de extração sofrida (Negri, 2005; Sefi *et al.*, 2010).

O fígado tem um papel crucial na homeostase da glicose, através da glicogênese e/ou da glicogenólise, fornecendo assim glicose ao organismo ou aumentando a síntese de glicogênio, retirando a glicose do mesmo (Yan, 2015).

A síntese de glicogênio no fígado e músculos é extremamente prejudicada no diabetes, o que explica a queda na quantidade de glicogênio armazenado dos camundongos diabéticos em relação aos camundongos controle, uma vez que a resistência e/ou a deficiência a insulina tem como consequência a quebra da homeostase do metabolismo de carboidratos, prejudicando a glicogênese (Chandrasekaran *et al.*, 2018; Elberry *et al.*, 2015). Os resultados do presente estudo mostraram aumento no conteúdo de glicogênio hepático em camundongos diabéticos após o tratamento com litospermosídeo, mesmo na ausência de insulina. Isso

demonstra que a modulação causada por fitoterápicos pode ocorrer através do metabolismo de glicose, armazenando a glicose do organismo, através da estimulação da síntese de glicogênio, por vias independentes de insulina (Camaforte, 2013).

O aumento do peso dos rins pode ser explicado pelo fato do DMT1 atingir diretamente os rins e causar hiperplasia e hipertrofia no rim diabético (Forbes & Cooper, 2013; Smith, 2017). O peso dos rins entre os grupos diabéticos não mostrou diferença, apenas quando comparados com o grupo controle, demonstrando assim que o tratamento com litospermosídeo não afeta os mesmos de forma negativa.

Não apenas a hiperglicemia, perda de peso severa e cetose, mas também a hiperfagia (fome excessiva que leva a comer compulsivamente) e a polidipsia (sede excessiva) são características do DMT1 (ADA, 2011; Morton, 2014).

A polidipsia ocorre no diabetes por conta da hiperosmolaridade sanguínea causada pela hiperglicemia, que resulta numa desidratação e na sinalização pelos osmorreceptores cerebrais causando a sede intensa (Lerco *et al.*, 2013). O tratamento com o litospermosídeo resultou numa menor ingestão hídrica, devido à redução dos níveis de glicose sanguínea circulantes e o aumento da síntese de glicogênio.

Outra consequência ocasionada pelo diabetes é a polifagia, situação na qual a ausência de insulina ocasiona uma desregulação do centro de saciedade no núcleo hipotalâmico centro-medial que é responsável pelas sensações de fome e saciedade. Uma vez que esse centro necessita de insulina para captar a glicose e assim inibi-lo, na ausência da insulina o centro não é inibido e assim a sensação de fome fica constante (Jacobson, 1996). Os camundongos tratados com litospermosídeo tiveram redução na quantidade de alimento consumido.

Perda de peso severa, mesmo com aumento na ingestão alimentar é outra característica do diabetes. A sarcopenia (perda de massa muscular com o aumento da idade, cerca de 6% por década) pode ser potencializada pelo tabagismo, sedentarismo, fatores genéticos e o

diabetes. A perda de peso é ocasionada, pelo aumento da proteólise na qual ocorre perda e/ou degradação de proteínas estruturais, que ocasiona a perda da massa muscular e causa atrofia muscular afetando também a contratilidade, ramos nervosos e vasos sanguíneos, que exercem função no reparo muscular, além de ocasionar aumento na lipólise (Carvalheira; Zecchin; Saad, 2002; Coleman, 2016; Hillson, 2017; Morton, 2014). O tratamento com litospermosídeo foi capaz de impedir a perda de peso quando comparado com o grupo diabético não tratado, embora nenhum grupo diabético possuísse tecido adiposo branco detectável. Com o aumento observado do peso corpóreo e do músculo gastrocnêmio, podemos sugerir que o litospermosídeo tenha reduzido à proteólise causada pelo diabetes.

Sabe-se que o DMT1 é uma patologia caracterizada principalmente pela ausência de insulina. Então pouca atenção é dada tanto na prática clínica quanto na pesquisa em relação à resistência que o organismo diabético tipo 1 tem à insulina, pelo fato do mesmo só obtê-la de forma exógena. Entretanto, essa é uma característica comum aos portadores de DMT1, uma vez que são resistentes à insulina quando comparados com os indivíduos não diabéticos. Essa característica é um importante fator para o aumento de chances de se desenvolver complicações micro e macrovasculares, já que a resistência à insulina está presente em múltiplos tecidos do organismo diabético T1, mesmo com o bom controle glicêmico e IMC semelhante ao dos não diabéticos. Portanto, é de suma importância entender a relação entre o DMT1 e a resistência à insulina (Coleman *et al.*, 2016; Donga *et al.*, 2015). O tratamento com litospermosídeo tornou os camundongos diabéticos mais sensíveis à insulina que os camundongos diabéticos não tratados. Além do mais, o litospermosídeo foi capaz de fazer com que os camundongos diabéticos alcançassem níveis semelhantes de sensibilidade à insulina aos dos camundongos controle normoglicêmicos.

O ipGTT é um teste de referência para realizar o diagnóstico do diabetes ou da intolerância à glicose. Se a glicemia não regressar aos níveis basais ou se após duas horas da

administração de glicose se mantiver em níveis maiores que 200 mg/dL em humanos, o indivíduo é considerado diabético ou sofre de intolerância à glicose (Camaforte, 2013; Gross *et al.*, 2002). Nos resultados obtidos pelo tratamento com litospermosídeo nas maiores concentrações (10 e 20 mg/Kg), os camundongos se mostraram com maior tolerância à glicose quando comparados com os demais animais diabéticos. Nos demais grupos de camundongos diabéticos, a glicemia manteve-se acima de 600 mg/dL e não retornaram até o fim do experimento. Com isso, o cálculo da área sob a curva fica prejudicado e tem seu resultado inconclusivo. Assim, esses grupos foram excluídos da análise da área sob a curva.

Um parâmetro utilizado para a identificação do efeito hepatotóxicos originado da administração de compostos, medicamentosos ou não, em animais é a determinação dos níveis de transaminases aspartato transaminase (AST) e a alanina aminotransferase (ALT). Sendo elas citoplasmáticas quando suas concentrações se encontram elevadas, demonstram lesões no fígado (Akanji *et al.*, 1989; Liu *et al.*, 2009). Os camundongos tratados com litospermosídeo nas doses de 10 ou 20mg apresentaram níveis de AST semelhantes aos do grupo controle e de ALT menores que os demais diabéticos e maiores que os do grupo controle. O aumento do ALT em relação ao grupo controle, se deve ao fato de que o aumento dessas proteínas estão associadas às alterações metabólicas ocorridas no fígado decorrentes de câncer de fígado, administração de toxinas, hepatite, cirrose hepática e diabetes (Baynes & Thorpe, 1999). Os diabéticos têm elevados níveis séricos de ácidos graxos livres e espécies reativas de oxigênio (ERO), o que pode ocasionar apoptose dos hepatócitos e assim, conseqüentemente, a elevação das enzimas (Palma, *et al.*, 2014). O que evidencia que os elevados níveis de AST E ALT nos camundongos é ocasionado por complicações da própria doença e não decorrente de toxicidade do litospermosídeo.

Uma das complicações causadas pelo diabetes é a nefropatia diabética, que afeta mais de 40% dos diabéticos, podendo evoluir para a completa insuficiência renal, o alto nível de

glicose no sangue, característica do DM, atinge valores tóxicos ocasionando lesões renais. Os rins começam a hiperfiltrar, o que conseqüentemente aumenta o seu volume total, pois os glomérulos (onde ocorrem as maiores alterações ocasionadas pelo diabetes) aumentam sua membrana basal para que assim ocorra uma maior superfície de filtração. Assim, um aumento no ritmo de filtração glomerular e no fluxo plasmático acontece. Como resultado desses aumentos ocorre a proteinúria, começando principalmente pela microalbuminúria e evoluindo para a macroalbuminúria (Forbes & Cooper, 2013; Gross., *et al*, 2009). Esse aumento da excreção renal com elevados níveis de proteinúria, explica o porque os camundongos diabéticos tratados com salina (DS) e os tratados com litospermosídeo 1 ou 5 mg (DL1 e DL5) apresentaram menor taxa de albumina sérica. O litospermosídeo na dosagem de 10 e 20 mg/Kg (DL10 e DL20) foi capaz de impedir a diminuição dessa proteína no plasma, provavelmente pela queda da glicemia, que ocasionou menor lesão renal e assim não desencadeou nefropatia diabética, mantendo os níveis de albumina sérica significativamente iguais ao grupo controle normoglicêmico (CS) (Forbes & Cooper, 2013; Gross., *et al*, 2009).

Sabe-se que portadores de DM apresentam descontrole no metabolismo lipídico, já que na ausência de insulina não ocorre a metabolização/mobilização dos reservatórios lipídicos. Como consequência, ocorre elevação de triglicérides plasmáticos, pois ocorre aumento na lipólise do tecido adiposo, gerando ácidos graxos livres que no fígado são utilizados na síntese de triglicérides (Carvalho *et al.*, 2012; Reddy *et al.*, 2009). Os camundongos pertencentes aos grupos DS, DL1 e DL5 corroboram com o que foi dito anteriormente. A falta de tratamento (DS) ou a baixa dosagem do composto (DL1 e DL5) elevaram os níveis de colesterol total e triglicérides. Os animais dos grupos DL10 e DL20 apresentaram redução nos níveis de colesterol total e triglicérides se igualando significativamente aos animais do CS e aumento no HDL.

O fígado é considerado um centro metabólico e tem um papel importante no

metabolismo energético, regulando moléculas como lipídios, carboidratos e proteínas. No presente estudo, o escolhemos como órgão alvo para estudar as alterações ocorridas com as proteínas após o tratamento com litospermosídeo. A análise proteômica indicou alterações em proteínas que participam de processos como gliconeogênese, beta-oxidação e ciclo de Krebs, em sua maioria mostrando a ação positiva do litospermosídeo em melhorar a condição diabética. Pelo fato da não diferenciação dos resultados entre os camundongos diabéticos tratados com 10 e 20 mg/Kg de litospermosídeo, por questões éticas, pensando na redução do número de animais e também para encontrar a menor e melhor dose para futuros testes, resolvemos fazer a análise do perfil proteômico apenas com os camundongos tratados com 10mg/kg de litospermosídeo (DL10).

As proteínas *frutose-1-6-bifosfatase 1* e *fosfoenolpiruvato carboxiquinase citosólica [GTP]* modulam a gliconeogênese no fígado, desempenhando um papel importante na regulação da concentração de glicose no tecido hepático e secreção de insulina das células beta pancreáticas, além de exercer um papel como regulador do apetite e adiposidade. Tais proteínas são aumentadas nos indivíduos diabéticos. Entretanto, o tratamento com litospermosídeo (DL10) foi capaz de reduzir suas expressões quando comparado com o grupo diabético controle (DS). Ainda assim, a redução da expressão não atingiu o mesmo nível que a dos camundongos do grupo controle normoglicêmicos (CS). Nos indivíduos diabéticos, as proteínas *Fosfoglicerato quinase 1* *Glicerol-3-fosfato desidrogenase [NAD (+)] citoplasmático* e *Fosfoglicomutase-1* têm suas expressões reduzidas, já que as mesmas estão envolvidas na segunda parte da glicólise. Níveis mais baixos sugerem potencial dano mitocondrial e aumento da demanda por geração de NADPH pela via das pentoses fosfato indicando altos níveis de estresse oxidativo. Também participam da decomposição e síntese de glicose. Por tais motivos, essas proteínas encontraram-se diminuídas nos grupos diabéticos, mas o tratamento com litospermosídeo aumentou a expressão das mesmas e assim diminuiu o

estresse oxidativo, além de diminuir os danos mitocondriais. Proteínas relacionadas ao ciclo de Krebs apresentam aumento em diabéticos quando comparados com indivíduos normoglicêmicos, já que as mesmas apresentam independência da insulina e exercem a função de gerar ATP. Por este motivo, as proteínas *Malato desidrogenase*, *Sucinato desidrogenase [ubiquinona] subunidade mitocondrial*, *Succinil Coa sintetase*, *Hidroximetilglutaril-CoA liase mitocondrial* e *Adenosina Quinase* estão aumentadas nos grupos diabéticos tratados com salina (DS) ou litospermosídeo (DL10) quando comparados com o grupo normoglicêmico tratado com salina (CS). Todas as proteínas citadas estão envolvidas na respiração celular para obtenção de energia e, assim, serem usadas nos processos vitais do organismo. Proteínas envolvidas na gliconeogênese apresentaram-se diminuídas nos camundongos tratados com litospermosídeo e aumentadas nos camundongos diabéticos tratados com salina. Isso demonstra que houve redução na proteólise sofrida pelos camundongos tratados com litospermosídeo e também que o organismo do mesmo está conseguindo suprir suas necessidades energéticas, sem que ocorra a sintetização a partir de compostos anglicanos. Também houve a diminuição das proteínas relacionadas à formação dos corpos cetônicos e, conseqüentemente, a diminuição da Cetose sofrida pelo organismo diabético (Braga, 2016; Uniprot).

O metabolismo lipídico sofre grandes alterações em indivíduos diabéticos, por mais que se consiga manter um bom controle glicêmico. Comprovando essa afirmação, temos as proteínas *trifuncional mitocondrial*, *2-4 dienoil-CoA redutase mitocondrial* e *Proteína de ligação a ácidos graxos fígado 1*, que tiveram menor expressão no grupo diabético tratado com salina (DS) quando comparados com os grupo diabético (DL10) ou normoglicêmico (CS). Assim como o grupo DL10 teve menor expressão quando comparado ao grupo CS. O tratamento com o litospermosídeo (DL10) foi capaz de diminuir a expressão das proteínas *Carboxilesterase 1D* e *acil-CoA sintetase* quando comparado ao grupo (DS), mas teve

aumento quando comparado com o grupo controle (CS). Como já dito anteriormente e comprovado através da expressão das proteínas citadas acima, os camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo (DL10) tiveram redução nas proteínas relacionadas à beta-oxidação de ácidos graxos. Houve também o aumento das proteínas relacionadas à regulação e armazenamento desses ácidos graxos (Braga, 2016; Uniprot).

6. CONCLUSÃO

O tratamento com o litospermosídeo é capaz de aumentar a sensibilidade à glicose e à insulina de camundongos diabéticos do tipo 1 induzidos por estreptozotocina. Também se mostrou eficiente em diminuir a ingestão hídrica, alimentar e a perda de peso característica do diabetes. O tratamento com litospermosídeo foi responsável pelo aumento dos níveis de glicogênio hepático e redução da glicemia. Diminuiu os triglicérides e o colesterol total e aumentando o colesterol HDL. O tratamento também pode ter atenuado as lesões renais causadas pelo diabetes, resultando assim, em aumento da albumina sérica. O tratamento também amenizou as anomalias causadas pelo diabetes nos metabolismos de lipídios e energético, já que nas análises da proteômica o grupo tratado com litospermosídeo teve diminuição das proteínas relacionada a beta-oxidação e gliconeogênese, quando comparado com o grupo diabético tratado com salina. Com os resultados obtidos é possível postular que o litospermosídeo pode ser considerado como candidato à melhor e mais profunda investigação na busca de uma opção terapêutica para melhora no quadro diabético.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADA – American Diabetes Association. Diagnosis and Classification of *Diabetes Mellitus*. **Diabetes Care**. v.34, n.1, p. 565-569, 2011.

AITKEN, M. *et al.* Global outlook for medicines through 2018. **IMS Institute for Healthcare Informatics**.p. 1-42, 2014.

AKANJI.; *et al.*, Dietary salt and the glycaemic response to meals of diferente fibre contente.

AMARAL, A. C. F, et al. Coletânea científica de plantas de uso medicinal. **Cenargen, Rio De Janeiro: FIOCRUZ**, 2005.

ANDERSON, L.C.; SULEIMAN, A.H.; GARRET, J.R. Morphological effects of diabetes on the glandular ducts and acini of the rat submandibular gland. **Microsc. Res. Tech.** v.27,p.61-70,1994.

ARGILÉS, J.M.; LÓPEZ-SORIANO, F.J. Insulin and câncer (review). **Int.J.Oncol.** v.18.n°04 p.683-687, 2001.

BABU, P. S. et al. Nymphayol increases glucose-stimulated insulin secretion by RIN-5F cells and GLUT4- mediated insulin sensitization in type 2 diabetic rat liver. **Chem. Biol. Interact.** v. 226, p. 72-81, 2015.

BARATA, J. **Terapêuticas alternativas de origem botânica - efeitos adversos e interações medicamentosas**. Lisboa: Lidel edições, 2008.

BAYNES, J.W.; THORPE, S. R. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. **Diabetes**. v.48, n.1, p. 1-9, 1999.

BENT, S., M.D., KO, R. e PHARM, D. Commonly Used Herbal Medicines in the United States: A Review. **Am. J. Med**.p.478-485, 2003.

BENNETT, R.A.; PEGG, A.E.; Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin. **Cancer Res**. v.41.p.2786-2790, 1981.

BOLZÁN, A.D.; BIANCHI, M.S. Genotoxicity of streptozotocin. **Mutat. Res.** v.512.p.121-134, 2002.

BORGES, K.B.; BAUTISTA, H.B.; GUILERA, S. Diabetes-utilização de plantas medicinais como forma opcional de tratamento. **Rev. Bras. Farm.** v.2, p.12-20, 2008.

BRAGA, C.P. **Aplicação de ferramentas proteômica e metalproteômicas na caracterização de biomarcadores plasmáticos e hepáticos de ratos submetidos ao diabetes tipo 1**. Tese de doutorado Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2016.

BRESSLER, R.; JOHNSON, D.G. Pharmacological regulation of blood glucose levels in non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Arch. Intern. Med.** v.157. p.836-848,1997.

CAMAFORTE, N.A. **Avaliação da atividade hipoglicemiante do extrato bruto de *Bauhinia holophylla*(steud.) em camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina.** Dissertação de mestrado Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Botucatu, 2013.

CARVALHEIRA, J.B.C.; ZECCHIN, H.G.; SAAD, M.J.A. Vias de sinalização da insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.** v.46.nº4,p.419-425, 2002.

CARVALHO, J.C.T. Fitoterápicos anti-inflamatórios. **Tecmedd**, p.14-20, 2004.

CHANDRASEKARAN, S.;NISHANTHI, R.; PUGALENDI, P. Ameliorating effect of berbamine on hepatic key enzymes of carbohydrate metabolism in high-fat diet and streptozotocin induced type 2 diabetic rats. **Biomed. Pharmacother.** v.103, p. 539-545, 2018.

CIARDULLO, A.V. et al. Audit of shared-care program for persons with diabetes: baseline and 3 annual follow-ups. **Acta. Diabetol.** v.41.n1, p.9-13, 2004.

COLEMAN, S.K. *et al.* Myostatin inhibition therapy for insulin-deficient type 1 diabetes. **Sci Rep.** p.1-9, 2016

DA SILVA, K.L.; CECHINEL FILHO, V. Plantas do gênero *Bauhinia*: Composição química e potencial farmacológico. **Quim. Nova.** v.25.nº3, p.449-454, 2002.

DA SILVA, M.A.B. et al. Levantamento etnobotânico de plantas utilizadas como anti-hiperlipidêmicas e anorexígenas pela população de Nova Xavantina-MT, Brasil. *Rev. bras. farmacogn.*v.20.nº4.p.549-562, 2010.

DA SILVA, M. et al. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. **Diabetologia.** v.43.p.1528-1533, 2000

DE ANGELIS *et al.* Efeitos Fisiológicos do Treinamento Físico em Pacientes Portadores de Diabetes Tipo 1. **Arq Bras Endocrinol Metab.** v.50, n.6, p.1005-1013, 2006.

DIAS, S. L.; Maciel, T. R. C.; Sablich, G. M. Diabetes tipo 2 na infância: revisão de literatura. **ConScientiae Saúde.** n. 6, v.1, p. 71-80, 2007.

DONGA, E. et al. Insulin resistance in patients with type 1 diabetes assessed by glucose clamp studies: systematic review and meta-analysis. **Eur.J. Endocrinol.** v.173, p. 101-109, 2015.

ELBERRY, A. A. et al. Methanolic extract of *Marrubium vulgare* ameliorates hyperglycemia and dyslipidemia in streptozotocin-induced diabetic rats. **Int. J. Diabetes Mellit.** v.3, p. 37-44, 2015.

ELO-MANGA, S. S. et al. Chemical constituents of the leaves of *Campylospermum elongatum*. **Z. Naturforsch.** p.1-5, 2016.

ERDEMGIL, F. Z. et al. Thalictricoside, a new phenolic compound from *Thalictrum orientale*. **Z. Naturforsch.** v.58.p. 632-636, 2003.

- FARIAS, P. A. M; et al. Antibiotic-modifying activity of riachin, a non-cyanogenic cyanoglycoside extracted from *Bauhinia pentandra*. **Drug Des Devel Ther.** v.2015, n.9, p. 3067-3072, 2015.
- FISHER, K.; VUPPALANCHI, R.; SAXENA, R. Drug-induced liver injury. **Arch. Pathol. Lab. Med.** v. 139, n. 7, p. 876-887, 2015.
- FORBES, J.M.; COOPER, M.E. Mechanisms of diabetic complications. **Physiol Rev.** v.93, p. 137-188, 2013.
- GROSS, J. L.; AZEVEDO, M. J.; SILVEIRO, S. P. Diabetic Nephropathy: diagnosis, Prevention, and Treatment. **Diabetes Care.** v.28, n. 1, p. 164-176, 2005.
- GROSS, J. L. et al. Diabetes Melito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do controle Glicêmico. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.** v.46, n.1, p. 16-26, 2002.
- HAN,Q. et al. Constituents from the roots of *Semiaquilegia adoxoides*. **Fitoterapia.**n.72.p.86-88, 2001.
- HILLSON, R. Muscles in diabetes. **Practical Diabetes.**v.34,n. 2, p.42-43, 2017.
- JACOBSON, A. M. Current concepts: the psychological care of patients with insulin dependente diabetes mellitus. **N. Engl. J. Med.** v.334, n.19, p. 1249-1253, 1996.
- JAHN, A. L.; GUNZEL, P. K. H. The value of spermatology in male reproductive toxicology: do spermatologic examinations in fertility studies provide new and additional information relevant for safety assessment?.**Reprod Toxicol.** v.11, n. 1-3, p. 173-178, 1997.
- KALEGARI, M. **Abordagem fitoquímica, avaliação farmacológica antimicrobiana e toxicológica de *Rourea induta* Planch.** Tese de doutorado Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.
- KASUGA, M. Insulin resistance and pancreatic beta cell failure. **J. Clin. Invest.** v.116. p.1756-1760, 2006.
- KUMAR. R, et al. Type 2 antidiabetic activity of bergenin from the roots of *Caesalpinia digyna* Rottler. **Fitoterapia.**v.83, p. 395–401, 2012.
- LERCO, M. M. et al. Caracterização de um modelo experimental de diabetes mellitus induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cir. Bras.** v.18, n.2, p. 132-142, 2003.
- LI, W. L.; ZHENG, H. C.; BUKURU, J.; De KIMPE, N. Natural medicines used in the traditional chinese medical system for therapy of diabetes mellitus. **J. Ethnopharmacol.** v. 92, p. 1-21, 2004.
- LIU, R.; PAN, X.; WHITINGTON, P.F. Increased hepatic expression is a major determinant of serum alanine aminotransferase elevation in mice with nonalcoholic steatohepatitis. **Liver Int.**, v. 29, n. 3, p. 337-343, 2009.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Review. Phytomedicine.**v.2, p.137-189, 1995.

MUJICA, F. G. et al. Inhibition of hepatic neoglucogenesis and glucose-6-phosphatase by quercetin 3-O- α -(2''-galloyl)rhamnoside isolated from *Bauhinia megalandra* leaves. **Phytother. Res.** v.19, p. 624-627, 2005.

MUTHEE, J.K. et al. Ethnobotanical study of anthelmintic and other medicinal plants traditionally used in Loitokitok district of Kenya. **J. Ethnopharmacol.** v.135,p.15-21, 2011.

NEGRI, G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Rev. Bras. Cienc. Farm.** n.41, v.2, p. 121-142, 2005.

NORTON, G.J. et al. Neurobiology of food intake in health and disease. **Nat. Rev. Neurosci.**v.15, p. 367-378, 2014.

ÖZTÜRK, Y.; ALTAN, V.M.; YILDIZOGLU-ARI, N. Effects of experimental diabetes and insulin on smooth muscle functions. **Pharmacol. Rev.**, v. 48, p. 69-104, 1996.

PALMA, H. E.; et al. Oxidative stress parameters in blood, liver, and kidney of diabetic rats treated with curcumin and/or insulin. **Mol. Cell. Biochem.** v. 386, p. 199-210, 2014.

PATEL, D.; KUMAR, R.; LALOO, D.; Hemalatha, S. Natural medicines from plant source used for therapy of diabetes mellitus: An overview of its pharmacological aspects. **Asian. Pac. J. Trop. Dis.**p.239-250, 2012.

REDDY, K. P.; et al. Synthesis of novel triterpenoid (lupeol) derivatives and their in vivo antihyperglycemic and antidyslipidemic activity. **Bioorg. Med. Chem. Lett.**, v.19, p. 4463-4466, 2009.

RERUP, C.C. Drugs producing diabetes through damage of de insulin secreting cells. **Pharmacol.** v.22.n°4.p.485-518,1970.

RIBEIRO, D. L.; et al. Phytochemical study and evaluation of cytotoxicity, mutagenicity, cell cycle kinetic and gene expression of *Bauhinia holophylla* (Bong.) Steud. In HepG2 cells in vitro. **Cytotechnology.** v.70, p. 713-728, 2018.

ROZZA, A.L.; et al. Antiulcerogenic activity and toxicity of *Bauhinia holophylla* hydroalcoholic extract. **Evid Based Complement Alternat Med.**v.2015, p. 1-9, 2015.

SAID, O. et al. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region. **J. Ethnopharmacol.** v. 83, p. 251-265, 2002.

SEFI, M. et al. Mitigating effects of antioxidant properties of *Artemisia campestris* leaf extract on hyperlipidemia, advanced glycation and products and oxidative stress in alloxan-induced diabetic rats. **Food Chem. Toxicol.**n.48, p. 1986-1993, 2010.

SMITH, M. J.; SIMMONS, K. M.; CAMBIER, J. C. B cells in type 1 diabetes mellitus and diabetic kidney disease. **Nrneph.**v. 13, p. 712-720, 2017.

SOUZA, E. et al. Hypoglycemic effect and antioxidante potential of kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside from *Bauhinia forficata* leaves. **J. Nat. Prod.**v.67, p. 829-832, 2004.

SPITERI, M.; ATTARD, E.; SERRACINO-INGLOTT, A; Azzopardi, L.M. Compilation of a herbal medicine formulary for herbal substances in Malta and its usefulness amongst healthcare professionals. **J. Young. Pharm.** v.5, p. 22-25, 2013.

SUTHAGAR, E. et al. Effects of streptozotocin (STZ)-induced diabetes and insulin replacement on rat ventral prostate. **Biomed. Pharmacother.** v. 63,n. 1, p. 43-50, 2008.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. **Physiol. Res.** v.50,p.536-546, 2001.

TIH, A. E. Minor Biflavonoids from *Lophira alata* leaves. **J.NAT.PROD.**v.69.n.8, p.1206-1208, 2006.

VAREDA, P.M.P. et al. *Myrcia bella* leaf extract presents hypoglycemic activity via PI3k/Akt insulin signaling pathway. **ECAM.** p. 1-10, 2014.

VASCONCELOS, F. et al. Insulin-like effects of *Bauhinia forficata* aqueous extract upon *Tityus serrulatus* scorpion envenoming. **J.Ethnopharmacol**, v. 95, p. 385-392, 2004.

VOLPATO, G. T. et al. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do Diabetes mellitus. **Rev. Bras. Pl. Med.** v. 4, p.35-45, 2002.

World Health Organization. Global Report on Diabetes. world Heal Organ **[Internet]**. 2016;1–88. Available from:

http://www.who.int/about/licensing/%5Cnhttp://apps.who.int/iris/bitstream/10665/204871/1/9789241565257_eng.pdf

WU, J.; YAN, L.J. Streptozotocin-induced type I diabetes in rodents as a model for studying mitochondrial mechanisms of diabetic β cell glucotoxicity. **Diabetes. Metab. Syndr. Obes.**v.8. p.181-188, 2015.

YAN, F. et al. Mulberry anthocyanin extract regulates glucose metabolism by promotion of glycogen synthesis and reduction of gluconeogenesis in human HepG cells. **Food Funct.** p. 1-9, 2015.

YAO, H.; et al. Herbal medicines and nonalcoholic fatty liver disease. **World J Gastroenterol.**, n. 22. V. 3, p. 6890–6905, 2016.

ZHANG, J. et al. Quality of herbal medicines: Challenges and solutions. **Complement. Ther. Med.**v.20.p.100-106, 2012.

8. ANEXOS



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Câmpus de Bauru



CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Litospermosídeo, um cianoglicosídeo não cianogênico obtido das folhas de *Bauhinia holophylla* (Bong.) Steud. com potente efeito hipoglicemiante: estudo dos mecanismos de ação hepáticos", registrada com o nº 637/2017 Vol.1, sob a responsabilidade do Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO BOSQUEIRO - que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) DA UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO" - UNESP - FACULDADE DE CIÊNCIAS, CAMPUS DE BAURU, em reunião de 14/09/2017.


Prof. Dr. Carlos Alberto Vicentini
Coordenador da CEUA

Tabela 12. Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos do grupo tratado com litospermosídeo 10 mg/Kg (DL10) em comparação com o grupo normoglicêmico tratado com salina (CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da proteína	Score	Ratio DL10: CS
Q8VCN5	Cystathionine gamma-lyase	81,35	3,29
Q8C196	Carbamoyl-phosphate synthase [ammonia]_ mitochondrial	2227,71	3,19
Q9QXD6	Fructose-1_6-bisphosphatase 1	1037,78	3,10
Q9DCW5	Cytochrome c oxidase subunit 6A_ mitochondrial	519,05	3,06
P43024	Cytochrome c oxidase subunit 6A1_ mitochondrial	519,05	3,06
A2AE91	Glutathione S-transferase_ mu 4	478	2,94
P15626	Glutathione S-transferase Mu 2	478	2,92
Q8R5I6	Glutathione S-transferase mu 4	478	2,92
Q80W21	Glutathione S-transferase Mu 7	478	2,92
O09173	Homogentisate 1_2-dioxygenase	83,1	2,86
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	192,42	2,77
Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	410,28	2,53
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	822,41	2,51
Q8VC30	Triokinase/FMN cyclase	155,89	2,44
O35490	Betaine--homocysteine S-methyltransferase 1	1056,74	2,36
P49429	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	400,73	2,32
P50247	Adenosylhomocysteinase	331,62	2,32
P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	254,78	2,32
P24472	Glutathione S-transferase A4	174,73	2,29
Q9QXF8	Glycine N-methyltransferase	468,76	2,27
O88451	Retinol dehydrogenase 7	136,32	2,23
Q9DBF1	Alpha-aminoadipic semialdehyde dehydrogenase	622,43	2,18
Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	225,65	2,18
P11352	Glutathione peroxidase 1	2743,11	2,18
P25688	Uricase	173,22	2,18
Q91WS4	S-methylmethionine--homocysteine S-methyltransferase BHMT2	531,54	2,16
P00329	Alcohol dehydrogenase 1	441,56	2,12
O08709	Peroxiredoxin-6	189,08	2,08
Q6GT24	Peroxiredoxin 6	189,08	2,05
P16460	Argininosuccinate synthase	397,33	2,03
P38647	Stress-70 protein_ mitochondrial	149,04	2,01
P30115	Glutathione S-transferase A3	831,4	1,97
P47738	Aldehyde dehydrogenase_ mitochondrial	276,2	1,95
P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1_ mitochondrial	503,9	1,95
Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	214,9	1,93
Q6P8Q0	Glutathione S-transferase	831,4	1,92
Q8VCH0	3-ketoacyl-CoA thiolase B_ peroxisomal	433,27	1,90
P13745	Glutathione S-transferase A1	831,4	1,90
P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	179,92	1,88
G5E850	Cytochrome b-5_ isoform CRA_a	1319,86	1,86
P10648	Glutathione S-transferase A2	656,67	1,84
P56395	Cytochrome b5	1319,86	1,80
Q61176	Arginase-1	1288,86	1,79
P08249	Malate dehydrogenase_ mitochondrial	145,57	1,79
Q9EQ20	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating]_ mitochondrial	129,77	1,77
Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	377,43	1,77

Q9DBT9	Dimethylglycine dehydrogenase_ mitochondrial	77,53	1,73
Q9CZS1	Aldehyde dehydrogenase X_ mitochondrial	68,32	1,72
Q62148	Retinal dehydrogenase 2	68,32	1,72
Q9JHW9	Aldehyde dehydrogenase family 1 member A3	68,32	1,70
O35945	Aldehyde dehydrogenase_ cytosolic 1	256,67	1,68
Q64459	Cytochrome P450 3A11	136,24	1,68
Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha_ mitochondrial	171,8	1,68
B2RQC6	CAD protein	11,58	1,65
P11725	Ornithine carbamoyltransferase_ mitochondrial	375,1	1,65
O55125	Protein NipSnap homolog 1	243,19	1,65
Q8R0Y6	Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	142,79	1,63
Q8CHT0	Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase_ mitochondrial	82,43	1,63
P24549	Retinal dehydrogenase 1	302,47	1,63
Q8BMS1	Trifunctional enzyme subunit alpha_ mitochondrial	592,76	1,63
P68368	Tubulin alpha-4A chain	181,21	1,63
P99029	Peroxiredoxin-5_ mitochondrial	155,12	1,60
Q9JJZ2	Tubulin alpha-8 chain	181,21	1,60
P70696	Histone H2B type 1-A	899,62	1,58
Q8K009	Mitochondrial 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	89,47	1,58
Q8QZR3	Pyrethroid hydrolase Ces2a	185,79	1,58
P63038	60 kDa heat shock protein_ mitochondrial	76,93	1,57
Q9CZ13	Cytochrome b-c1 complex subunit 1_ mitochondrial	201,67	1,57
P14152	Malate dehydrogenase_ cytoplasmic	225,81	1,57
P17751	Triosephosphate isomerase	335,42	1,57
P47955	60S acidic ribosomal protein P1	1388,77	1,57
Q9DCW4	Electron transfer flavoprotein subunit beta	365,21	1,55
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	1296,61	1,55
Q91VS7	Microsomal glutathione S-transferase 1	1346,15	1,55
S4R2M7	Phosphoglycerate kinase	289,13	1,55
P35700	Peroxiredoxin-1	360,89	1,54
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	201,13	1,54
P60710	Actin_ cytoplasmic 1	2785,33	1,52
P63260	Actin_ cytoplasmic 2	2798,88	1,52
P56480	ATP synthase subunit beta_ mitochondrial	856,33	1,52
C0HKE2	Histone H2A type 1-C	1296,61	1,52
P05784	Keratin_ type I cytoskeletal 18	326,53	1,52
Q07417	Short-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial V=2	444,72	1,52
P05202	Aspartate aminotransferase_ mitochondrial	230,28	1,51
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_ mitochondrial	400,63	1,51
C0HKE8	Histone H2A type 1-O	1296,61	1,51
Q6GSS7	Histone H2A type 2-A	1296,61	1,51
P19001	Keratin_ type I cytoskeletal 19	144,29	1,51
P05214	Tubulin alpha-3 chain	181,21	1,51
Q8BFZ3	Beta-actin-like protein 2	390,88	1,49
P24270	Catalase	331	1,49
Q9R0H0	Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1	85,66	1,49
P62737	Actin_ aortic smooth muscle	1900,26	1,48
P63268	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	1900,26	1,48
C0HKE3	Histone H2A type 1-D	1296,61	1,48
Q9D819	Inorganic pyrophosphatase	131,92	1,48
P09041	Phosphoglycerate kinase 2	250,25	1,48
Q8R1M2	Histone H2A.J	1296,61	1,46

O08807	Peroxioredoxin-4	281,51	1,46
Q8CGP4	Histone H2A	1296,61	1,45
P68033	Actin_ alpha cardiac muscle 1	1900,26	1,43
P68134	Actin_ alpha skeletal muscle	1900,26	1,43
D3Z6F5	ATP synthase subunit alpha	561,17	1,42
Q64523	Histone H2A type 2-C	1296,61	1,42
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase_ mitochondrial	1404,29	1,40
Q60759	Glutaryl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	574,18	1,40
Q9DBM2	Peroxisomal bifunctional enzyme	136,76	1,40
Q03265	ATP synthase subunit alpha_ mitochondrial	564,43	1,39
Q9DB20	ATP synthase subunit O_ mitochondrial	324,14	1,39
C0HKE7	Histone H2A type 1-N	1296,61	1,39
Q64524	Histone H2B type 2-E	659,4	1,39
Q8CGP0	Histone H2B type 3-B	659,4	1,39
P32020	Non-specific lipid-transfer protein	206,7	1,39
C0HKE4	Histone H2A type 1-E	1296,61	1,38
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	716,16	1,38
Q9D2U9	Histone H2B type 3-A	659,4	1,38
P00342	L-lactate dehydrogenase C chain	70,9	1,38
Q64442	Sorbitol dehydrogenase	192,41	1,38
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	450,67	1,38
P68369	Tubulin alpha-1A chain	198,52	1,38
P68373	Tubulin alpha-1C chain	198,52	1,38
Q64475	Histone H2B type 1-B	716,16	1,36
Q8CGP1	Histone H2B type 1-K	716,16	1,36
Q8CGP2	Histone H2B type 1-P	716,16	1,36
Q64525	Histone H2B type 2-B	716,16	1,36
P05213	Tubulin alpha-1B chain	201,21	1,36
Q64433	10 kDa heat shock protein_ mitochondrial	474,94	1,35
Q64478	Histone H2B type 1-H	716,16	1,35
Q8CBB6	Histone H2B	716,16	1,34
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	131,87	1,32
P62806	Histone H4	280,1	1,32
P70694	Estradiol 17 beta-dehydrogenase 5	588,98	1,31
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	319,78	1,31
Q91VA0	Acyl-coenzyme A synthetase ACSM1_ mitochondrial	152,08	1,30
Q6ZWY9	Histone H2B type 1-C/E/G	716,16	1,30
Q8CGP6	Histone H2A type 1-H	1296,61	1,30
Q3THW5	Histone H2A.V	873,45	1,28
P35505	Fumarylacetoacetase	752,06	1,26
P10854	Histone H2B type 1-M	716,16	1,26
P31786	Acyl-CoA-binding protein	433,57	1,25
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	94,03	1,25
P15532	Nucleoside diphosphate kinase A	265,53	1,25
E9PZF0	Nucleoside diphosphate kinase	265,53	1,25
Q564E2	L-lactate dehydrogenase	568,3	1,23
P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	568,3	1,23
P26443	Glutamate dehydrogenase 1_ mitochondrial	466,05	1,22
Q61696	Heat shock 70 kDa protein 1A	131,87	1,22
P17879	Heat shock 70 kDa protein 1B	131,87	1,22
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	131,87	1,22
P02088	Hemoglobin subunit beta-1	4470,87	1,22
Q64522	Histone H2A type 2-B	873,45	1,22
POC0S6	Histone H2A.Z	873,45	1,22

P27661	Histone H2AX	873,45	1,22
P09103	Protein disulfide-isomerase	310,43	1,22
Q91WU0	Carboxylesterase 1F	160,08	1,21
P17183	Gamma-enolase	90,87	1,09
P40142	Transketolase	99,55	1,01
Q8CGP5	Histone H2A type 1-F	1296,61	1,01
Q8CGP7	Histone H2A type 1-K	1296,61	1,00
Q8BFU2	Histone H2A type 3	1296,61	1,00
Q9ET01	Glycogen phosphorylase_ liver form	106,73	0,99
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	355,32	0,99
P02104	Hemoglobin subunit epsilon-Y2	2118,71	0,99
P01942	Hemoglobin subunit alpha	5277,91	0,98
O35215	D-dopachrome decarboxylase	941,94	0,96
P62631	Elongation factor 1-alpha 2	73,55	0,96
P52792	Glucokinase	873,45	0,95
Q91VB8	Alpha globin 1	5277,91	0,94
P46425	Glutathione S-transferase P 2	1013,14	0,93
P21550	Beta-enolase	857,85	0,91
P41216	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1	718,34	0,88
A8DUK4	Beta-globin	3132,85	0,86
Q64374	Regucalcin	513,16	0,85
P02089	Hemoglobin subunit beta-2	2271,86	0,84
E9Q223	Hemoglobin_ beta adult s chain (Fragment)	3132,85	0,84
P07724	Serum albumin	158,05	0,82
P17563	Selenium-binding protein 1	432,63	0,73
Q63836	Selenium-binding protein 2	424,89	0,71
P19157	Glutathione S-transferase P 1	1955,76	0,70
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	145,46	0,66
P17182	Alpha-enolase	3429,64	0,65
Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta_ mitochondrial	824,83	0,61
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	8093,76	0,56
Q9CQ62	2_4-dienoyl-CoA reductase_ mitochondrial	760,66	0,51
Q921H8	3-ketoacyl-CoA thiolase A_ peroxisomal	1624,12	0,50
Q8VCW8	Acyl-CoA synthetase family member 2_ mitochondrial	385,6	0,41
P16015	Carbonic anhydrase 3	1499,22	0,34
P54869	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase_ mitochondrial	4391,62	0,30
P12710	Fatty acid-binding protein_ liver	4113,46	0,25

Proteínas identificadas estão organizadas de acordo com o *Ratio*. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados da Uniprot.

Tabela 13. Proteínas identificadas no fígado de camundongos normoglicêmicos tratados com salina (CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
Q78JT3	3-hydroxyanthranilate 3_4-dioxygenase	220,37
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	290,69
Q91WG0	Acylcarnitine hydrolase	18,98
E9PUM3	Alpha-1_4 glucan phosphorylase	39,99
E9Q1H3	Alpha-aminoacidic semialdehyde dehydrogenase (Fragment)	26,61
Q8VCU1	Carboxylesterase 3B	238,59
Q6PDB7	Carboxylic ester hydrolase	18,98
E9Q7N9	Dynein_ axonemal_ heavy chain 11	45,88

Q9ERK4	Exportin-2	83,39
Q8CI94	Glycogen phosphorylase_ brain form	34,05
Q9WUB3	Glycogen phosphorylase_ muscle form	39,99
P28665	Murinoglobulin-1	83,81
Q9D0F9	Phosphoglucomutase-1	45,36
Q99LX0	Protein DJ-1	1034,02

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 14. Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo a 10 mg/Kg (DL10).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
Q8VCR2	17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 13	265,26
Q9R092	17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 6	444,68
Q9QXE0	2-hydroxyacyl-CoA lyase 1	479,2
P50136	2-oxoisovalerate dehydrogenase subunit alpha_ mitochondrial	122,1
Q99L13	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	263,02
Q99J99	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	57,49
Q8VCX1	3-oxo-5-beta-steroid 4-dehydrogenase	177,28
A0A1L1SU K3	40S ribosomal protein SA	40,53
Q9JLJ2	4-trimethylaminobutyraldehyde dehydrogenase	199,68
Q8CAY6	Acetyl-CoA acetyltransferase_ cytosolic	768,03
Q80X81	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 3	962,98
Q99KI0	Aconitate hydratase_ mitochondrial	174,34
P55264	Adenosine kinase	186,03
F8WGT1	Adenosylhomocysteinase	95,22
P48962	ADP/ATP translocase 1	328,59
P51881	ADP/ATP translocase 2	577
Q3V132	ADP/ATP translocase 4	123,44
A2AS89	Agmatinase_ mitochondrial	848,74
E9Q394	A-kinase anchor protein 13	74,02
Q8BGT5	Alanine aminotransferase 2	155,18
Q9JII6	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	544,9
G3UYH1	Aldehyde dehydrogenase X_ mitochondrial (Fragment)	75,49
A1BN54	Alpha actinin 1a	58,08
P07758	Alpha-1-antitrypsin 1-1	157,2
P22599	Alpha-1-antitrypsin 1-2	157,2
Q00896	Alpha-1-antitrypsin 1-3	157,2
Q00897	Alpha-1-antitrypsin 1-4	157,2
Q7TPR4	Alpha-actinin-1	58,08
P57780	Alpha-actinin-4	92,91
Q99K67	Alpha-aminoadipic semialdehyde synthase_ mitochondrial	370,33
Q8BW75	Amine oxidase [flavin-containing] B	88,31
Q0VGY9	Ank1 protein	53,37
G5E8J2	Ankyrin 1_ erythroid	53,37
Q02357	Ankyrin-1	62,83
Q91YI0	Argininosuccinate lyase	3278,81
P05201	Aspartate aminotransferase_ cytoplasmic	2308,44
Q9CQQ7	ATP synthase F(0) complex subunit B1_ mitochondrial	465,41

P03930	ATP synthase protein 8	988,92
Q9DCX2	ATP synthase subunit d_ mitochondrial	305,51
Q9D3D9	ATP synthase subunit delta_ mitochondrial	231,46
P56135	ATP synthase subunit f_ mitochondrial	1799,55
J3QPZ9	Beta-enolase (Fragment)	728,69
Q8VC97	Beta-ureidopropionase	128,42
Q91X34	Bile acid-CoA:amino acid N-acyltransferase	171,68
Q4LDG0	Bile acyl-CoA synthetase	211,95
Q8BH59	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar1	6,1
P48758	Carbonyl reductase [NADPH] 1	64,39
P52825	Carnitine O-palmitoyltransferase 2_ mitochondrial	244,32
O88587	Catechol O-methyltransferase	318,89
Q6RT24	Centromere-associated protein E	74,83
A2AJK6	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7	21,41
O54909	Cis-retinol androgen dehydrogenase 1	319,6
Q8K5C8	Cis-retinol/androgen dehydrogenase type 3	319,6
Q9CZU6	Citrate synthase_ mitochondrial	98,28
P68500	Contactin-5	42,05
A0A0A6Y WX6	Cytochrome b-c1 complex subunit 1_ mitochondrial (Fragment)	160,93
Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2_ mitochondrial	207,69
Q9CR68	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske_ mitochondrial	355,83
M0QWX7	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1_ mitochondrial (Fragment)	410,98
Q9D0M3	Cytochrome c1_ heme protein_ mitochondrial	111,83
Q64458	Cytochrome P450 2C29	480,07
P56656	Cytochrome P450 2C39	48,4
Q91X77	Cytochrome P450 2C50	100,4
Q6XVG2	Cytochrome P450 2C54	96,8
P24456	Cytochrome P450 2D10	485,76
P24457	Cytochrome P450 2D11	26,58
P11714	Cytochrome P450 2D9	252,53
P33267	Cytochrome P450 2F2	208,19
Q64481	Cytochrome P450 3A16	46,62
Q9JMA7	Cytochrome P450 3A41	41,5
Q8BVD2	Cytochrome P450_ family 2_ subfamily d_ polypeptide 12	80,38
L7N463	Cytochrome P450_ family 2_ subfamily d_ polypeptide 34	53,8
Q80XN0	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	254,74
Q8R1A4	Dedicator of cytokinesis protein 7	62,38
P10518	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	129,99
O08749	Dihydrolipoyl dehydrogenase_ mitochondrial	134,85
Q9D2G2	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex_ mitochondrial	86,31
Q8BVI4	Dihydropteridine reductase	205,41
P97872	Dimethylaniline monooxygenase [N-oxide-forming] 5	122,3
Q8CFG4	Doublesex- and mab-3-related transcription factor A1	45,14
O88196	E3 ubiquitin-protein ligase TTC3	49,78
Q8BHR2	Ecto-NOX disulfide-thiol exchanger 1	50,35
Q921G7	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase_ mitochondrial	77,38
Q99MI1	ELKS/Rab6-interacting/CAST family member 1	79,9
Q8BFR5	Elongation factor Tu_ mitochondrial	342,65
P42125	Enoyl-CoA delta isomerase 1_ mitochondrial	404,08
Q8BH95	Enoyl-CoA hydratase_ mitochondrial	692,7

E9PWK1	Epoxide hydrolase	2012,02
Q9D379	Epoxide hydrolase 1	2022,32
Q6PH08	ERC protein 2	127,91
P50171	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 8	89,41
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	372,12
P10630	Eukaryotic initiation factor 4A-II	389,98
Q91VC3	Eukaryotic initiation factor 4A-III	224,44
Q9ESJ0	Exportin-4	49,04
Q9CPX4	Ferritin	79,17
P29391	Ferritin light chain 1	79,17
P49945	Ferritin light chain 2	206,76
E9Q9T0	Fibrosin-like 1	68,24
Q8VHX6	Filamin-C	27,73
Q91XD4	Formimidoyltransferase-cyclodeaminase	341,26
E9Q0T7	Fructose-1_6-bisphosphatase 1	291,43
P97807	Fumarate hydratase_ mitochondrial	420,58
E9Q6L7	Glutathione S-transferase	720,39
P19639	Glutathione S-transferase Mu 3	2505,53
O35660	Glutathione S-transferase Mu 6	334,85
Q91XE0	Glycine N-acyltransferase	40,2
Q91Z53	Glyoxylate reductase/hydroxypyruvate reductase	73,27
O54865	Guanylate cyclase soluble subunit beta-1	50,22
G3UX44	H2-K region-expressed gene 6 (Fragment)	68,35
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_ mitochondrial	221,61
P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	355,61
P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	506,2
F8W135	Histone H3	236,78
P68433	Histone H3.1	236,78
P84228	Histone H3.2	236,78
P84244	Histone H3.3	236,78
P02301	Histone H3.3C	236,78
Q00547	Hyaluronan mediated motility receptor	46,13
Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase_ mitochondrial	1191,06
Q8JZK9	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase_ cytoplasmic	95,36
Q8BU25	Inactive serine protease PAMR1	34,12
D3YVY3	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic (Fragment)	49,49
D6RIL6	Isocitrate dehydrogenase [NADP]_ mitochondrial	183,11
A0A0U1RP R1	Isocitrate dehydrogenase 2 (NADP+)_ mitochondrial_ isoform CRA_a	28,1
Q9D3R6	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2	56,06
B1AQ77	Keratin 15_ isoform CRA_a	39,49
E9Q1Z0	Keratin 90	17,25
Q61765	Keratin_ type I cuticular Ha1	39,49
Q62168	Keratin_ type I cuticular Ha2	39,49
Q61897	Keratin_ type I cuticular Ha3-II	39,49
Q49714	Keratin_ type I cuticular Ha5	39,49
B1AQ75	Keratin_ type I cuticular Ha6	39,49
P02535	Keratin_ type I cytoskeletal 10	39,49
P08730	Keratin_ type I cytoskeletal 13	39,49
Q61781	Keratin_ type I cytoskeletal 14	39,49
Q61414	Keratin_ type I cytoskeletal 15	39,49
Q9Z2K1	Keratin_ type I cytoskeletal 16	64,79
Q9QWL7	Keratin_ type I cytoskeletal 17	39,49
A1L317	Keratin_ type I cytoskeletal 24	39,49

A6BLY7	Keratin_ type I cytoskeletal 28	39,49
Q6IFX3	Keratin_ type I cytoskeletal 40	39,49
Q6IFX2	Keratin_ type I cytoskeletal 42	39,49
Q99M73	Keratin_ type II cuticular Hb4	17,25
P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	169,77
Q8VBT2	L-serine dehydratase/L-threonine deaminase	380,53
G5E902	MCG10343_ isoform CRA_b	331,6
Q91WH2	MCG131371	35,47
G5E8H9	MCG134493	591,24
Q8CGV4	MCG140848	591,24
Q8BG37	MCG48959	84,09
P45952	Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	114,7
O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	103,03
Q922Q1	Mitochondrial amidoxime reducing component 2	36,73
Q9WVD5	Mitochondrial ornithine transporter 1	739,82
V9GWW6	Muscular LMNA-interacting protein	48,22
Q61941	NAD(P) transhydrogenase_ mitochondrial	50,79
F2Z456	NADH-cytochrome b5 reductase	267,42
Q9DCN2	NADH-cytochrome b5 reductase 3	267,42
B9EIW5	Ncoa7 protein	20,12
A2AQB2	Nebulin	63,85
Q6DFV7	Nuclear receptor coactivator 7	28,3
P29758	Ornithine aminotransferase_ mitochondrial	2655,24
A0A0R4J15 0	Oxysterol-binding protein	46,22
B9EJ86	Oxysterol-binding protein-related protein 8	72,48
E9Q1M1	PDZ domain-containing 2	27,2
F8VFN3	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	375,93
P17742	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	1643,71
Q3UQ28	Peroxidasin homolog	43,1
A0A0A6YX Q7	Peroxiredoxin-6	497,19
A2A848	Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (Fragment)	33,48
P51660	Peroxisomal multifunctional enzyme type 2	258,98
Q6NZN1	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-related protein 1	35,82
Q9DCM0	Persulfide dioxygenase ETHE1_ mitochondrial	124,57
P16331	Phenylalanine-4-hydroxylase	273,68
Q8VEM8	Phosphate carrier protein_ mitochondrial	331,6
Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase_ cytosolic [GTP]	269,57
A2CEK3	Phosphoglucomutase-2	44,37
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	326,28
A0A0N4SV P8	Predicted pseudogene 5580	224,44
A2ATU0	Probable 2-oxoglutarate dehydrogenase E1 component DHKTD1_ mitochondrial	257,79
Q7TNG8	Probable D-lactate dehydrogenase_ mitochondrial	122,36
P70398	Probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF-X	28,11
P67778	Prohibitin	193,86
O35129	Prohibitin-2	501,05
Q8VCR7	Protein ABHD14B	175,04
Q922R8	Protein disulfide-isomerase A6	368,92
Q5SX79	Protein Shroom1	35,52
E9PVD3	Protocadherin-16	15,91

Q68FL4	Putative adenosylhomocysteinase 3	95,22
A0A1D5RL	Pyrethroid hydrolase Ces2a (Fragment)	637,33
Q1		
E9Q9P8	RDH16 family member 1	591,24
Q6PHA1	Rdh9 protein	132,74
D6RFQ4	Retinol dehydrogenase 16	132,74
Q80SW1	S-adenosylhomocysteine hydrolase-like protein 1	79,5
A0A0U1RN		
T6	S-adenosylmethionine synthase	339,1
Q3THS6	S-adenosylmethionine synthase isoform type-2	344,43
Q9CZN7	Serine hydroxymethyltransferase	99,81
P50431	Serine hydroxymethyltransferase_ cytosolic	249,34
Q9EQY0	Serine/threonine-protein kinase/endoribonuclease IRE1	153,31
P52019	Squalene monooxygenase	126,32
Q9DBG1	Sterol 26-hydroxylase_ mitochondrial	61,09
Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit_ mitochondrial	272,22
Q9CQA3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit_ mitochondrial	143,4
Q9WUM5	Succinate--CoA ligase [ADP/GDP-forming] subunit alpha_ mitochondrial	212,22
Q9Z2I8	Succinate--CoA ligase [GDP-forming] subunit beta_ mitochondrial	196,96
P52840	Sulfotransferase 1A1	565,53
E9QNL5	Sulfotransferase	700,02
A3KMP2	Tetratricopeptide repeat protein 38	71,33
Q505D9	Tripartite motif-containing protein 67	56,43
Q1HFZ0	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase	365,31
A2AQ07	Tubulin beta-1 chain	107,37
Q7TMM9	Tubulin beta-2A chain	1751,24
Q9CWF2	Tubulin beta-2B chain	1751,24
Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	889,89
Q9D6F9	Tubulin beta-4A chain	1516,97
P68372	Tubulin beta-4B chain	1738,19
P99024	Tubulin beta-5 chain	1891,78
Q922F4	Tubulin beta-6 chain	507,24
Q9ERA6	Tuftelin-interacting protein 11	106,6
D3YUP6	UDP glucuronosyltransferase 2 family_ polypeptide B36 (Fragment)	114,86
O70475	UDP-glucose 6-dehydrogenase	297,82
Q63886	UDP-glucuronosyltransferase 1-1	1570,55
P70691	UDP-glucuronosyltransferase 1-2	1562,25
Q64435	UDP-glucuronosyltransferase 1-6	1562,25
Q6ZQM8	UDP-glucuronosyltransferase 1-7C	1562,25
Q62452	UDP-glucuronosyltransferase 1-9	1562,25
P17717	UDP-glucuronosyltransferase 2B17	331,76
Q3UEP4	UDP-glucuronosyltransferase	114,86
Q8VC12	Urocanate hydratase	76,5
Q8R164	Valacyclovir hydrolase	286,73
Q8VCR2	17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 13	265,26

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 15. Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos do grupo tratado com litospermosídeo 10 mg/Kg (DL10) em comparação com o grupo diabético tratado com salina(DS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da proteína	Score	Ratio DL10: DS
P47955	60S acidic ribosomal protein P1	1551,59	2,86
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	172,3	2,86
P15626	Glutathione S-transferase Mu 2	8578,28	2,69
Q80W21	Glutathione S-transferase Mu 7	8578,28	2,69
Q8R5I6	Glutathione S-transferase mu 4	8578,28	2,66
P43024	Cytochrome c oxidase subunit 6A1_ mitochondrial	527,32	2,64
Q64481	Cytochrome P450 3A16	37,61	2,48
P48962	ADP/ATP translocase 1	81,26	2,44
P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	180,44	2,36
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	1145,49	2,36
P51881	ADP/ATP translocase 2	156,79	2,34
P19157	Glutathione S-transferase P 1	5364,32	2,34
Q8JZK9	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase_ cytoplasmic	66,15	2,25
P46425	Glutathione S-transferase P 2	2837,22	2,20
Q8BFZ3	Beta-actin-like protein 2	1898,36	2,12
P62806	Histone H4	666	2,08
Q64524	Histone H2B type 2-E	3992,9	2,05
Q8CGP0	Histone H2B type 3-B	3992,9	2,05
Q8CBB6	Histone H2B	4205,17	2,01
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	4205,17	2,01
Q64478	Histone H2B type 1-H	4205,17	2,01
Q8CGP1	Histone H2B type 1-K	4205,17	2,01
Q8CGP2	Histone H2B type 1-P	4205,17	2,01
Q64525	Histone H2B type 2-B	4205,17	2,01
Q64475	Histone H2B type 1-B	4205,17	1,99
Q6ZWY9	Histone H2B type 1-C/E/G	4205,17	1,99
O08807	Peroxiredoxin-4	676,16	1,99
P24472	Glutathione S-transferase A4	245,7	1,95
P30115	Glutathione S-transferase A3	543,28	1,90
Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	1074,58	1,90
Q91VA0	Acyl-coenzyme A synthetase ACSM1_ mitochondrial	560,68	1,86
P13745	Glutathione S-transferase A1	501,19	1,86
Q8VC73	Glutathione S-transferase pi 3	8,53	1,86
Q63836	Selenium-binding protein 2	1179,32	1,79
P10648	Glutathione S-transferase A2	255,49	1,77
Q9JJZ2	Tubulin alpha-8 chain	119,55	1,75
P17563	Selenium-binding protein 1	1562,92	1,73
Q9DBF1	Alpha-aminoacidic semialdehyde dehydrogenase	477,26	1,68
Q61176	Arginase-1	5612,91	1,68
P52792	Glucokinase	960,51	1,68
Q01853	Transitional endoplasmic reticulum ATPase	168,05	1,67
P31786	Acyl-CoA-binding protein	999,42	1,65
Q8CGP4	Histone H2A	3181,58	1,60
C0HKE2	Histone H2A type 1-C	3181,58	1,60
C0HKE3	Histone H2A type 1-D	3181,58	1,60
C0HKE4	Histone H2A type 1-E	3181,58	1,60
Q8CGP6	Histone H2A type 1-H	3181,58	1,60
Q8CGP7	Histone H2A type 1-K	3181,58	1,60

C0HKE7	Histone H2A type 1-N	3181,58	1,60
C0HKE8	Histone H2A type 1-O	3181,58	1,60
Q6GSS7	Histone H2A type 2-A	3181,58	1,60
Q64523	Histone H2A type 2-C	3181,58	1,60
Q8BFU2	Histone H2A type 3	3181,58	1,60
P55264	Adenosine kinase	71,37	1,58
G5E850	Cytochrome b-5_ isoform CRA_a	929,35	1,58
C0HKE1	Histone H2A type 1-B	3181,58	1,58
C0HKE5	Histone H2A type 1-G	3181,58	1,58
Q8R1M2	Histone H2A.J	3181,58	1,58
Q3THS6	S-adenosylmethionine synthase isoform type-2	305,89	1,58
Q8BMS1	Trifunctional enzyme subunit alpha_ mitochondrial	207,55	1,58
Q8C196	Carbamoyl-phosphate synthase [ammonia]_ mitochondrial O	14553,31	1,57
P56395	Cytochrome b5	929,35	1,57
C0HKE9	Histone H2A type 1-P	3181,58	1,57
P70694	Estradiol 17 beta-dehydrogenase 5	1154,93	1,55
Q8CGP5	Histone H2A type 1-F	3181,58	1,55
P41216	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1	120,36	1,55
P32020	Non-specific lipid-transfer protein	361,75	1,55
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	179,34	1,55
Q7TMM9	Tubulin beta-2A chain	157,79	1,55
Q64459	Cytochrome P450 3A11	160,89	1,54
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	3181,58	1,54
Q64522	Histone H2A type 2-B	2094,83	1,54
P27661	Histone H2AX	2094,83	1,54
Q9CWF2	Tubulin beta-2B chain	157,79	1,54
P99024	Tubulin beta-5 chain	157,79	1,54
Q9CPY7	Cytosol aminopeptidase	127,35	1,52
Q91WS4	S-methylmethionine--homocysteine S-methyltransferase BHMT2	2235,71	1,52
P00329	Alcohol dehydrogenase 1	1421,99	1,51
P17879	Heat shock 70 kDa protein 1B	190,54	1,51
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	891,19	1,51
P05202	Aspartate aminotransferase_ mitochondrial	1751,55	1,49
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	190,54	1,49
O55125	Protein NipSnap homolog 1	407,93	1,49
P68368	Tubulin alpha-4A chain	192,13	1,49
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase_ mitochondrial	4619,36	1,48
P47738	Aldehyde dehydrogenase_ mitochondrial	2840,44	1,48
Q91YI0	Argininosuccinate lyase	1914,51	1,48
Q61696	Heat shock 70 kDa protein 1A	190,54	1,48
Q9D819	Inorganic pyrophosphatase	198,94	1,48
P38647	Stress-70 protein_ mitochondrial	189,3	1,48
P16015	Carbonic anhydrase 3	3778,92	1,46
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	146,73	1,46
Q3THW5	Histone H2A.V	2094,83	1,46
P12710	Fatty acid-binding protein_ liver	588,9	1,45
P26443	Glutamate dehydrogenase 1_ mitochondrial	2836,51	1,45
Q8BG37	MCG48959	471,02	1,43
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	627,93	1,43
Q91XD4	Formimidoyltransferase-cyclodeaminase	134,52	1,42
P0C0S6	Histone H2A.Z	2094,83	1,42
Q6GT24	Peroxisredoxin 6	708,45	1,42

O08709	Peroxiredoxin-6	708,45	1,42
Q64374	Regucalcin	728,9	1,42
Q07417	Short-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	353,69	1,42
P05213	Tubulin alpha-1B chain	249,77	1,42
P05214	Tubulin alpha-3 chain	192,13	1,42
P52760	2-iminobutanoate/2-iminopropanoate deaminase	986,04	1,40
S4R2M7	Phosphoglycerate kinase	529,01	1,40
P23953	Carboxylesterase 1C	15,41	1,39
P08113	Endoplasmin	305,49	1,39
P70696	Histone H2B type 1-A	1761,64	1,39
Q8K009	Mitochondrial 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	155,33	1,39
Q921H8	3-ketoacyl-CoA thiolase A_ peroxisomal	1418,19	1,38
P49429	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	2296,04	1,38
Q8R0Y6	Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	5180,18	1,38
P54869	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase_ mitochondrial	4540,31	1,38
Q64433	10 kDa heat shock protein_ mitochondrial	2709,59	1,36
P63017	Heat shock cognate 71 kDa protein	280,09	1,36
Q8VC30	Triokinase/FMN cyclase	459,68	1,36
Q8CAY6	Acetyl-CoA acetyltransferase_ cytosolic	258,81	1,35
P50247	Adenosylhomocysteinase	8175,36	1,35
Q9CZ13	Cytochrome b-c1 complex subunit 1_ mitochondrial	440,86	1,35
Q80XN0	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	187,8	1,35
P11352	Glutathione peroxidase 1	1793,98	1,35
O09173	Homogentisate 1_2-dioxygenase	708,33	1,35
P16125	L-lactate dehydrogenase B chain	357,3	1,35
P14152	Malate dehydrogenase_ cytoplasmic	966,73	1,35
P35700	Peroxiredoxin-1	2502,01	1,35
P52196	Thiosulfate sulfurtransferase	775,36	1,35
P68369	Tubulin alpha-1A chain	249,77	1,35
P68373	Tubulin alpha-1C chain	177,19	1,35
Q8VCH0	3-ketoacyl-CoA thiolase B_ peroxisomal	1864,07	1,34
Q99K67	Alpha-aminoadipic semialdehyde synthase_ mitochondrial	35,52	1,34
P05201	Aspartate aminotransferase_ cytoplasmic	1833,22	1,34
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	14547,95	1,34
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	7101,23	1,34
P99029	Peroxiredoxin-5_ mitochondrial	495,66	1,34
P51660	Peroxisomal multifunctional enzyme type 2	166,12	1,34
P27773	Protein disulfide-isomerase A3	161,94	1,34
P63038	60 kDa heat shock protein_ mitochondrial	2723,92	1,32
P60710	Actin_ cytoplasmic 1	20916,99	1,32
P63260	Actin_ cytoplasmic 2	20926,21	1,32
Q9DBT9	Dimethylglycine dehydrogenase_ mitochondrial	139,89	1,32
Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	7682,34	1,32
P02104	Hemoglobin subunit epsilon-Y2	2267,21	1,32
O35945	Aldehyde dehydrogenase_ cytosolic 1	1808,19	1,31
P34914	Bifunctional epoxide hydrolase 2	472,81	1,31
P35505	Fumarylacetoacetase	1693,56	1,31
P02088	Hemoglobin subunit beta-1	25471,33	1,31
P10854	Histone H2B type 1-M	4205,17	1,31

P11725	Ornithine carbamoyltransferase_ mitochondrial	1502,74	1,31
P09103	Protein disulfide-isomerase	233,14	1,31
Q8BH00	Aldehyde dehydrogenase family 8 member A1	201,34	1,30
P16460	Argininosuccinate synthase	3806,72	1,30
P07724	Serum albumin	714,05	1,30
Q9D6F9	Tubulin beta-4A chain	193,82	1,30
A8DUK4	Beta-globin	16334,76	1,28
O35490	Betaine--homocysteine S-methyltransferase 1	8222,24	1,28
Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	248,89	1,28
Q9D2U9	Histone H2B type 3-A	3992,9	1,28
P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	147,39	1,28
P09041	Phosphoglycerate kinase 2	491,58	1,28
Q9CQ62	2_4-dienoyl-CoA reductase_ mitochondrial	406,28	1,27
A2AS89	Agmatinase_ mitochondrial	569,25	1,27
Q9DB20	ATP synthase subunit O_ mitochondrial	1464,08	1,27
Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha_ mitochondrial	1816,89	1,27
P08249	Malate dehydrogenase_ mitochondrial	1324,06	1,27
Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	193,82	1,27
Q922F4	Tubulin beta-6 chain	206,1	1,27
Q99KI0	Aconitate hydratase_ mitochondrial	119,08	1,26
P24270	Catalase	3856,24	1,26
Q9DCW4	Electron transfer flavoprotein subunit beta	4453,25	1,26
Q9R0H0	Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1	178,95	1,26
Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta_ mitochondrial	510,78	1,26
P17751	Triosephosphate isomerase	3053,4	1,26
P68372	Tubulin beta-4B chain	193,82	1,26
P42125	Enoyl-CoA delta isomerase 1_ mitochondrial	397,11	1,25
P06467	Hemoglobin subunit zeta	171,17	1,25
A7M7S6	Hemoglobin X_ alpha-like embryonic chain in Hba complex (Fragment)	171,17	1,25
Q80X81	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 3	755,88	1,23
Q9CZU0	Aldo-keto reductase family 1_ member C20	367,24	1,23
P17182	Alpha-enolase	3296,59	1,23
Q91WU0	Carboxylesterase 1F	217,03	1,23
Q8CHT0	Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase_ mitochondrial	105,24	1,23
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	2006,22	1,23
P00342	L-lactate dehydrogenase C chain	442,25	1,23
Q9EQ20	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating]_ mitochondrial	960,51	1,23
P20029	78 kDa glucose-regulated protein	225,61	1,22
Q3UXL1	Aldo-keto reductase family 1_ member C-like	367,24	1,22
Q03265	ATP synthase subunit alpha_ mitochondrial	2527,75	1,22
B2RQC6	CAD protein	102,53	1,22
E9QPD7	Pyruvate carboxylase	313	1,22
Q05920	Pyruvate carboxylase_ mitochondrial	330,31	1,22
Q8QZT1	Acetyl-CoA acetyltransferase_ mitochondrial	924,35	1,21
Q8VC77	Akr1c20 protein	367,24	1,21
D3Z6F5	ATP synthase subunit alpha	2514,75	1,21
Q8VCN5	Cystathionine gamma-lyase	638,43	1,21
P62631	Elongation factor 1-alpha 2	483,5	1,21

Q91X83	S-adenosylmethionine synthase isoform type-1	1815,9	1,21
Q99LB7	Sarcosine dehydrogenase_ mitochondrial	697,56	1,21
Q9QXF8	Glycine N-methyltransferase	5729,21	1,19
P24549	Retinal dehydrogenase 1	2245,83	1,17
P45952	Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	125,33	1,16
Q91VB8	Alpha globin 1	10998,21	1,11
P56480	ATP synthase subunit beta_ mitochondrial	4640,61	1,11
P21550	Beta-enolase	366,08	1,11
P01942	Hemoglobin subunit alpha	10998,21	1,11
Q9DBM2	Peroxisomal bifunctional enzyme	187,07	1,09
P02089	Hemoglobin subunit beta-2	6576,72	1,08
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_ mitochondrial	535,81	1,07
P25688	Uricase	2873,61	1,05
P17183	Gamma-enolase	131,39	1,04
P06151	L-lactate dehydrogenase A chain	884,71	0,87
O35215	D-dopachrome decarboxylase	304,59	0,84
P97807	Fumarate hydratase_ mitochondrial	420,58	0,79
P29758	Ornithine aminotransferase_ mitochondrial	2768,85	0,77
Q8VCW8	Acyl-CoA synthetase family member 2_ mitochondrial	385,6	0,76
Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit_ mitochondrial	43,55	0,74
Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase_ cytosolic [GTP]	269,57	0,71
Q9QXD6	Fructose-1_6-bisphosphatase 1	3978,92	0,68
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	498,55	0,63
P19783	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1_ mitochondrial	1218,82	0,55

Proteínas identificadas estão organizadas de acordo com o *Ratio*. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados da Uniprot.

Tabela 16. Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com litospermosídeo a 10 mg/Kg (DL10).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
Q8VCR2	17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase 13	265,26
Q9R092	17-beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 6	444,68
Q9QXE0	2-hydroxyacyl-CoA lyase 1	479,2
P50136	2-oxoisovalerate dehydrogenase subunit alpha_ mitochondrial	122,1
Q91WT7	3-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase type 1	113,63
Q99L13	3-hydroxyisobutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	263,02
Q99J99	3-mercaptopyruvate sulfurtransferase	57,49
Q8VCX1	3-oxo-5-beta-steroid 4-dehydrogenase	177,28
P14206	40S ribosomal protein SA	695,74
F8WGT1	Adenosylhomocysteinase	95,22
Q3V132	ADP/ATP translocase 4	123,44
E9Q394	A-kinase anchor protein 13	74,02
Q8BGT5	Alanine aminotransferase 2	155,18
Q9JII6	Alcohol dehydrogenase [NADP(+)]	544,9
Q8K023	Aldo-keto reductase family 1 member C18	303,33

Q91WR5	Aldo-keto reductase family 1 member C21	113,63
A1BN54	Alpha actinin 1a	58,08
Q3UEJ6	Alpha-1_4 glucan phosphorylase	269,54
P07758	Alpha-1-antitrypsin 1-1	157,2
P22599	Alpha-1-antitrypsin 1-2	157,2
Q00896	Alpha-1-antitrypsin 1-3	157,2
Q00897	Alpha-1-antitrypsin 1-4	157,2
Q7TPR4	Alpha-actinin-1	58,08
P57780	Alpha-actinin-4	92,91
Q8BW75	Amine oxidase [flavin-containing] B	88,31
Q02357	Ankyrin-1	62,83
Q9CQQ7	ATP synthase F(0) complex subunit B1_ mitochondrial	465,41
P03930	ATP synthase protein 8	988,92
Q9DCX2	ATP synthase subunit d_ mitochondrial	305,51
Q9D3D9	ATP synthase subunit delta_ mitochondrial	231,46
P56135	ATP synthase subunit f_ mitochondrial	1799,55
F7D3P8	ATP synthase subunit O_ mitochondrial (Fragment)	36,12
Q8VC97	Beta-ureidopropionase	128,42
Q91X34	Bile acid-CoA:amino acid N-acyltransferase	171,68
Q4LDG0	Bile acyl-CoA synthetase	211,95
Q8BH59	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar1	6,1
P14211	Calreticulin	59,24
P48758	Carbonyl reductase [NADPH] 1	64,39
Q63880	Carboxylesterase 3A	307,98
P52825	Carnitine O-palmitoyltransferase 2_ mitochondrial	244,32
O88587	Catechol O-methyltransferase	318,89
Q6RT24	Centromere-associated protein E	74,83
A2AJK6	Chromodomain-helicase-DNA-binding protein 7	21,41
O54909	Cis-retinol androgen dehydrogenase 1	319,6
Q8K5C8	Cis-retinol/androgen dehydrogenase type 3	319,6
Q9CZU6	Citrate synthase_ mitochondrial	98,28
Q9DB77	Cytochrome b-c1 complex subunit 2_ mitochondrial	207,69
Q9CR68	Cytochrome b-c1 complex subunit Rieske_ mitochondrial	355,83
Q9D0M3	Cytochrome c1_ heme protein_ mitochondrial	111,83
Q64458	Cytochrome P450 2C29	480,07
P56656	Cytochrome P450 2C39	48,4
Q91X77	Cytochrome P450 2C50	100,4
Q6XVG2	Cytochrome P450 2C54	96,8
P24456	Cytochrome P450 2D10	485,76
P24457	Cytochrome P450 2D11	26,58
P11714	Cytochrome P450 2D9	252,53
P33267	Cytochrome P450 2F2	208,19
Q9JMA7	Cytochrome P450 3A41	41,5
Q8BVD2	Cytochrome P450_ family 2_ subfamily d_ polypeptide 12	80,38
Q8R1A4	Dedicator of cytokinesis protein 7	62,38
P10518	Delta-aminolevulinic acid dehydratase	129,99
O08749	Dihydrolipoyl dehydrogenase_ mitochondrial	134,85
Q9D2G2	Dihydrolipoyllysine-residue succinyltransferase component of 2-oxoglutarate dehydrogenase complex_ mitochondrial	86,31
Q8BVI4	Dihydropteridine reductase	205,41
P97872	Dimethylaniline monooxygenase [N-oxide-forming] 5	122,3
Q8CFG4	Doublesex- and mab-3-related transcription factor A1	45,14
O88196	E3 ubiquitin-protein ligase TTC3	49,78
Q8BHR2	Ecto-NOX disulfide-thiol exchanger 1	50,35

Q921G7	Electron transfer flavoprotein-ubiquinone oxidoreductase_ mitochondrial	77,38
Q99MI1	ELKS/Rab6-interacting/CAST family member 1	79,9
D3YZ68	Elongation factor 1-alpha 1 (Fragment)	846,25
Q8BFR5	Elongation factor Tu_ mitochondrial	342,65
Q9D379	Epoxide hydrolase 1	2022,32
Q6PH08	ERC protein 2	127,91
P50171	Estradiol 17-beta-dehydrogenase 8	89,41
P60843	Eukaryotic initiation factor 4A-I	372,12
P10630	Eukaryotic initiation factor 4A-II	389,98
Q91VC3	Eukaryotic initiation factor 4A-III	224,44
Q9ESJ0	Exportin-4	49,04
P29391	Ferritin light chain 1	79,17
P49945	Ferritin light chain 2	206,76
E9Q9T0	Fibrosin-like 1	68,24
Q8VHX6	Filamin-C	27,73
Q60759	Glutaryl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	607,49
E9Q6L7	Glutathione S-transferase	720,39
P19639	Glutathione S-transferase Mu 3	2505,53
O35660	Glutathione S-transferase Mu 6	334,85
Q91XE0	Glycine N-acyltransferase	40,2
Q9ET01	Glycogen phosphorylase_ liver form	269,54
Q91Z53	Glyoxylate reductase/hydroxypyruvate reductase	73,27
O54865	Guanylate cyclase soluble subunit beta-1	50,22
G3UX44	H2-K region-expressed gene 6 (Fragment)	68,35
Q9CQN1	Heat shock protein 75 kDa_ mitochondrial	221,61
P07901	Heat shock protein HSP 90-alpha	355,61
P11499	Heat shock protein HSP 90-beta	506,2
Q8R029	Histone H2A	34,89
F8WI35	Histone H3	236,78
P68433	Histone H3.1	236,78
P84228	Histone H3.2	236,78
P84244	Histone H3.3	236,78
P02301	Histone H3.3C	236,78
Q00547	Hyaluronan mediated motility receptor	46,13
Q61425	Hydroxyacyl-coenzyme A dehydrogenase_ mitochondrial	1191,06
Q8BU25	Inactive serine protease PAMR1	34,12
P40936	Indolethylamine N-methyltransferase	170,9
D6RIL6	Isocitrate dehydrogenase [NADP]_ mitochondrial	183,11
Q9D3R6	Katanin p60 ATPase-containing subunit A-like 2	56,06
D3Z221	L-serine dehydratase/L-threonine deaminase (Fragment)	177,39
Q9WVL0	Maleylacetoacetate isomerase	317,47
G5E902	MCG10343_ isoform CRA_b	331,6
Q91WH2	MCG131371	35,47
G5E8H9	MCG134493	591,24
Q8CGV4	MCG140848	591,24
D6RFD7	Medium-chain-specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	36,48
O55022	Membrane-associated progesterone receptor component 1	103,03
Q91VS7	Microsomal glutathione S-transferase 1	978,82
Q922Q1	Mitochondrial amidoxime reducing component 2	36,73
Q9WVD5	Mitochondrial ornithine transporter 1	739,82
Q61941	NAD(P) transhydrogenase_ mitochondrial	50,79
Q9DCN2	NADH-cytochrome b5 reductase 3	267,42
Q6DFV7	Nuclear receptor coactivator 7	28,3

B9EJ86	Oxysterol-binding protein-related protein 8	72,48
E9Q1M1	PDZ domain-containing 2	27,2
F8VPN3	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase	375,93
P17742	Peptidyl-prolyl cis-trans isomerase A	1643,71
Q3UQ28	Peroxidasin homolog	43,1
Q6NZN1	Peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator-related protein 1	35,82
Q9DCM0	Persulfide dioxygenase ETHE1_ mitochondrial	124,57
P16331	Phenylalanine-4-hydroxylase	273,68
Q8VEM8	Phosphate carrier protein_ mitochondrial	331,6
Q9D0F9	Phosphoglucomutase-1	45,36
A2CEK3	Phosphoglucomutase-2	44,37
A2ATU0	Probable 2-oxoglutarate dehydrogenase E1 component DHKTD1_ mitochondrial	257,79
Q7TNG8	Probable D-lactate dehydrogenase_ mitochondrial	122,36
P70398	Probable ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase FAF-X	28,11
P67778	Prohibitin	193,86
O35129	Prohibitin-2	501,05
Q8VCR7	Protein ABHD14B	175,04
Q922R8	Protein disulfide-isomerase A6	368,92
Q5SX79	Protein Shroom1	35,52
E9PVD3	Protocadherin-16	15,91
Q68FL4	Putative adenosylhomocysteinase 3	95,22
Q3TSS7	Putative uncharacterized protein	119,37
Q8QZR3	Pyrethroid hydrolase Ces2a	759,17
E9Q9P8	RDH16 family member 1	591,24
Q6PHA1	Rdh9 protein	132,74
D6RFQ4	Retinol dehydrogenase 16	132,74
O88451	Retinol dehydrogenase 7	750,94
Q80SW1	S-adenosylhomocysteine hydrolase-like protein 1	79,5
Q9CZN7	Serine hydroxymethyltransferase	99,81
P50431	Serine hydroxymethyltransferase_ cytosolic	249,34
Q9EQY0	Serine/threonine-protein kinase/endoribonuclease IRE1	153,31
P52019	Squalene monooxygenase	126,32
Q9DBG1	Sterol 26-hydroxylase_ mitochondrial	61,09
Q9CQA3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] iron-sulfur subunit_ mitochondrial	143,4
Q9WUM5	Succinate--CoA ligase [ADP/GDP-forming] subunit alpha_ mitochondrial	212,22
P52840	Sulfotransferase 1A1	565,53
A3KMP2	Tetratricopeptide repeat protein 38	71,33
P40142	Transketolase	100,37
Q505D9	Tripartite motif-containing protein 67	56,43
Q1HFZ0	tRNA (cytosine(34)-C(5))-methyltransferase	365,31
A0A087WRB4	Tubulin alpha-4A chain (Fragment)	273,53
A2AQ07	Tubulin beta-1 chain	107,37
A0A1D5RM76	Tubulin beta-3 chain	293,94
G3UZR1	Tubulin beta-5 chain (Fragment)	1050,15
Q9ERA6	Tuftelin-interacting protein 11	106,6
D3YUP6	UDP glucuronosyltransferase 2 family_ polypeptide B36 (Fragment)	114,86
O70475	UDP-glucose 6-dehydrogenase	297,82
E9PXN7	UDP-glucuronosyltransferase	1562,25
Q63886	UDP-glucuronosyltransferase 1-1	1570,55
P70691	UDP-glucuronosyltransferase 1-2	1562,25

Q64435	UDP-glucuronosyltransferase 1-6	1562,25
Q6ZQM8	UDP-glucuronosyltransferase 1-7C	1562,25
Q62452	UDP-glucuronosyltransferase 1-9	1562,25
P17717	UDP-glucuronosyltransferase 2B17	331,76
Q8VC12	Urocanate hydratase	76,5
Q8R164	Valacyclovir hydrolase	286,73

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 17. Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com salina (DS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
Q99N15	17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 10/short chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	196,73
A2AFQ2	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	193,16
Q78JT3	3-hydroxyanthranilate 3_4-dioxygenase	347,56
H3BJG8	3-ketoacyl-CoA thiolase A_ peroxisomal (Fragment)	125,9
Q6GQT1	Alpha-2-macroglobulin-P	27,43
Q9Z0X1	Apoptosis-inducing factor 1_ mitochondrial	46,22
E9Q7N9	Dynein_ axonemal_ heavy chain 11	5,89
Q7TNG5	Echinoderm microtubule-associated protein-like 2	75,33
P15105	Glutamine synthetase	265,96
P48377	MHC class II regulatory factor RFX1	23,23
P61458	Pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase	128,69
P25688	Uricase	105,58

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 18. Proteínas identificadas com alteração de expressão no fígado de camundongos diabéticos tratados com salina (DS) em comparação com o grupo normoglicêmico tratado com salina(CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da proteína	Score	Ratio DS:CS
P54869	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase_ mitochondrial	337,8	2,69
Q8VCN5	Cystathionine gamma-lyase	81,35	2,64
Q9QXD6	Fructose-1_6-bisphosphatase 1	1037,78	2,16
P25688	Uricase	173,22	2,12
Q9QXF8	Glycine N-methyltransferase	468,76	2,05
Q8C196	Carbamoyl-phosphate synthase [ammonia]_ mitochondrial	2227,71	1,92
O09173	Homogentisate 1_2-dioxygenase	83,1	1,88
O35490	Betaine--homocysteine S-methyltransferase 1	1056,74	1,86
E9Q7N9	Dynein_ axonemal_ heavy chain 11	45,88	1,82
Q91Y97	Fructose-bisphosphate aldolase B	410,28	1,80
P10649	Glutathione S-transferase Mu 1	822,41	1,77
P50247	Adenosylhomocysteinase	331,62	1,68
Q8VC30	Triokinase/FMN cyclase	155,89	1,67
P49429	4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase	400,73	1,63
P11352	Glutathione peroxidase 1	2743,11	1,62
A0A0A6YY34	Glutathione peroxidase	2468,43	1,57
Q9JHW9	Aldehyde dehydrogenase family 1 member A3	68,32	1,54
Q9CZS1	Aldehyde dehydrogenase X_ mitochondrial	68,32	1,54
Q62148	Retinal dehydrogenase 2	68,32	1,52
P38647	Stress-70 protein_ mitochondrial	149,04	1,52
Q9EQ20	Methylmalonate-semialdehyde dehydrogenase [acylating]_ mitochondrial	129,77	1,51
Q921H8	3-ketoacyl-CoA thiolase A_ peroxisomal	433,27	1,45
Q6GT24	Peroxiredoxin 6	189,08	1,43
Q8VCH0	3-ketoacyl-CoA thiolase B_ peroxisomal	433,27	1,42
Q9QXX4	Calcium-binding mitochondrial carrier protein Aralar2	214,9	1,42
G3UZN1	D-dopachrome decarboxylase	338,64	1,42
P16460	Argininosuccinate synthase	397,33	1,40
P12787	Cytochrome c oxidase subunit 5A_ mitochondrial	400,63	1,40
O08709	Peroxiredoxin-6	189,08	1,40
P62737	Actin_ aortic smooth muscle	1900,26	1,36
P63268	Actin_ gamma-enteric smooth muscle	1900,26	1,36
Q9DBT9	Dimethylglycine dehydrogenase_ mitochondrial	77,53	1,34
Q99LC5	Electron transfer flavoprotein subunit alpha_ mitochondrial	171,8	1,34
P08249	Malate dehydrogenase_ mitochondrial	145,57	1,34
Q91WS4	S-methylmethionine--homocysteine S-methyltransferase BHMT2	531,54	1,34
Q8VCT4	Carboxylesterase 1D	156,88	1,32
P47738	Aldehyde dehydrogenase_ mitochondrial	276,2	1,31
Q8CHT0	Delta-1-pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase_ mitochondrial	82,43	1,31
P56480	ATP synthase subunit beta_ mitochondrial	856,33	1,28
P19001	Keratin_ type I cytoskeletal 19	144,29	1,27
P11725	Ornithine carbamoyltransferase_ mitochondrial	375,1	1,27
Q9DCW4	Electron transfer flavoprotein subunit beta	365,21	1,26
A7M7S6	Hemoglobin X_ alpha-like embryonic chain in Hba complex	205,44	1,26
P00329	Alcohol dehydrogenase 1	441,56	1,23
P63038	60 kDa heat shock protein_ mitochondrial	76,93	1,21

Q9DBM2	Peroxisomal bifunctional enzyme	136,76	1,21
P24549	Retinal dehydrogenase 1	302,47	1,21
P17751	Triosephosphate isomerase	335,42	1,20
P05784	Keratin_type I cytoskeletal 18	326,53	1,19
P99029	Peroxiredoxin-5_mitochondrial	155,12	1,17
D3Z6F5	ATP synthase subunit alpha	561,17	1,15
P56395	Cytochrome b5	1319,86	1,15
Q8K009	Mitochondrial 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	89,47	1,15
O35945	Aldehyde dehydrogenase_cytosolic 1	256,67	1,14
P48774	Glutathione S-transferase Mu 5	192,42	1,14
P70696	Histone H2B type 1-A	899,62	1,14
Q564E2	L-lactate dehydrogenase	568,3	1,14
Q03265	ATP synthase subunit alpha_mitochondrial	564,43	1,13
G5E850	Cytochrome b-5_isoform CRA_a	1319,86	1,13
P14152	Malate dehydrogenase_cytoplasmic	225,81	1,13
Q9CZ13	Cytochrome b-c1 complex subunit 1_mitochondrial	201,67	1,12
Q8R0Y6	Cytosolic 10-formyltetrahydrofolate dehydrogenase	142,79	1,11
O35215	D-dopachrome decarboxylase	941,94	1,09
P05202	Aspartate aminotransferase_mitochondrial	230,28	1,08
P60710	Actin_cytoplasmic 1	2785,33	1,07
P24270	Catalase	331	1,07
P68134	Actin_alpha skeletal muscle	1900,26	1,06
P63260	Actin_cytoplasmic 2	2798,88	1,06
P17183	Gamma-enolase	90,87	1,06
C0HKE3	Histone H2A type 1-D	1296,61	1,00
Q64459	Cytochrome P450 3A11	136,24	0,97
Q64433	10 kDa heat shock protein_mitochondrial	474,94	0,96
P09103	Protein disulfide-isomerase	310,43	0,96
P00405	Cytochrome c oxidase subunit 2	254,78	0,95
P02088	Hemoglobin subunit beta-1	4470,87	0,95
P21550	Beta-enolase	366,08	0,94
Q9R0P3	S-formylglutathione hydrolase	377,43	0,94
Q8BMS1	Trifunctional enzyme subunit alpha_mitochondrial	592,76	0,93
P58252	Elongation factor 2	120,58	0,91
P35700	Peroxiredoxin-1	360,89	0,91
P70296	Phosphatidylethanolamine-binding protein 1	355,32	0,91
Q78JT3	3-hydroxyanthranilate 3_4-dioxygenase	220,37	0,90
P35505	Fumarylacetoacetase	752,06	0,90
Q8BWT1	3-ketoacyl-CoA thiolase_mitochondrial	1404,29	0,90
Q8VC77	Akr1c20 protein	58,75	0,90
Q9CZU0	Aldo-keto reductase family 1_member C20	58,75	0,90
C0HKE8	Histone H2A type 1-O	1296,61	0,89
E0CYR9	Aldo-keto reductase family 1_member C-like	58,75	0,88
P70694	Estradiol 17 beta-dehydrogenase 5	588,98	0,86
P32020	Non-specific lipid-transfer protein	206,7	0,86
Q99JY0	Trifunctional enzyme subunit beta_mitochondrial	510,78	0,86
Q8R1M2	Histone H2A.J	1296,61	0,84
P17182	Alpha-enolase	3296,59	0,84
Q91WU0	Carboxylesterase 1F	160,08	0,83
P01942	Hemoglobin subunit alpha	5277,91	0,83
C0HKE5	Histone H2A type 1-G	1296,61	0,82
Q91VB8	Alpha globin 1	5277,91	0,81
P26443	Glutamate dehydrogenase 1_mitochondrial	466,05	0,81
C0HKE6	Histone H2A type 1-I	1296,61	0,81

C0HKE7	Histone H2A type 1-N	1296,61	0,81
Q8CGP4	Histone H2A	1296,61	0,80
Q3THW5	Histone H2A.V	873,45	0,80
P10126	Elongation factor 1-alpha 1	320,53	0,79
P17156	Heat shock-related 70 kDa protein 2	131,87	0,79
Q64522	Histone H2A type 2-B	873,45	0,79
P0C0S6	Histone H2A.Z	873,45	0,79
P27661	Histone H2AX	873,45	0,79
P08228	Superoxide dismutase [Cu-Zn]	319,78	0,79
P62631	Elongation factor 1-alpha 2	73,55	0,79
Q61696	Heat shock 70 kDa protein 1A	131,87	0,79
Q64524	Histone H2B type 2-E	659,4	0,79
Q9D2U9	Histone H2B type 3-A	659,4	0,79
Q8CGP0	Histone H2B type 3-B	659,4	0,79
P17879	Heat shock 70 kDa protein 1B	131,87	0,78
C0HKE2	Histone H2A type 1-C	1296,61	0,78
C0HKE9	Histone H2A type 1-P	1296,61	0,78
Q64523	Histone H2A type 2-C	1296,61	0,78
Q8BFU2	Histone H2A type 3	1296,61	0,78
Q64475	Histone H2B type 1-B	716,16	0,78
Q6ZWY9	Histone H2B type 1-C/E/G	716,16	0,78
P10853	Histone H2B type 1-F/J/L	716,16	0,78
Q64478	Histone H2B type 1-H	716,16	0,78
Q8CGP2	Histone H2B type 1-P	716,16	0,78
Q64525	Histone H2B type 2-B	716,16	0,78
P16627	Heat shock 70 kDa protein 1-like	131,87	0,77
C0HKE1	Histone H2A type 1-B	1296,61	0,77
C0HKE4	Histone H2A type 1-E	1296,61	0,77
Q8CGP5	Histone H2A type 1-F	1296,61	0,77
Q8CGP6	Histone H2A type 1-H	1296,61	0,77
Q8CGP7	Histone H2A type 1-K	1296,61	0,77
Q6GSS7	Histone H2A type 2-A	1296,61	0,77
Q8CBB6	Histone H2B	716,16	0,77
Q8CGP1	Histone H2B type 1-K	716,16	0,77
P10854	Histone H2B type 1-M	716,16	0,77
A8DUK4	Beta-globin	3132,85	0,76
P08113	Endoplasmin	361,01	0,76
P16858	Glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase	7101,23	0,76
E9Q223	Hemoglobin_ beta adult s chain (Fragment)	3132,85	0,76
P02089	Hemoglobin subunit beta-2	2271,86	0,73
P62806	Histone H4	280,1	0,73
Q8BFZ3	Beta-actin-like protein 2	390,88	0,71
O08807	Peroxiredoxin-4	281,51	0,71
Q91VA0	Acyl-coenzyme A synthetase ACSM1_ mitochondrial	152,08	0,69
P31786	Acyl-CoA-binding protein	433,57	0,68
Q9CQ62	2_4-dienoyl-CoA reductase_ mitochondrial	406,28	0,67
P41216	Long-chain-fatty-acid--CoA ligase 1	398,06	0,67
P07724	Serum albumin	158,05	0,67
P02104	Hemoglobin subunit epsilon-Y2	2118,71	0,66
E9PZF0	Nucleoside diphosphate kinase	265,53	0,64
P15532	Nucleoside diphosphate kinase A	265,53	0,64
Q63836	Selenium-binding protein 2	424,89	0,64
P17563	Selenium-binding protein 1	432,63	0,63
Q8VCW8	Acyl-CoA synthetase family member 2_ mitochondrial	83,8	0,57

Q8VC73	Glutathione S-transferase pi 3	92,31	0,55
Q01768	Nucleoside diphosphate kinase B	265,53	0,55
Q64374	Regucalcin	513,16	0,54
P09411	Phosphoglycerate kinase 1	289,13	0,54
P52792	Glucokinase	856,33	0,53
P19157	Glutathione S-transferase P 1	1955,76	0,50
P46425	Glutathione S-transferase P 2	1013,14	0,39
P12710	Fatty acid-binding protein_ liver	4113,46	0,37
P16015	Carbonic anhydrase 3	1499,22	0,25

Proteínas identificadas estão organizadas de acordo com o *Ratio*. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados da Uniprot.

Tabela 19. Proteínas identificadas no fígado de camundongos diabéticos tratados com salina (DS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
Q99N15	17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 10/short chain L-3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase	196,73
A2AFQ2	3-hydroxyacyl-CoA dehydrogenase type-2	193,16
H3BJG8	3-ketoacyl-CoA thiolase A_ peroxisomal (Fragment)	125,9
Q8CAY6	Acetyl-CoA acetyltransferase_ cytosolic	258,81
Q80X81	Acetyl-Coenzyme A acetyltransferase 3	755,88
Q99KI0	Aconitate hydratase_ mitochondrial	119,08
P55264	Adenosine kinase	71,37
P48962	ADP/ATP translocase 1	81,26
P51881	ADP/ATP translocase 2	156,79
A2AS89	Agmatinase_ mitochondrial	569,25
G3UYH1	Aldehyde dehydrogenase X_ mitochondrial (Fragment)	14,2
Q6GQT1	Alpha-2-macroglobulin-P	27,43
Q99K67	Alpha-aminoadipic semialdehyde synthase_ mitochondrial	35,52
Q9Z0X1	Apoptosis-inducing factor 1_ mitochondrial	46,22
Q91YI0	Argininosuccinate lyase	1914,51
P05201	Aspartate aminotransferase_ cytoplasmic	1833,22
J3QPZ9	Beta-enolase (Fragment)	234,69
Q3V125	Coiled-coil domain-containing protein 110	22
A0A0A6YWX6	Cytochrome b-c1 complex subunit 1_ mitochondrial (Fragment)	176,32
M0QWX7	Cytochrome c oxidase subunit 4 isoform 1_ mitochondrial (Fragment)	199,76
Q64481	Cytochrome P450 3A16	37,61
Q80XN0	D-beta-hydroxybutyrate dehydrogenase_ mitochondrial	187,8
Q7TNG5	Echinoderm microtubule-associated protein-like 2	75,33
P42125	Enoyl-CoA delta isomerase 1_ mitochondrial	397,11
Q8BH95	Enoyl-CoA hydratase_ mitochondrial	690,72
Q91XD4	Formimidoyltransferase-cyclodeaminase	134,52
E9Q0T7	Fructose-1_6-bisphosphatase 1	331,5
P97807	Fumarate hydratase_ mitochondrial	207,77
P15105	Glutamine synthetase	265,96
Q8JZK9	Hydroxymethylglutaryl-CoA synthase_ cytoplasmic	66,15
A0A087WRS9	Isocitrate dehydrogenase [NADP] cytoplasmic (Fragment)	21,88
P51174	Long-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	147,39
Q8BG37	MCG48959	471,02

P45952	Medium-chain specific acyl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	125,33
P48377	MHC class II regulatory factor RFX1	23,23
P29758	Ornithine aminotransferase_ mitochondrial	2768,85
A0A0A6YXQ7	Peroxioredoxin-6	97,08
A2A848	Peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 1 (Fragment)	6,63
P51660	Peroxisomal multifunctional enzyme type 2	166,12
Q9Z2V4	Phosphoenolpyruvate carboxykinase_ cytosolic [GTP]	147,14
Q9DBJ1	Phosphoglycerate mutase 1	172,3
P61458	Pterin-4-alpha-carbinolamine dehydratase	128,69
A0A0U1RNT6	S-adenosylmethionine synthase	294,51
Q3THS6	S-adenosylmethionine synthase isoform type-2	305,89
Q8K2B3	Succinate dehydrogenase [ubiquinone] flavoprotein subunit_ mitochondrial	43,55
Q9Z2I8	Succinate--CoA ligase [GDP-forming] subunit beta_ mitochondrial	44,13
Q7TMM9	Tubulin beta-2A chain	157,79
Q9CWF2	Tubulin beta-2B chain	157,79
Q9ERD7	Tubulin beta-3 chain	193,82
Q9D6F9	Tubulin beta-4A chain	193,82
P68372	Tubulin beta-4B chain	193,82
P99024	Tubulin beta-5 chain	157,79
Q922F4	Tubulin beta-6 chain	206,1

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.

Tabela 20. Proteínas identificadas no fígado de camundongos normoglicêmicos tratados com salina (CS).

Número de acesso do Uniprot	Descrição da Proteína	Score
Q91WT7	3-alpha-hydroxysteroid dehydrogenase type 1	38,22
P14206	40S ribosomal protein SA	168,67
P99027	60S acidic ribosomal protein P2	290,69
Q91WG0	Acylcarnitine hydrolase	18,98
Q8K023	Aldo-keto reductase family 1 member C18	59,28
Q91WR5	Aldo-keto reductase family 1 member C21	38,22
Q3UEJ6	Alpha-1_4 glucan phosphorylase	106,23
F7D3P8	ATP synthase subunit O_ mitochondrial (Fragment)	107,3
Q63880	Carboxylesterase 3A	137,94
Q8VCU1	Carboxylesterase 3B	238,59
Q6PDB7	Carboxylic ester hydrolase	18,98
D3Z3I8	Elongation factor 1-alpha 1 (Fragment)	77,07
Q9ERK4	Exportin-2	83,39
Q60759	Glutaryl-CoA dehydrogenase_ mitochondrial	574,18
Q8CI94	Glycogen phosphorylase_ brain form	34,05
Q9ET01	Glycogen phosphorylase_ liver form	106,73
Q9WUB3	Glycogen phosphorylase_ muscle form	39,99
Q8R029	Histone H2A	64,21
P40936	Indolethylamine N-methyltransferase	134,48
A0A1B0GS79	L-lactate dehydrogenase A chain	54,84
Q9WVL0	Maleylacetoacetate isomerase	463,2
Q91VS7	Microsomal glutathione S-transferase 1	1346,15

P28665	Murinoglobulin-1	83,81
Q99LX0	Protein DJ-1	1034,02
Q8QZR3	Pyrethroid hydrolase Ces2a	185,79
O88451	Retinol dehydrogenase 7	136,32
P40142	Transketolase	99,55

As proteínas identificadas estão organizadas em ordem alfabética. A identificação é baseada no número de acesso da proteína do banco de dados do Uniprot.