

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 28/08/2020.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA**

**Thaigra de Sousa Soares Jardim**

**Análise dos parâmetros bioquímicos sob  
influência da hiperglicemia intraútero e da dieta  
hiperlipídica no período pós-natal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em: Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia (Área de concentração: Ciências da Saúde).

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno  
Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato

**Botucatu  
2019**

Thaigra de Sousa Soares Jardim

Análise dos parâmetros bioquímicos sob influência da hiperglicemia intraútero e da dieta hiperlipídica no período pós-natal.

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em: Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia (Área de concentração: Ciências da Saúde)

Orientadora: Profa. Dra. Débora Cristina Damasceno  
Coorientador: Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato

Botucatu  
2019

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Soares, Thaígra de Sousa.

Análise dos parâmetros bioquímicos sob influência da hiperglicemia intraútero e da dieta hiperlipídica no período pós-natal / Thaígra de Sousa Soares. - Botucatu, 2019

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu

Orientador: Débora Cristina Damasceno

Coorientador: Gustavo Tadeu Volpato

Capes: 40101150

1. Desenvolvimento fetal. 2. Dieta hiperlipídica. 3. Hiperglicemia. 4. Estresse oxidativo. 5. Lipídeos.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica; estresse oxidativo; hiperglicemia; perfil lipídico; programação fetal.

# *Dedicatória*

Aos meus pais, Matusalém Ribeiro Soares e Luci Antônia de Sousa Soares. Um pedreiro e uma dona de casa que tinham medo de não me “formarem”, hoje estou aqui por vocês e vocês conseguiram mais do que imaginavam: agora preparo-me para a defesa de doutorado. Confesso que a caminhada não foi fácil, por vezes foi longa e dolorosa, mas eu sempre tive vocês comigo, em nenhum momento vocês mediram esforços para que eu pudesse realizar meu sonho. Me ensinaram que eu era capaz (mesmo quando eu estava desacreditada), a não negligenciar os meus valores e meus ideais, por me darem a maior força nos meus projetos, por me ajudarem a alcançar as minhas metas, por me darem não apenas as mãos nos momentos mais difíceis, pelas palavras que muitas vezes não queria ouvir, mas que eu precisava. Pela confiança que em mim depositaram. Pelo amor incondicional, carinho e dedicação que recebi todos esses anos. Pelo apoio, por firmarem meus passos e não me deixarem desanimar. Vocês me ensinaram não o caminho mais curto, mas sim o certo, sempre me tornando o melhor que eu poderia ser. Vocês me levaram aos lugares onde não pude ir sozinha Obrigada por me ensinarem a ser a pessoa que sou hoje. Esse trabalho não seria possível sem vocês.

# *Agradecimentos*

Agradeço a Deus que é meu ajudador, meu Pai Celestial de quem eu sou plenamente dependente. Especialmente nesses últimos 4 anos pude sentir o Seu cuidado. Mesmo eu não merecendo me presenteou com a aprovação no doutorado, com um esposo segundo o Seu coração e o casamento dos sonhos, me agraciou com um lar, protegeu meus pais, sogros, cunhados, cunhadas, sobrinho e familiares como a menina dos Seus olhos, me permitiu passar por situações inimagináveis e me sustentou até superá-las, me guardou debaixo de Suas asas em todas as viagens, ouviu o meu choro enquanto estava só me sustentando em todo o momento, e quando pensei que era o fim me mostrou que Seus planos são imensamente maiores do que os meus, eu só não entendo, mas hoje, aceito e confio. Diversas foram as vezes que me senti impotente e fraca, então o Senhor me fortaleceu, porque dEle, para Ele e por meio dEle são todas as coisas e somente a Ele sejam a honra, a glória e o louvor para todo o sempre.

Ao meu esposo, Vinícius, de quem me orgulho e sou grata. Grata por ter você ao meu lado, caminhando comigo, isso já bastaria. Mas você foi além e diversas vezes se sacrificou por mim, teve paciência e me ensinou sobre paciência, renunciou estar junto, deixou seu trabalho e pegou férias para me acompanhar, deixou de fazer seu TCC para me ceder seu computador durante um ano inteiro, pelas vezes que mesmo sem entender ouviu as explicações do trabalho, minhas reclamações e choros, pelas orações e vezes que me abençoou, por ser servo e sacerdote do nosso lar. Muito obrigada pelo seu zelo, carinho e cuidado, por ter trilhado ao meu lado independente do caminho que escolhi, porque você escolheu sonhar os meus sonhos, eu te amo todos os dias.

Logan e Mel, meus filhos de quatro patas, que me recebem alegremente todas as vezes que chego em casa, deitam perto de mim durante os dias e noites de escrita, carinhosamente se aquietam quando fico triste, correm com “sorrisos” querendo brincar ou insistentemente pedem chamego quando estou ocupada

demais, embora não saibam ler ou falem como a gente, eles fazem parte dessa história.

À professora Débora que mesmo sem me conhecer decidiu orientar “as meninas do Gustavo”. Sei que o desafio foi grande: orientar à distância, experimento insistente em dar erro, às vezes dificuldade de comunicação, mas a admiração permanece pela sua integridade e honestidade, por abraçar e fazer o trabalho que ama, pelo seu conhecimento, esforço, por ser mulher, esposa, mãe, professora e orientadora. Nunca me esquecerei das coisas que me ensinou (e não foram poucas), do zelo em saber onde estava ficando, se estava comendo ou tinha roupa de frio. Muito obrigada por me apoiar quando passei no seletivo para professor, por entender minhas dificuldades e me ajudar a superar, com a senhora aprendi a me superar, fazer o meu melhor e a ser melhor.

Ao meu coorientador, amigo e padrinho, Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato, a quem muito admiro e tenho como exemplo, por todo o conhecimento compartilhado, pela dedicação, por ter me socorrido nas horas de desespero e, pela paciência que teve em todos os momentos, afinal já são quase 10 anos. Por ter me adotado e me ajudado a alcançar meus objetivos e me ensinado o que é ser pesquisador, cientista e “paifessor”.

Obrigada, Nágilla e Loyane, vocês sem sombra de dúvida foram os melhores presentes que a biomedicina me deu. Vocês foram meu braço esquerdo desde a graduação, nas disciplinas, estudos para provas, trabalhos, experimentos, entramos na graduação, mestrado e doutorado juntas e seguiremos juntas. Vocês são minhas amigas-irmãs com quem posso contar pra engordar ou emagrecer, para cesáreas ou discussão, para faxina ou festa no laboratório, para iniciarmos um novo projeto e sofrer na hora de escrever. Obrigada por esses 10 anos de amizade e pelos próximos que virão.

Rafa, a enfermeira mais biomédica que conheço hahaha. Muito obrigada pela companhia desde o nosso experimento de graduação, trabalhamos em conjunto nos nossos experimentos de mestrado, e agora no doutorado. Entramos juntas, e estamos vencendo. Nesses anos foram muitas viagens, trabalhos,

aprendizado, descobertas, e você ganhou um presentinho, um pacotinho de amor (Miguel), obrigada por toda a partilha desde artigos até o bolo de cenoura.

À Vêronyca de Paula Gonçalves, por ter mudado seus planos e decido a nos ajudar em um momento tão difícil e que tanto precisamos.

À Giovana Vesentini, pela dedicação, paciência, pelo tempo e ensinamentos.

À profa. Dra. Yuri Karen Sinzato, pela paciência que teve em me ensinar e guiar, por partilhar conhecimentos, pela amizade e pelo exemplo de cientista.

À minha família FISIOTOX (professores Gustavo Tadeu Volpato, Kleber Eduardo de Campos e Madileine F. Américo e todos os alunos), não poderei citar todos os nomes (muitos passaram por lá nesses quase 10 anos e muito me ensinaram), agradeço especialmente à Mariana Pirani, Larissa Lopes, Cristielly Barbosa, Vanessa Caruline, Maysa Souza e Ana Paula pelos cafés e bolos, pela companhia, amizade, incentivo e ajuda nas discussões, reuniões e experimentos.

Aos meus colegas e amigos do LAPGO, aos que já saíram e os que ainda permanecem, obrigada por me acolherem e permitir que eu fizesse parte também desta família.

Aos meus amigos Eduardo Kloppel, Carolina A. Miranda, Verônyca P. Gonçalves e Rosa Jacinto Volpato por me acolher, pela amizade e companheirismo.

À direção e coordenações da Escola Técnica Estadual de Barra do Garças (ETE-BG) pelo incentivo, credibilidade, confiança, dispensas, carinho, torcida e admiração. Aos colegas professores das mais diversas áreas (enfermeiros, farmacêuticos, odontólogos, contadores, administradores, engenheiros civis, arquitetos, inglês, português, agrônomos, veterinários) vocês me acolheram tão bem, me ensinaram tanto a: crescer, ser melhor, admirar, amar nossa profissão, compartilhar (lanche, conhecimento – didático, burocrático e de vida). Gratidão a vocês.

Aos alunos dos cursos técnicos em Análises Clínicas turmas 2016 e 2018 e Enfermagem 2018 pelo carinho, companheirismo, compreensão, ensinamentos, pelas memórias incríveis que vocês deixaram registradas em mim,



pelas tantas noites em que estivemos juntos, pelo conhecimento compartilhado e crescimento mútuo.

Aos Assistentes de Suporte Acadêmico (ASA) da Unidade de Pesquisa Experimental (UNIPEX) da Faculdade de Medicina de Botucatu, especialmente aos Srs. Danilo Chaguri, Carlos Roberto Gonçalves de Lima, José Márcio Cândido e Jurandir Antônio, pela manutenção dos biotérios, limpeza e cuidados com os animais.

À Faculdade de Medicina de Botucatu – Unesp, em especial ao Laboratório de Pesquisa Experimental de Ginecologia e Obstetrícia (LAPGO), por todos os recursos dispensados a mim.

Aos funcionários da Seção de Pós-graduação da Faculdade de Medicina de Botucatu, em particular à secretária do Programa de Pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia, Sra. Solange Sako Cagliari, obrigada por ser sempre solícita e pelos auxílios prestados.

Ao Escritório de Apoio à Pesquisa (EAP) da Faculdade de Medicina de Botucatu, Unesp, pelo serviço prestado. Em especial ao Prof. Dr. José Eduardo Corrente, pelos cálculos e análises estatísticas para os projetos que correram em paralelo a esta revisão sistemática.

À equipe da biblioteca da Unesp de Botucatu pela confecção da ficha catalográfica e outros auxílios realizados.

Às pessoas que contribuíram direta ou indiretamente, aos que me sustentaram em oração e torceram por mim.

Aos animais que participaram deste experimento, sem eles este trabalho não existiria.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

À FAPESP pelo financiamento da pesquisa.

## SUMÁRIO

<b>Capítulo 1.....</b>	<b>1</b>
Considerações Iniciais.....	2
Apresentação Científica.....	3
Graduação.....	3
Mestrado.....	4
Doutorado.....	6
<b>Capítulo 2.....</b>	<b>20</b>
Resumo.....	22
Introdução.....	23
Materiais e Métodos.....	25
Resultados.....	30
Discussão.....	34
Conclusão.....	37
Agradecimentos.....	37
Financiamento.....	37
Referências.....	38
Anexo 1.....	47
Anexo 2.....	48
Anexo 3.....	49
Anexo 4.....	50

# *Capítulo 1*

## CONSIDERAÇÕES INICIAIS

Este estudo faz parte de um projeto mais amplo intitulado “Avaliação de descendentes expostas ao diabetes moderado intrauterino, submetidas à dieta hiperlipídica no período pós-natal e tratadas com mistura de cálcio e vitamina D durante a prenhez” (Protocolo CEUA 1218/2017). Esse projeto tem financiamento da FAPESP (Processo número 2016/25207-5 com vigência 01/07/2018 a 30/06/2020).

No primeiro projeto elaborado como sendo o doutorado de Thaígra de S. Soares Jardim, a metodologia contemplava os estudos sobre perfil lipídico e estresse oxidativo referente os animais do projeto completo descrito acima. Para obtenção de filhas de diabéticas (FDmod) com idade adulta, são necessários pelo menos 180 dias (meio ano). Ao longo deste experimento, foi observado que as ratas FDmod apresentaram dificuldades para acasalamento, o que retardou o tratamento desses animais, bem como o experimento como um todo. Após o segundo ano de tentativas frustradas para obtenção de ratas prenhes, advindas de ambiente intrauterina hiperglicêmico e alimentadas com dieta hiperlipídica, a aluna obteve uma pequena amostragem de animais prenhes. Estes animais foram tratados, mas durante o experimento, todos os animais prenhes e não-prenhes foram a óbito em virtude de uma contaminação bacteriana, confirmada por exames específicos realizados no Laboratório Clínico do Hospital Veterinário da FMVZ – Unesp. Desta forma, a aluna precisou reiniciar todo o experimento para obtenção de todos os grupos experimentais. No entanto, para apresentação desta tese (Capítulo 2) constam apenas os dados de animais não-prenhes. Os resultados sobre prenhez e tratamento com vitamina D e/ou cálcio continuam em andamento e estarão sob a responsabilidade desta aluna e de outras estudantes envolvidas no projeto completo para que sejam tabulados, analisados, discutidos e, posteriormente, publicados em revista de âmbito internacional.

## APRESENTAÇÃO CIENTÍFICA

### GRADUAÇÃO

Ingressei no curso de Biomedicina da Universidade Federal de Mato Grosso (UFMT) do Campus Universitário do Araguaia (CUA) em 2009. A opção pelo curso foi algo subjetivo em função do gosto pela disciplina de Biologia no ensino médio. Embora inicialmente eu quisesse cursar Medicina (talvez pelo bom retorno financeiro), no decorrer do curso as possibilidades e a riqueza do campo profissional foram aparecendo na medida que adquiria gosto pelo estudo. Neste sentido, foi decisiva a ação do professor Dr. Gustavo Tadeu Volpato, que ao final da disciplina de Histologia e Embriologia se dispôs a me orientar para realização de pesquisa de iniciação científica.

Durante a graduação, tive a oportunidade de participar do Projeto de Extensão Pró Saúde Universitária: conhecer para se proteger sob orientação da professora Lucélia Campelo de Albuquerque Moraes, realizar duas pesquisas de iniciação científica e a monografia para conclusão de curso, além de participar de diversos eventos científicos, apresentando trabalhos.

#### *Iniciação científica e monografia:*

1- Repercussões materno-fetais de ratas tratadas com *Himatanthus sucuuba* do dia 0 ao 14o. da prenhez (Auxílio Pesquisa financiado pela FAPEMAT e Projeto Universal CNPq (Processo No. 453362/2009 sob a coordenação do Prof. Dr. Gustavo T. Volpato). Este trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do extrato de *Himatanthus sucuuba*, administrado durante o período de pré-implantação e de organogênese, sobre parâmetros maternos e fetais de ratas. Com este projeto, tive minha primeira bolsa de Iniciação Científica (PIBIC) sob orientação do Prof. Gustavo T. Volpato.

2- Avaliação de ratos diabéticos tratados com extrato aquoso de folhas de *Hancornia speciosa* (Projeto de Auxílio Pesquisa Universal financiado pelo CNPq - Processo No. 472378/2011-2, sob coordenação do Prof. Gustavo T. Volpato). Este trabalho teve como objetivo avaliar o efeito hipoglicemiante de

*Hancornia speciosa* em ratas com diabetes induzido por *Streptozotocin*. Este projeto proporcionou minha segunda bolsa de Iniciação Científica (PIBIC), também sob orientação do Prof. Gustavo T. Volpato.

3- Estudo dos efeitos abortivos e teratogênicos do tratamento de ratas prenhes com *Croton urucurana* (sangue-de-dragão). Este trabalho visou avaliar os efeitos do extrato de *Croton urucurana* (sangue-de-dragão), administrado durante a prenhez, sobre parâmetros maternos e fetais de ratas. Este projeto constituiu meu trabalho de conclusão de curso no formato de uma Monografia para conclusão do Curso de Biomedicina na UFMT, sob orientação do Prof. Gustavo T. Volpato.

***Eventos científicos:***

1- Efeitos do extrato hidroalcoólico de *Himatanthus sucuuba* na prenhez de ratas Wistar: repercussões maternas. 14º Encontro Nacional de Biomedicina, 2011, Botucatu - SP.

2- Efeitos do extrato hidroalcoólico de *Himatanthus sucuuba* na prenhez de ratas Wistar: repercussões maternas. X Workshop de Plantas Mediciniais, 2012, Botucatu - SP.

3- Efeitos do extrato hidroalcoólico de *Himatanthus sucuuba* na prenhez de ratas Wistar: repercussões fetais. X Workshop de Plantas Mediciniais, 2012, Botucatu - SP.

## **MESTRADO**

O ingresso no Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da UFMT/CUA (Nível: Mestrado), sob orientação do Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato, foi decorrente da produtividade advinda das pesquisas realizadas durante minha Graduação em função dos estágios de Iniciação Científica. A dissertação teve por título “Efeitos do exercício físico em ratas com diabéticas moderado: Repercussões maternas, imunológicas e fetais” (Auxílio Pesquisa FAPEMAT e Projeto Universal do CNPq - Processo No. 160425/2014 sob

coordenação do Prof. Dr. Gustavo T. Volpato). Além da dissertação, pude contribuir em diversos outros projetos que estão em andamento no Laboratório de Fisiologia de Sistemas e Toxicologia Reprodutiva (FisioTox), bem como participar e apresentar trabalhos em eventos científicos como: 1) Perfil bioquímico do tratamento do extrato de *Hancornia speciosa* em ratas diabéticas. XXIII Simpósio de Plantas Medicinais do Brasil, 2014, Goiânia - GO; 2) Efeitos do extrato de *Croton urucurana* na prenhez de ratas Wistar: Repercussões maternas. I Congresso de Biomedicina do Araguaia, 2014, Barra do Garças - MT.

Além disso, neste período, participei da organização do Curso de Extensão “Tópicos teórico-prático de Fisiologia e Toxicologia Reprodutiva” em 2014 e coorientei o aluno Iuri Francisco Júnior no Trabalho de Conclusão de Curso (TCC) para obtenção de seu título na graduação em Biomedicina/UFMT com projeto intitulado “Efeito da obesidade transgeracional no desempenho materno e na frequência de anomalias fetais”. Neste período, também participei como membro de diversas bancas de TCC e ministrei aulas para o Curso de Graduação na disciplina de Estágio Docência como convidada.

Tive trabalhos premiados trabalhos em eventos científicos:

1- Menção Honrosa ao trabalho: "Avaliação de ratos diabéticos tratados com extrato aquoso de folhas de *Hancornia speciosa*.", I Congresso de Biomedicina do Araguaia em 2014.

2- Menção Honrosa ao trabalho: "Efeitos do extrato de *Croton urucurana* na prenhez de ratas Wistar: Repercussões maternas.", I Congresso de Biomedicina do Araguaia em 2014.

O término de minha Dissertação se deu no dia 18 de fevereiro de 2015.

## **DOUTORADO**

Em março de 2015, iniciei o Doutorado no programa de Pós-graduação em Ginecologia, Obstetrícia e Mastologia (PGGOM), Faculdade de Medicina de Botucatu (FMB), da Universidade Estadual Paulista (UNESP) “Júlio de Mesquita Filho”, sob a orientação da Profa. Dra. Débora C Damasceno e coorientação do Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato.

Durante o Doutorado, desenvolvi parte do projeto em Botucatu e outra parte na UFMT. Além das atividades teórico-práticas relacionadas ao projeto do Doutorado, participei das disciplinas do PGGOM e seminários dos laboratórios, ministrei aulas, participei e apresentei trabalhos em eventos científicos nacionais e internacionais com recebimento de prêmios, desenvolvi e redigi outros projetos e trabalhos de pesquisa junto alunos de ambos os laboratórios (UNESP e da UFMT) e fui convidada para participar em bancas de TCC da UFMT.

Abaixo, seguem os artigos publicados e atividades desenvolvidas no decorrer do Doutorado:



## Artigos publicados:

- 1- **Soares, T.,** Carmo, N. O. L., Gama, L. A., Moraes-Souza, R. Q., Resende, N. M. Cisticercose, uma doença negligenciada, mas não esquecida: uma revisão. Revista Panorâmica online, v. 19, 2015.



Revista Panorâmica On-Line. Barra do Garças – MT, vol. 19,  
p. 132 - 147, ago./dez. 2015. ISSN - 2238-921-0

### CISTICERCOSE, UMA DOENÇA NEGLIGENCIADA, MAS NÃO ESQUECIDA: uma revisão

Thaígra de Sousa Soares<sup>1</sup>  
Nágilla Orleanne Lima do Carmo<sup>2</sup>  
Rafaelanne Queiroz de Moraes Souza<sup>3</sup>  
Loyane Almeida Gama<sup>4</sup>  
Nathália Maria Rezende<sup>5</sup>

#### Resumo:

A cisticercose ainda hoje é um grande problema de saúde pública em muitas partes do mundo em desenvolvimento. A doença ocorre quando os seres humanos se tornam hospedeiros intermediários de *Taenia solium* por ingestão de água ou alimentos contaminados e auto-infecção. É um problema de saúde pública em várias partes do mundo, como China, sudeste asiático, Índia, África subsaariana e América Latina, incluindo o Brasil. Os fatores que contribuem para essa endemia incluem má higiene pessoal e precariedade no saneamento das moradias e no saneamento público. O objetivo do presente trabalho foi realizar uma revisão sistemática sobre a cisticercose a fim de determinar medidas profiláticas e de controle desta endemia. Os cisticercos podem ser encontrados comumente no sistema nervoso central, olho, tecidos subcutâneos, músculo, boca, pulmão e mais raramente coração e ossos, sendo a neurocisticercose a forma mais frequente e endêmica da doença. Nesse caso, os cisticercos podem ser localizados no parênquima cerebral, espaço subaracnóide, sistema ventricular e medula espinal. Atualmente há diversas ferramentas de diagnóstico, como exames radiológicos, sorologia e detecção imunológica, mas o padrão ouro continua sendo demonstração da presença de larva parasitária no tecido. Após o diagnóstico, a abordagem terapêutica a ser adotada depende do estágio dos cistos e inclui desde as drogas usuais (praziquantel e albendazol) as novas drogas (como EpiBr), desenvolvimento de vacinas e até procedimentos cirúrgicos. Embora o tratamento seja eficaz, a profilaxia é a única forma de erradicar a doença, a qual envolve saneamento, desenvolvimento sócio-econômico-cultural, fiscalização e controle de migração.

#### Palavras-chave:

Cisticercose. Neurocisticercose. *T. solium*. Parasito.

### CYSTICERCOSIS, NEGLECTED DISEASE BUT NOT FORGOTTEN:

<sup>1</sup> Mestrado em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: [thai@prosussoares@hotmail.com](mailto:thai@prosussoares@hotmail.com)

<sup>2</sup> Mestrado em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: [nagillaorleanne@hotmail.com](mailto:nagillaorleanne@hotmail.com)

<sup>3</sup> Mestrado em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: [rafaelannequeiroz@hotmail.com](mailto:rafaelannequeiroz@hotmail.com)

<sup>4</sup> Mestrado em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: [loyane\\_almeida@hotmail.com](mailto:loyane_almeida@hotmail.com)

<sup>5</sup> Mestrado em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. Universidade Federal de Mato Grosso. E-mail: [nathy\\_rezende@yahoo.com.br](mailto:nathy_rezende@yahoo.com.br)

- 2- **de Sousa Soares, T., Damasceno, D. C., Kempinas, W. D. G., Resende, F. M. C., Correa dos Santos, M. A., Hiruma-Lima, C. A., & Volpato, G. T. (2015). Effect of *Himatanthus sucuuba* in maternal reproductive outcome and fetal anomaly frequency in rats. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 104(5), 190-195.**

© 2015 Wiley Periodicals, Inc.

Birth Defects Research (Part B) 104:190–195 (2015)

### Research Article

## Effect of *Himatanthus sucuuba* in Maternal Reproductive Outcome and Fetal Anomaly Frequency in Rats

Thaígra de Sousa Soares,<sup>1</sup> Débora Cristina Damasceno,<sup>2</sup> Wilma De Grava Kempinas,<sup>3</sup> Flávia Mayara Campos Resende,<sup>1</sup> Maria Aparecida Correa dos Santos,<sup>4</sup> Clélia Akiko Hiruma-Lima,<sup>5</sup> and Gustavo Tadeu Volpato<sup>1,2\*</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of System Physiology and Reproductive Toxicology, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Mato Grosso (UFMT), Barra do Garças, Mato Grosso State, Brazil

<sup>2</sup>Laboratory of Experimental Research on Gynecology and Obstetrics, Department of Gynecology and Obstetrics, Univ Estadual Paulista\_Unesp, Botucatu, São Paulo State, Brazil

<sup>3</sup>Department of Morphology, Institute of Biosciences of Botucatu, Univ Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, São Paulo State, Brazil

<sup>4</sup>Instituto Estadual de Pesquisa do Arapá (IEPA), Arapá State, Brazil

<sup>5</sup>Department of Physiology, Institute of Biosciences of Botucatu, Univ Estadual Paulista (Unesp), Botucatu, São Paulo State, Brazil

The aim of this study was to evaluate the effect of *Himatanthus sucuuba* on the maternal reproductive outcome and fetal anomaly incidence in rats. Pregnant rats were randomly divided into three experimental groups as follows: Control = treated with water (vehicle), treated 250 = treated with *H. sucuuba* at dose 250 mg/kg, and treated 500 = treated with *H. sucuuba* at dose 500 mg/kg. The rats were orally treated, by gavage, with *H. sucuuba* or vehicle (water) during preimplantation and organogenic period (from gestational day 0–14). At day 21 of pregnancy, all rats were killed to obtain maternal–fetal data. The treatment with *H. sucuuba* at dose of 250 mg/kg caused reduction in placental efficiency and an increase preimplantation loss rate and placenta weight compared with the control. The treated 500 group presented a significant decrease in maternal weight gain, maternal weight gain minus gravid uterus weight, fetal weight, and placental efficiency compared with the control. In this group, there was a decrease in body weight at day 20 of pregnancy and metacarpus ossification and an increase in the preimplantation loss rate and skeletal anomalies compared with other groups. *Himatanthus sucuuba* extract caused intrauterine growth restriction, preimplantation loss, and developmental delay in the high doses tested. *Birth Defects Res (Part B)* 104:190–195, 2015. © 2015 Wiley Periodicals, Inc.

**Key words:** *Himatanthus sucuuba*; pregnancy; reproductive outcome; malformation; rats

### INTRODUCTION

In traditional medicine, women are the most frequent users of herbal medicines (Hall et al., 2011). Herbal medicines are used by women to treat many reproductive health problems, such as menstrual problems, infertility, and discomforts and dysfunctions of pregnancy, labor, and menopause (Kennedy et al., 2013). These plants are consumed mostly based on personal experience or traditional knowledge, and in most cases, it is unclear how safe their use is during pregnancy (Ollace et al., 2014).

*Himatanthus sucuuba* (Spruce) Woodson is an arbustive plant belonging to the Apocynaceae family, which grows in the Amazon regions of Colombia, Peru, and Brazil. This plant is also known as “janaguba,” “sucuba,” “sucuuba,” and “Bellaco-Caspi” (Villegas et al., 1997; De

Miranda et al., 2000; Silva et al., 2007). Latex and stem bark of *H. sucuuba* consist of triterpenes, α-amyrin, and lupool esters in addition to the iridoids, plumericin, and isoplumericin in chemical studies (De Miranda et al., 2000; Wood et al., 2001). It has been used in folk medicine as vermifuge, antitumoral, antifungal, analgesic, antitumor, and antiarrhythmic drug (Ellsabecky and Castilhos, 1990; Villegas et al., 1997; Silva et al., 2007). Studies reported

\*Correspondence to: Gustavo Tadeu Volpato, Laboratório PatóTox, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde—UFMT, Av. Valdeon Vargas, 6150, 78600-000, Barra do Garças, Mato Grosso, Brazil. E-mail: gvolpato@ufmt.com

Grant sponsor: FAPMAT/UFMT; Grant number: 451362/2009.

Received 12 June 2015; Accepted 09 August 2015

Published online in Wiley Online Library (wileyonlinelibrary.com/journal/bdr) DOI: 10.1002/bdrb.21152

- 3- Moraes-Souza, R. Q., Reinaque, A. P., Soares, T. S., Silva, A. L. T., Giunchetti, R. C., Takano, M. A., et al., (2017). Safety evaluation of a vaccine: Effect in maternal reproductive outcome and fetal anomaly frequency in rats using a leishmanial vaccine as a model. *PloS one*, 12(3), e0172525.



## RESEARCH ARTICLE

## Safety evaluation of a vaccine: Effect in maternal reproductive outcome and fetal anomaly frequency in rats using a leishmanial vaccine as a model

Rafaelle Q. Moraes-Souza<sup>1\*</sup>, Ana Paula Reinaque<sup>2\*</sup>, Thaígra S. Soares<sup>1</sup>, Ana Luiza T. Silva<sup>2</sup>, Rodolfo C. Giunchetti<sup>2</sup>, Maria A. S. Takano<sup>4</sup>, Milena A. Akamatsu<sup>4</sup>, Flávia S. Kubrusly<sup>4</sup>, Fernanda Lúcio-Macarin<sup>4</sup>, Isaias Rêa<sup>4</sup>, Dmitri Iourtov<sup>4</sup>, Paulo Lee Ho<sup>4</sup>, Lillian L. Bueno<sup>2</sup>, Ricardo T. Fujihara<sup>2</sup>, Gustavo T. Volpato<sup>1\*</sup>

**1** Laboratory of System Physiology and Reproductive Toxicology, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Mato Grosso (UFMT) - Barra do Garças, Mato Grosso State, Brazil, **2** Laboratory of Immunology and Genomics of Parasites, Department of Parasitology, Biological Sciences Institute, Federal University of Minas Gerais (UFMG) Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil, **3** Laboratory of Cell-Cell Interactions, Morphology Department, Institute of Biological Science, Federal University of Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais, Brazil, **4** Division of Technological Development and Production (DDTP), Butantan Institute, São Paulo, Brazil

\* These authors contributed equally to this work.

\* [rqsouza@ufmt.br](mailto:rqsouza@ufmt.br)



## OPEN ACCESS

**Citation:** Moraes-Souza RQ, Reinaque AP, Soares TS, Silva ALT, Giunchetti RC, Takano MAS, et al. (2017) Safety evaluation of a vaccine: Effect in maternal reproductive outcome and fetal anomaly frequency in rats using a leishmanial vaccine as a model. *PLoS ONE* 12(3): e0172525. doi:10.1371/journal.pone.0172525

**Editor:** Henk D. F. H. Schallig, Academic Medical Centre, NETHERLANDS

**Received:** August 26, 2016

**Accepted:** February 6, 2017

**Published:** March 1, 2017

**Copyright:** © 2017 Moraes-Souza et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper and its Supporting Information files.

**Funding:** This work was supported by: Rafaelle Q. Moraes-Souza received CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) scholarship; Ana Paula Reinaque received CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior) - DIATER allowance; part of this study was supported by grants from FAPEMIG

### Abstract

While the immunogenic potential of the vaccination against infectious diseases was extensively shown, data on the safety assessment of recombinant proteins in vaccine formulations administered during pregnancy are still scarce. In the current study, the antigenicity of a vaccine against leishmaniasis (based on *Leishmania braziliensis* recombinant protein peroxidoxin) during pregnancy and possible maternal reproductive outcomes and fetal anomalies after immunization with a leishmanial vaccine or adjuvant alone (*Bordetella pertussis* derived MPLA adjuvant) were assessed. Rats were mated and allocated in three groups: **Control**—rats received saline; **Adjuvant**—rats received the adjuvant MPLA, and **Vaccine**—rats received the combination of MPLA and peroxidoxin. The administration was subcutaneously at the dorsal region, three times (days 0, 7, 14 of pregnancy). On day 21 of pregnancy, all rats were bled for biochemical and immunological measurements. The gravid uterus was weighed with its contents, and the fetuses were analyzed. The immunization with peroxidoxin induced a significant production of circulating IgG levels compared to other groups but caused a significant in post-implantation loss (14.7%) when compared to Control (5.0%) and Adjuvant (4.4%) groups. Furthermore, a significantly high rate of fetal visceral anomalies, such as hydronephrosis and convoluted ureter, was also observed in animals that received vaccine when compared to Control or Adjuvant groups. These data indicate the importance of safety evaluation of vaccines during pregnancy and the limited use of peroxidoxin administration during pregnancy. More importantly, the safety monitoring of immunization with MPLA derived from *Bordetella*

- 4- Afiune, L. A. F., Leal-Silva, T., Sinzato, Y. K., Moraes-Souza, R. Q., Soares, T. S., Campos, K. E., et al., (2017). Beneficial effects of *Hibiscus rosa-sinensis* L. flower aqueous extract in pregnant rats with diabetes. PLoS one, 12(6), e0179785.



## RESEARCH ARTICLE

## Beneficial effects of *Hibiscus rosa-sinensis* L. flower aqueous extract in pregnant rats with diabetes

Luana Alves Freitas Afiune<sup>1</sup>, Thaís Leal-Silva<sup>1</sup>, Yuri Karen Sinzato<sup>2</sup>, Rafalienne Quairoz Moraes-Souza<sup>1,2</sup>, Thaígra Sousa Soares<sup>1,2</sup>, Kleber Eduardo Campos<sup>1</sup>, Ricardo Toshio Fujiwara<sup>3</sup>, Emilio Herrera<sup>4</sup>, Débora Cristina Damasceno<sup>2</sup>, Gustavo Tadeu Volpato<sup>1,2\*</sup>

**1** Laboratory of System Physiology and Reproductive Toxicology, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Mato Grosso (UFMT), Barra do Garças, Mato Grosso State, Brazil, **2** Gynecology, Obstetrics and Maternity Graduate Course, Laboratory of Experimental Research on Gynecology and Obstetrics, Botucatu Medical School, Univ Estadual Paulista, Unesp, Botucatu, São Paulo State, Brazil, **3** Department of Parasitology, Institute of Biological Sciences, Federal University of Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, Minas Gerais State, Brazil, **4** Department of Biochemistry and Molecular Biology, University CEU San Pablo, Madrid, Spain

\* [gvolpato@yahoo.com](mailto:gvolpato@yahoo.com)



### OPEN ACCESS

**Citation:** Afiune LAF, Leal-Silva T, Sinzato YK, Moraes-Souza RQ, Soares TS, Campos KE, et al. (2017) Beneficial effects of *Hibiscus rosa-sinensis* L. flower aqueous extract in pregnant rats with diabetes. PLoS ONE 12(6): e0179785. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0179785>

**Editor:** Ying-Ju Lin, China Medical University, TAIWAN

**Received:** February 24, 2017

**Accepted:** June 4, 2017

**Published:** June 23, 2017

**Copyright:** © 2017 Afiune et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

**Data Availability Statement:** All relevant data are within the paper.

**Funding:** Ricardo T. Fujiwara and Débora C. Damasceno received support from Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico.

**Competing interests:** The authors have declared that no competing interests exist.

### Abstract

#### Purpose

The *Hibiscus rosa-sinensis* flower is widely used in Brazilian traditional medicine for the treatment of diabetes and has shown antifertility activity in female Wistar rats. However, there is no scientific confirmation of its effect on diabetes and pregnancy. The aim of this study was evaluate the effect of aqueous extract of *H. rosa-sinensis* flowers on maternal-fetal outcome in pregnant rats with diabetes.

#### Methods

Diabetes was induced by streptozotocin (STZ, 40 mg/kg) in virgin, adult, female Wistar rats. After diabetes induction, the rats were mated. The pregnant rats were distributed into four groups (n minimum = 11 animals/group): non-diabetic, non-diabetic treated, diabetic, and diabetic treated. Oral aqueous extract of *Hibiscus rosa-sinensis* was administered to rats in the treatment groups during pregnancy. At term pregnancy, maternal reproductive outcomes, fetal parameters, and biochemical parameters were analyzed.

#### Results

The non-diabetic treated group showed decreased high density lipoprotein cholesterol, increased atherogenic index (AI) and coronary artery risk index (CRI), and increased preimplantation loss rate compared to the non-diabetic group. Although treatment with *H. rosa-sinensis* led to no toxicity, it showed deleterious effects on cardiac and reproductive functions. However, the diabetic treated group showed increased maternal and fetal weights,

- 5- Moraes-Souza, R. Q., Soares, T. S., Carmo, N. O. L., Damasceno, D. C., Campos, K. E., & Volpato, G. T. (2017). Adverse effects of *Croton urucurana* B. exposure during rat pregnancy. *Journal of ethnopharmacology*, 199, 328-333.



## 1. Introduction

Medicinal plants have been widely used to treat a variety of diseases. However, the use of these plants during pregnancy may present health risks to the woman and also to her fetus (Mazzoni et al., 2014). Certain herbs, used as abortifacients can induce embryotoxicity, fetotoxicity and/or teratogenicity when embryonic death does not occur. *Croton urucurana* Bailon, popularly known as dragão blood, blood water, capixingui, urucurana, lacurama, tapixingui and tapixingui, is considered an abortive plant (Gargal et al., 2002). *Croton* is a large and diverse genus of Euphorbiaceae that comprises at least 800 species of the tropics and subtropics (Webster, 1993). *C. urucurana* is widespread in wetlands and riparian areas and is commonly found in southern Brazil, northern Argentina, Paraguay and Uruguay. The *C. urucurana* tree has an open canopy and bright stem, and reaches up to 15 m (Raberti et al., 2014).

The indigenous culture believe that *C. urucurana* shows remarkable healing properties. This plant has been extensively used in folk medicine for treatment of cancer, rheumatism, lesions, ulcers, diarrhea infections (Rao et al., 2007). Three different products from *C. urucurana* species are primarily used – the red sap or latex, stem bark and the gum exudate (Silveira et al., 2007). In male rats, Emeraldino et al. (2005) found that the stem bark of *C. urucurana* aqueous extract showed anti-hemorrhagic activity. Also in male rats, was observed an anti-diarrheal response after treatment with 600 mg/kg of *C. urucurana* latex (Gargal et al., 2001), and antifungal activity against five different dermatophytes when using *C. urucurana* sap in an in vitro study (Gargal et al., 2005). Cardoso et al. (2012), testing the acute toxicity of this plant, demonstrated that a single dose of 2000 mg/kg of *C. urucurana* bark methanol extract produced no toxicity signs in female rats, whereas doses of 50, 100 and 250 mg/kg caused reduced gastric lesions in male rats. In 2016, these same

\* Corresponding author at: Laboratório FitoTox, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde – USPMT, Av. Yáquina Vazão, 6396, 76600-900, Barra do Garças, Mato Grosso, Brazil. E-mail address: gtv@uspmt.br (G.T. Volpato).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.jep.2016.05.064>

Received 6 July 2016; Received in revised form 27 October 2016; Accepted 19 October 2016

Available online 20 October 2016

0378-8741/© 2016 Elsevier Ireland Ltd. All rights reserved.

- 6- Tadeu Volpato, G., Queiroz Moraes-Souza, R., **Sousa Soares, T.**, Leal-Silva, T., & Cristina Damasceno, D. (2017). Medicinal plants for diabetes treatment during pregnancy. *Current medicinal chemistry*, 24(4), 404-410.



## REVIEW ARTICLE

## Medicinal Plants for Diabetes Treatment During Pregnancy



Gustavo Tadeu Volpato<sup>ab,\*</sup>, Rafaienne Queiroz Moraes-Souza<sup>ab</sup>, Thaigra Sousa Soares<sup>ab</sup>,  
Thais Leal-Silva<sup>a</sup>, and Débora Cristina Damasceno<sup>b</sup>

<sup>a</sup>Laboratory of Systems Physiology and Reproductive Toxicology, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Mato Grosso, Barra do Garças, Mato Grosso, Brazil; <sup>b</sup>Laboratory of Experimental Research on Gynecology and Obstetrics, Botocatu Medical School, Univ Estadual Paulista Unesp, Botocatu, São Paulo State, Brazil

**Abstract:** Diabetes mellitus is a syndrome of great importance that affects an increasing number of people every day. In particular, diabetes is a common and important disease during pregnancy and is marked by complications, both fetal and maternal, that increase the risks of morbidity and mortality for diabetic pregnant women and their offspring. Drugs such as insulin and hypoglycemic drugs are given to treat diabetes, but regular exercise and adequate diet have also been indicated. Furthermore, coadjutant therapies such as medicinal plants are popularly used to reduce diabetes-induced hyperglycemia, either within or outside the context of pregnancy. However, studies examining plant use for diabetes treatment are necessary to confirm its possible effects and its safety for the mother and fetus. The objective of this literature review was to conduct a survey of plant species that are utilized worldwide and their stated therapeutic uses. A literature search was performed using the terms "diabetes and pregnancy", which resulted in the identification of 31,272 articles. Of these studies, only 12 (0.0038%) were related to medicinal plants, demonstrating that there has been little investigation into this issue. Of the papers analyzed in this review, half evaluated plant leaves, indicating that these scientific studies attempted to reproduce the preparations commonly used by various populations, i.e., in the form of tea. Additionally, more than 90% of studies utilized experimental animals to evaluate the maternal-fetal safety of medicinal plant substances that may potentially be dangerous for humans. Thus, once confidence levels for plant-derived substances are established based on toxicological analyses and safety is confirmed, it is possible that plants will be used to complement conventional diabetes therapies.

## ARTICLE HISTORY

Received: March 20, 2016

Revised: July 12, 2016

Accepted: July 22, 2016

DOI: 10.2174/09397001712500000000000000000000

27094

**Keywords:** Diabetes mellitus, pregnancy, medicinal plants, herbs, treatment, review.

## 1. DIABETES BY THE NUMBERS

*Diabetes mellitus* is a complex and chronic disease that requires continuous medical care to reduce blood glucose and multifactorial risks. It presents multiple etiologies characterized by the chronic elevation of fasting and/or post-prandial glucose due to absolute or relative defects in insulin synthesis or decreased effects of insulin [1, 2].

Diabetes is a crucially important syndrome that is becoming the epidemic of the century. Globally, an estimated 422 million adults were living with diabetes in 2014, compared to 108 million in 1980. The global prevalence (age-standardized) of diabetes has nearly doubled since 1980, rising from 4.7% to 8.5% in the adult population [3]. In the Americas, the number of individuals with diabetes was estimated at 35 million in 2000 and projected to be 64 million in 2025 [4]. However, as of 2011, that number reached 62.8 million and is expected to reach 91.1 million in 2030 [5]. Diabetes is among the ten major causes of death in Western countries, and despite progress in clinical management, its lethal consequences still cannot be prevented. In

\*Address correspondence to this author at the Laboratory of Systems Physiology and Reproductive Toxicology, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Mato Grosso, 78.600-000, Barra do Garças, Mato Grosso State, Brazil  
Tel/Fax: +55-66-3401-5458; E-mail: [gvolpato@yahoo.com](mailto:gvolpato@yahoo.com)

- 7- Pinheiro, M. S., Rodrigues, L. S., Neto, L. S., Moraes-Souza, R. Q., Soares, T. S., Américo, M. F., et al., (2017). Effect of *Bauhinia holophylla* treatment in Streptozotocin-induced diabetic rats. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 89(1), 263-272.



Anais da Academia Brasileira de Ciências (2017) 89(1): 263-272  
(Annals of the Brazilian Academy of Sciences)  
Printed version ISSN 0001-3765 / Online version ISSN 1678-2690  
<http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720160000>  
[www.scielo.br/abc](http://www.scielo.br/abc)

### Effect of *Bauhinia holophylla* treatment in Streptozotocin-induced diabetic rats

MARCELO S. PINHEIRO<sup>3</sup>, LUHARA S. RODRIGUES<sup>2</sup>, LEILA S. NETO<sup>1</sup>, RAFAELIANE Q. MORAES-SOUZA<sup>1</sup>, THAIGRA S. SOARES<sup>1</sup>, MADILEINE F. AMÉRICO<sup>2</sup>, KLEBER E. CAMPOS<sup>1</sup>, DÉBORA C. DAMASCENO<sup>2</sup> and GUSTAVO T. VOLPATO<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratório de Fisiologia de Sistemas e Toxicologia Reprodutiva, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Mato Grosso/ UFMT, Av. Várzea Velha, 6590, 79000-000 Barra do Garças, MT, Brazil

<sup>2</sup>Laboratório de Pesquisa Experimental de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" - UNESP, Distrito de Rubião Jr, s/n, 13618-970 Botucatu, SP, Brazil

Manuscript received on January 27, 2016; accepted for publication on November 28, 2016

#### ABSTRACT

*Bauhinia holophylla*, commonly known as "cow's hoof", is widely used in Brazilian folk medicine for the diabetes treatment. Therefore, the aim of this study was at evaluating the aqueous extract effect of *Bauhinia holophylla* leaves treatment on the streptozotocin-induced diabetic rats. Diabetes was induced by Streptozotocin (40 mg/Kg) in female Wistar rats. Oral administration of aqueous extract of *Bauhinia holophylla* leaves was given to non-diabetic and diabetic rats at a dose of 400 mg/kg during 21 days. On day 17 of treatment, the Oral Glucose Tolerance Test was performed to determine the area under the curve. At the end of the treatment, the animals were anesthetized and blood was collected for serum biochemical parameters analysis. After treatment with *Bauhinia holophylla* extract, non-diabetic and diabetic rats presented no glycemic changes. On the other hand, the plant treatment decreased body weight and increased ALT and AST activities. In conclusion, the treatment with aqueous extract of *B. holophylla* leaves given to diabetic rats presented no hypoglycemic effect in nondiabetic animals and no antidiabetic effect in diabetic animals with the doses studied. In addition, the diabetic animals treated with the *B. holophylla* extract showed inconvenient effects and its indiscriminate consumption requires particular carefulness.

**Key words:** *Bauhinia holophylla*, diabetes, lipid profile, medicinal plants, rats.

#### INTRODUCTION

Diabetes mellitus is the name given to a group of disorders with different etiologies. It is characterized by disarrangements in carbohydrates, proteins and fat metabolism caused by complete or partial insufficiency of insulin secretion and/or insulin action (ADA 2016, Reece et al. 2004).

Several drugs are used to control diabetes, however, perfect glucose control is rarely achieved

(Cooppan 2005). Moreover, plants have been used as an alternative therapy for the diabetes treatment. Many plants present hypoglycemic activity, which were demonstrated experimentally in animals and humans, but some still require further investigation (Volpato et al. 2002, Damasceno and Volpato 2008). Although several plants were tested for diabetes treatment, many of them were not evaluated, including species of the genus *Bauhinia*, popularly known as "cow's hoof" (Lorenzi and Matos 2002). These species typically present a wide distribution

Correspondence to: Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato  
E-mail: [gvolpato@yahoo.com](mailto:gvolpato@yahoo.com)

- 8- Justina, V. D., dos Passos Junior, R. R., Bressan, A. F., Tostes, R. C., Carneiro, F. S., Soares, T. S., et al., (2018). O-linked N-acetylglucosamine deposition in placental proteins varies according to maternal glycemic levels. *Life sciences*, 205, 18-25.



## O-linked N-acetylglucosamine deposition in placental proteins varies according to maternal glycemic levels

Vanessa Dela Justina<sup>a,b</sup>, Rinaldo R. dos Passos Junior<sup>b</sup>, Alexander F. Bressan<sup>b</sup>, Rita C. Tostes<sup>c</sup>, Fernando S. Carneiro<sup>c</sup>, Thaígra S. Soares<sup>c</sup>, Gustavo T. Volpato<sup>d</sup>, Victor Vitorino Lima<sup>e</sup>, Sebastian San Martín<sup>e</sup>, Fernanda R. Giachini<sup>a,b,\*</sup>

<sup>a</sup> Graduate Program in Biological Sciences, Federal University of Goiás, Goiânia, GO, Brazil

<sup>b</sup> Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Mato Grosso, Serra do Garças, MT, Brazil

<sup>c</sup> Department of Pharmacology, Ribeirão Preto Medical School, University of São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brazil

<sup>d</sup> Department of Gynecology and Obstetrics, School of Medicine of Ribeirão, São Paulo, SP, Brazil

<sup>e</sup> Biomedical Research Center School of Medicine, Universidad de Valparaíso, Valparaíso, Chile

### ARTICLE INFO

**Keywords:**  
O-GlcNAc  
Hyperglycemia  
Placental dysfunction

### ABSTRACT

**Aims:** Hyperglycemia increases glycosylation with O-linked N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) contributing to placental dysfunction and fetal growth impairment. Our aim was to determine how O-GlcNAc levels are affected by hyperglycemia and the O-GlcNAc distribution in different placental regions.

**Main methods:** Female Wistar rats were divided into the following groups: severe hyperglycemia (> 300 mg/dL, n = 5), mild hyperglycemia (> 140 mg/dL, at least than two time points during oral glucose tolerance test, n = 7) or normoglycemia (< 120 mg/dL, n = 6). At 21 days of pregnancy, placental tissue was collected and processed for morphometry and immunohistochemistry analysis, or properly stored at -80 °C for protein quantification by western blot.

**Key findings:** Placental index was increased only in severe hyperglycemic rats. Morphometric analysis showed increased junctional zone and decreased labyrinth region in placenta exclusively from the severe hyperglycemic group. Proteins targeted by O-GlcNAc were detected in all regions, with increased O-GlcNAc levels in the hyperglycemic group compared to control and mild hyperglycemic rats. Proteins in endothelial and trophoblast cells were the main target for O-GlcNAc. Whereas no changes in O-GlcNAc transferase (OGT) expression were detected, O-GlcNAcase (OGA) expression was reduced in placenta from the severe hyperglycemic group and augmented in placenta from the mild hyperglycemic group, compared with their respective control groups.

**Significance:** Placental O-GlcNAc overexpression may contribute to placental dysfunction, as indicated by the placental index. Additionally, morphometric alterations, occurring simultaneously with increased O-GlcNAc accumulation in the placental tissue may contribute to placental dysfunction during hyperglycemia.

### 1. Introduction

The placenta is a multifunctional and exclusively gestational organ [1] that directly regulates the transport of nutrients offered by the maternal environment across the placenta barrier [2]. This organ is a valuable tool for studying the metabolic disorders, including hyperglycemia, that occur during pregnancy, determining bad outcome in the fetus [3].

In rodents, this organ presents three distinct regions decidua, junctional zone and labyrinth. The junctional zone is crucial for the secretion of several hormones during pregnancy, whereas the labyrinth represents the most abundant part of the placenta, where the exchange

of nutrients and gases between mother and embryo occurs. Therefore, a perfect regulation of the junctional zone and labyrinth environments are crucial for the fetal development [4,5].

The O-linked attachment of N-acetylglucosamine (O-GlcNAc) to the hydroxyl group of serine (Ser) and threonine (Thr) residues of nuclear and cytoplasmic proteins is a dynamic and reversible process, altering protein function and fate and, consequently, cellular responses [6,7]. The concentration of uridine 5'-diphosphate N-acetylglucosamine (UDP-GlcNAc), the donor substrate for the O-GlcNAc modification of nucleocytoplasmic proteins, is highly sensitive to nutrient flow, including glucose, fatty acids and amino acids [8], through the hexosamine biosynthesis pathway (HBP) [7,9,10]. In hyperglycemic

\*Corresponding author at: Federal University of Mato Grosso, Institute of Biological and Health Sciences, Av. Yáskos Vargas, 6804, Serra do Garças, MT 78005-000, Brazil.  
E-mail address: fernandagiachini@ufmat.br (F.R. Giachini).

<https://doi.org/10.1016/j.lfs.2018.03.011>

Received 7 March 2018; Received in revised form 2 May 2018; Accepted 4 May 2018

Available online 07 May 2018

0024-3203/© 2018 Published by Elsevier Inc.



- 9- Soares, T. S., Andreolla, A. P., Miranda, C. A., Klöppel, E., Rodrigues, L. S., Moraes-Souza, R. Q., et al., (2018). Effect of the induction of transgenerational obesity on maternal-fetal parameters. *Systems biology in reproductive medicine*, 64(1), 51-59.

SYSTEMS BIOLOGY IN REPRODUCTIVE MEDICINE  
2018, VOL. 64, NO. 1, 51-59  
<https://doi.org/10.1080/17513758.2017.1402865>



RESEARCH ARTICLE



## Effect of the induction of transgenerational obesity on maternal-fetal parameters

Thaíra Sousa Soares , Ana Paula Andreolla<sup>a</sup>, Carolina Abreu Miranda , Eduardo Klöppel<sup>a,b</sup>, Luhana Silva Rodrigues<sup>a</sup>, Rafalanne Queiroz Moraes-Souza<sup>a,b</sup>, Débora Cristina Damasceno , Gustavo Tadeu Volpato , and Kleber Eduardo Campos

<sup>a</sup>Laboratory of System Physiology and Reproductive Toxicology, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Mato Grosso (UFMT), Barra do Garças, Mato Grosso State, Brazil; <sup>b</sup>Gynecology, Obstetrics and Maternity Graduate Course, Laboratory of Experimental Research on Gynecology and Obstetrics, Botucatu Medical School, Univ Estadual Paulista\_Unesp, Botucatu, São Paulo State, Brazil

### ABSTRACT

Maternal obesity can cause complications for both women and their offspring for generations. Therefore, we intended to verify the repercussions of induction of transgenerational obesity on biochemical parameters, reproductive performance, and congenital anomaly frequency in Wistar rats. Female rats were used from successive generations. The female rats of parental generation ( $F_0$ ,  $n=10$ ) were mated to obtain their offspring ( $F_1$  generation).  $F_1$  female rats received a monosodium glutamate (MSG) solution to induce obesity ( $n=07$ ) or vehicle (control,  $n=08$ ) during the neonatal period. These adult female rats were classified as normal or obese using the Lee Index, mated, and delivered offspring ( $F_2$  generation), which were also evaluated for obesity using the Lee Index in adult life ( $F_2$ MSG,  $n=13$ , born from obese dams) or non-obesity status ( $F_2$ Control,  $n=12$ , born from control dams), and were mated in adulthood. During pregnancy, glycemia and an oral glucose tolerance test (OGTT) were analyzed. At term pregnancy, the females were sacrificed for serum biochemical profile, maternal reproductive outcomes, and fetal development. In  $F_2$ MSG rats, body weight gain at early pregnancy, glycemia by OGTT, total cholesterol, high-density-lipoprotein, and alanine transaminase activity were higher compared with those of  $F_2$ Control rats.  $F_2$ MSG rats also presented a lower implantation number and gravid uterus weight, increased pre-implantation loss and anomaly frequency in their fetuses ( $F_3$  generation) compared with those of  $F_2$ Control rats. Therefore, even without significant changes in body weight gain, obesity was established at the end of pregnancy of Wistar rats using other biomarkers. Additionally, these rats showed multiple adverse reproductive outcomes, confirming the deleterious effects that lead to obesity.

### ARTICLE HISTORY

Received 4 July 2017  
Revised 13 November 2017  
Accepted 13 November 2017

### KEYWORDS

Fetus; obesity; rat; transgenerational

## Introduction

Obesity and its related comorbidities have become one of the main conditions negatively impacting public health, representing an alarming global problem. The epidemic proportions of obesity are mainly resulting from lifestyle changes, including increased high calorie intake and decreased physical activities [Flegal et al. 2015]. Obesity and being overweight have also increased in women of reproductive age [McDonald et al. 2010], and have increased strongly in populations with low and average incomes, especially in urban areas of developed countries [Nelson et al. 2016]. During pregnancy, obesity can cause complications for both women and their offspring, which may result in still-birth and congenital anomalies [Begum et al. 2011]. The impaired maternal intrauterine environment may

induce critical changes in fetal growth and development, contributing to the risk of developing disease in later life [Barker 2007; Gluckman et al. 2008].

Clinical and experimental studies show that maternal obesity induced intrauterine changes may influence the fetal organism leading to metabolic adaptations and/or complications [Gluckman et al. 2008], such as glucose intolerance, obesity, and metabolic syndrome in adult life [Barker 2007; Campos et al. 2007; Desai et al. 2013]. Obese women present an increased risk of birth defects in their offspring [Stothard et al. 2009]. In experimental models, obesity is related to an abnormal biochemical profile, with obese rats presenting with increased serum triglyceride levels and glucose intolerance in their offspring [Chen et al. 2014].

CONTACT Prof. Dr. Gustavo Tadeu Volpato [gvolpato@gmail.com](mailto:gvolpato@gmail.com) Laboratório Fisiológico, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde - UFMT, Rodovia Valdon Varjão, 6190, Barra do Garças - MT.

© 2017 Taylor & Francis

***Aulas ministradas:***

- 1- Acondicionamento e embalagem de amostras biológicas [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 10 horas;
- 2- Armazenamento e transporte de amostras biológicas [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 10 horas;
- 3- Parasitologia [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 50 horas;
- 4- Métodos parasitológicos de diagnóstico [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 20 horas;
- 5- Hematologia clínica no biodiagnóstico [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 80 horas;
- 6- Urinálise [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 20 horas;
- 7- Anatomia e fisiologia humana [Técnico em Enfermagem, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 90 horas;
- 8- Anatomia e fisiologia humana [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 60 horas;
- 9- Fundamentos básicos de laboratório [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 50 horas;
- 10- Processo de trabalho em laboratório de biodiagnóstico [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 40 horas;
- 11- Química aplicada [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 40 horas;
- 12- Noções de Biossegurança [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 45 horas;
- 13- Técnicas de triagem e coleta de amostras [Técnico em Análises Clínicas, Escola Técnica Estadual de Barra do Garças/SECITEC/MT], 45 horas;

***Elaboração de plano de curso:***

- 1- Plano de Curso de Formação Inicial e Continuada (FIC) em qualidade e eficiência na coleta de sangue, Carga horária total de 90 horas, 2017;
- 2- Plano de Curso Técnico de Nível Médio em Análises Clínicas, no eixo tecnológico Ambiente e Saúde, Carga horária total de 1.440 horas, 2018.

***Aprovação em processos seletivos:***

- 1- Processo Seletivo Simplificado De Professores Edital nº 002/2016/SECITEC/MT;
- 2- Processo Seletivo Simplificado De Professores Edital nº 03/2018/SECITEC/MT;
- 3- Processo Seletivo Simplificado De Professores Edital nº EDITAL Nº 01/2018/UFMT/CUA/MT de 20 DE MARÇO DE 2018

***Participação em Congressos nacionais e internacionais:***

- 1- XX Congresso da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015;
- 2- I Workshop do PPGIP, 2015.

***Apresentações de Trabalho em eventos científicos:***

- 1- Effect of exercise in pregnant rats with mild diabetes on the immunological system and biochemical profiles. XX Congresso da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015, Porto Alegre.
- 2- Exercício físico em ratas prenhes com diabete moderado: repercussões bioquímicas e imunológicas. I Workshop do Programa de Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas, 2015, Barra do Garças.
- 3- Effects of physical exercise in reproductive outcome of pregnant rats with mild diabetes. XX Congresso da Sociedade Brasileira de Diabetes, 2015, Porto Alegre.

***Prêmios e títulos:***

- 1- Menção Honrosa ao trabalho: "Exercício físico em ratas prenhes com diabete moderado: repercussões bioquímicas e imunológicas"., I Workshop do Programa de Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. 2015.
- 2- Menção honrosa ao trabalho: Repercussões imunológicas, reprodutivas e fetais da idade de prenhez de ratas., II Workshop do Programa de Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas. 2016.

***Coorientações de alunos concluídas:***

- 1- Larissa Lopes da Cruz. Efeito do tratamento com extrato aquoso de folhas de *Phyllanthus niruri* L. sobre o perfil bioquímico e hematológico de ratas prenhes. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso. (Graduação em Biomedicina)

***Participações em bancas:***

- 1- Participação em banca de Verônyca Gonçalves Paula. Efeitos do extrato aquoso de *Phyllanthus niruri* na prenhez de ratas Wistar: Repercussões fetais. 2015. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina);
- 2- Participação em banca de comissão julgadora na I Mostra Regional de Saúde Garças-Araguaia, 2018.
- 3- Participação em banca de comissão julgadora na IV Workshop do Programa de Pós-graduação em Imunologia e Parasitologia Básicas e Aplicadas, II International Workshop do PPGIP e II RIVA-TERM Extended Meeting Brazil Edition. 2018.

***Divulgação do conhecimento para leigos:***

- 1- Curso teórico-prático de Tipagem Sanguínea na VII Mostra de Ciência, Tecnologia e Inovação nos dias 27 e 28 de setembro de 2018.

- 2- Palestra sobre Coleta de Sangue e Esfregaço Sanguíneo no Curso de Extensão – FísioTox (Tópicos teórico-prático de fisiologia de sistemas e toxicologia reprodutiva) no dia 22 de fevereiro de 2019.
- 3- Palestra sobre Origem e Diagnóstico da Síndrome de Down no Dia Internacional da Síndrome de Down no dia 21 de março de 2019.

***Organização de eventos:***

- 1- VII Mostra Local de Ciência, Tecnologia e Inovação, 2017;
- 2- I Mostra Regional de Saúde Garças-Araguaia, 2018;
- 3- VIII Mostra Local de Ciência, Tecnologia e Inovação, 2018.