



Universidade Federal do Maranhão
Centro de Ciências Biológicas e da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde
Mestrado



**EFEITOS DE *Anacardium occidentale* L. NA SEPSE DE
CAMUNDONGOS DIABÉTICOS**

ALUISIO DA SILVA OLIVEIRA

SÃO LUÍS - MA

2018

ALUISIO DA SILVA OLIVEIRA

**EFEITOS DE *Anacardium occidentale* L. NA SEPSE DE
CAMUNDONGOS DIABÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientadora: Prof^ª. Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra

SÃO LUÍS
2018

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Oliveira, Aluisio.

Efeitos de *Anacardium occidentale* L. na sepse de camundongos diabéticos / Aluisio Oliveira. - 2018.
88 f.

Orientador(a): Rosane Nassar Meireles Guerra.

Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde/ccbs, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, 2018.

1. *Anacardium occidentale*. 2. Anti-inflamatório. 3. Diabetes. 4. Perfuração cecal. 5. Sepse. I. Nassar Meireles Guerra, Rosane. II. Título.

ALUISIO DA SILVA OLIVEIRA

**EFEITOS DE *Anacardium occidentale* L. NA SEPSE DE
CAMUNDONGOS DIABÉTICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal do Maranhão, como requisito parcial para obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Data: ____/____/____

BANCA EXAMINADORA

Orientadora: Dra. Rosane Nassar Meireles Guerra
Universidade Federal do Maranhão

1º EXAMINADOR

2º EXAMINADOR

3º EXAMINADOR

“Não devemos ter medo das novas ideias! Elas podem
significar a diferença entre o triunfo e o fracasso”

Napoleon Hill

Aos meus pais Antônio Rodriguês e Maria Celi

AGRADECIMENTOS

A Deus por toda proteção diária, por guiar meus passos, me livrar dos caminhos do mal e por escolher tantas pessoas boas para fazerem parte da minha vida. Obrigado meu Deus, sou muito grato pelas bênçãos que me tem proporcionado.

A minha orientadora Dra. Rosane Guerra que me acompanhou durante a graduação e iniciação científica e agora me conduziu na realização desse projeto, só tenho a agradecer por toda dedicação. A admiro muito pela objetividade, pensamento rápido, pela praticidade, suavidade e o amor com que conduz a ciência, sempre apoiando e acreditando. Obrigado professora Rosane por contribuir tão de perto com minha formação, só posso desejar muita proteção e dias cheios de muitas alegrias.

A professora Flávia Nascimento que sempre contribui com sua experiência científica e olhar minucioso, a qual tenho grande carinho e admiração.

A minha mãe Maria Celi, mulher guerreira, verdadeira, honesta e de muita sabedoria e ao meu pai Antônio Rodriguês, paciente, sincero, honesto e íntegro, agradeço imensamente por todo o carinho e amor dispensado, pelos ensinamentos, perseverança, honestidade, lealdade, força e respeito.

Agradeço ao meu companheiro Leonardo Damasceno que tem estado ao meu lado transmitindo confiança e me apoiando em todos os momentos. Na realização desse sonho, sem dúvidas, tua participação foi muito importante. Muito obrigado por tudo.

Aos amigos da eterna FA042 (Farmácia –UFMA) que contribuíram para minha formação e que me acompanham ao longo desses 17 anos e em especial a Alexandre Magno, meu grande amigo, um irmão, o qual posso contar a qualquer hora e a minha amiga Christianne Azevedo, a qual tenho tanto carinho, admiração e que sem dúvida alguma tem participado sempre de todos os momentos da minha vida, sou imensamente grato por ter vocês ao meu lado e desejo que essa amizade tenha vida longa e que possamos desfrutar de muitos momentos juntos.

Ao Laboratório de Imunofisiologia (LIF) que tem proporcionado aos seus integrantes grandes realizações profissionais e científicas e principalmente aos irmãos de laboratório que me

incentivaram e apoiaram a todo momento, em especial ao Douglas, Lillian, André, Jefferson, Johnny e minhas irmãs científicas Patrícia e Liana, as quais tenho grande carinho e admiração.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde que contribuíram diretamente no meu processo de formação e amadurecimento científico.

A turma de mestrado 2016.1 que com certeza fez esta caminhada mais leve e divertida, almejando o mesmo objetivo nos tornamos mais unidos.

As instituições de fomento Fundação de Amparo à Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão (FAPEMA) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) por fornecer os recursos para realização desta pesquisa.

A todos que contribuíram na realização desse projeto,

Meu muito obrigado

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	REFERENCIALTEÓRICO	15
2.1	Sepse	15
2.1.1	Sepse e diabetes	18
2.1.2	Modelos experimentais de sepse e diabetes	19
2.1.3	Uso de antimicrobianos na seps.....	20
2.2	<i>Anacardium occidentale</i>	22
2.2.1	Componentes químicos	23
2.2.2	Atividade antimicrobiana de <i>Anacardium occidentale</i>	24
3	OBJETIVOS	25
3.1	Geral	25
3.2	Específicos	25
4	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	26
5	RESULTADOS	33
5.1	Capítulo 1: Artigo: Ação anti-inflamatória de <i>Anacardium Occidentale</i> L. aumenta a expectativa de vida na sepse letal de camundongo diabéticos.....	33
6	CONCLUSÕES	54
7	CONSIDERAÇÕES FINAIS	60
	ANEXOS	87

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

ATB – Antibiótico

CLP- Ligação e Perfuração Cecal

CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência

DM- *Diabetes Mellitus* (DM)

EEA- Extrato Etanólico de *Anacardium occidentale*

ESICM - *European Society of Critical Care Medicine*

H₂O₂ - Peróxido de Hidrogênio

ILAS – Instituto Latino Americano de Sepsis

IL-1 β – Interleucina 1-beta

IL-6 - Interleucina – 6

IL-12 – Interleucina – 12

INF- γ – Interferon gama

MCP-1 – Proteína - 1 quimioatraente de monócitos

NO – Óxido Nítrico

PAMPs – Padrões Moleculares Associados aos Patógenos

SIRS - Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica

SOFA - *Sequential Organ Failure Assessment*

SSC – Campanha de Sobrevivência à Sepsis

SCCM - *Society of Critical Care Medicine*

STZ - Estreptozotocina

TLR – Receptor do tipo Toll

TNF- α - Fator de Necrose Tumoral -Alfa

UTI – Unidade de Terapia Intensiva

VEGF - Fator de Crescimento Endotelial Vascular

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Aspectos gerais da árvore de <i>A. occidentale</i>	22
Figura 2. Avaliação da variação ponderal (A) e da glicemia (B) em animais tratados com frutose (40%)	42
Figura 3. Efeito do tratamento oral com Extrato Etanólico de <i>A. occidentale</i> (EEA) na sobrevida (A) e na expectativa de vida (B)	43
Figura 4. Efeito do tratamento oral com Extrato Etanólico de <i>A. occidentale</i> sobre o número de Unidades Formadora de Colônias (CFUs) no sangue (A), peritônio (B) e fluido broncoalveolar (C)	44
Figura 5. Efeito do tratamento com Extrato Etanólico de <i>A. occidentale</i> sobre a contagem diferencial de células sanguíneas.....	46
Figura 6. Efeito do tratamento oral com Extrato Etanólico de <i>A. occidentale</i> sobre a produção de Peróxido de Hidrogênio (A) e óxido nítrico (B) em camundongos diabéticos submetidos à CLP	49
Figura 7. Efeito do tratamento oral com Extrato Etanólico de <i>A. occidentale</i> sobre a produção da citocinas em camundongos diabéticos submetidos à ligação e perfuração cecal (CLP)	50

RESUMO

Sepse é definida pela presença de disfunção orgânica decorrente de infecção e inflamação generalizada, com elevadas taxas de mortalidade, sobretudo entre os pacientes diabéticos. Por esse motivo, o objetivo do presente estudo foi avaliar o efeito do extrato etanólico das flores de *Anacardium occidentale* L. em modelo experimental de sepse, em camundongos diabéticos. Foram utilizados camundongos *Swiss*, machos, com cinco meses de idade. A diabetes foi induzida pela ingestão *ad libitum* de frutose 40%, adicionada à água, durante 21 dias. No 14º dia os animais receberam estreptozotocina (40mg/kg ip.). Foram considerados diabéticos os animais com glicose ≥ 200 mg/dL. Para determinar a sobrevida, a sepse por perfuração cecal foi induzida nos animais diabéticos, que foram divididos nos seguintes grupos (N=5): Controle: recebeu salina; ATB: tratado com Imipenem (8mg/kg), via subcutânea (sc) no momento da indução da sepse e EEA oral: 5mg/kg de Extrato Etanólico de *Anacardium occidentale*, via oral, durante a sepse. Os demais animais (N=7/grupo), seguindo a mesma divisão dos grupos anteriores, foram eutanasiados para avaliar eficácia do EEA considerando: a migração celular; exsudado inflamatório peritoneal; celularidade; efeito antimicrobiano, produção de peróxido de hidrogênio (H₂O₂), óxido nítrico (NO) e produção das citocinas IL-6, IL-10, MCP-1, IFN- γ , TNF- α e IL-12. A associação com frutose e estreptozotocina induziu diabetes em camundongos *Swiss*. O extrato das flores de *Anacardium occidentale* aumentou a sobrevida de camundongos diabéticos, no momento da sepse, reduziu a infecção bacteriana no sangue e no pulmão, mas não apresentou eficácia em controlar o crescimento bacteriano no peritônio, no entanto, atuou na balanço entre mediadores inflamatório, aumentando a produção de peróxido de hidrogênio e reduzindo a produção de óxido nítrico, além disso, mostrou-se eficiente em controlar a inflamação sistêmica exacerbada na sepse, por reduzir citocinas pro-inflamatórias como IL-6, TNF- α e a quimiocinas MCP-1. Concluímos que o tratamento oferecido apresenta resultados promissores quanto a ação de *Anacardium occidentale* na sepse induzida em camundongos diabéticos.

Palavras-chave: *Anacardium occidentale*, sepse; Diabetes, citocinas, perfuração cecal, anti-inflamatório.

ABSTRACT

Sepsis is defined by the presence of organic dysfunction resulting from infection and generalized inflammation, with high mortality rates, especially among diabetic patients. For this reason, the objective of the present study was to evaluate the effect of the ethanol extract of the flowers of *Anacardium occidentale* L. in an experimental model of sepsis in diabetic mice. Five-month-old male Swiss mice were used. Diabetes was induced by *ad libitum* intake of 40% fructose, added to water, for 21 days. On day 14 animals received Streptozotocin (40 mg / kg ip.). Animals with glucose > 200mg / dL were considered diabetic. To determine survival, sepsis by cecal puncture was induced in diabetic animals, which were divided into the following groups (N = 5): Control: received saline; ATB: treated with Imipenem (8mg / kg), subcutaneously (sc) at the time of induction of sepsis and oral EEA: 5mg / kg of Ethanol Extract from *Anacardium occidentale*, orally, during sepsis. The remaining animals (N = 7 / group), following the same division of the previous groups, were euthanized to evaluate EEA efficacy considering: cell migration; peritoneal inflammatory exudate; cellularity; (H₂O₂), Nitric Oxide (NO) and cytokine production IL-6, IL-10, MCP-1, INF- γ , TNF- α and IL-12. The association with fructose and streptozotocin induced diabetes in Swiss mice. The extract of the flowers of *Anacardium occidentale* increased the survival of diabetic mice at the time of sepsis but did not prolong it for a long time. On the other hand, it reduced the bacterial infection in the blood, but it was not effective in controlling the bacterial growth in the peritoneum and lung, however, it acted in the balance between inflammatory mediators, increasing the production of hydrogen peroxide and reducing the production of nitric oxide, in addition, it proved to be efficient in controlling exacerbated systemic inflammation in sepsis, by reducing pro-inflammatory cytokines such as IL- 6, TNF- α and the chemokine MCP-1. We conclude that the treatment offered presents promising results regarding the action of *Anacardium occidentale* on sepsis induced in diabetic mice.

Keywords: *Anacardium occidentale*, sepsis; Diabetes, cytokines, cecal ligation and puncture

1. INTRODUÇÃO

Anacardium occidentale L., família Anacardiaceae, popularmente conhecido como cajueiro, é uma espécie nativa do Brasil, com ampla distribuição na região Nordeste do país, incluindo o Estado do Maranhão. Os membros dessa espécie são árvores de copa baixa, com altura entre 5 e 10 m. Apresentam folhas simples, inteiras, oblongas, e flores róseas, pequenas e dispostas em panículas terminais. O nome caju é oriundo da palavra indígena acaiu e corresponde à parte carnosa, que é um pseudofruto formado pelo pedúnculo do fruto. O fruto é uma noz popularmente conhecida como castanha (CRUZ, 1985; ALBUQUERQUE, 1989; LORENZI; MATOS, 2002).

Estudos comparando a composição química de extratos das flores, folhas e cascas de *Anacardium occidentale* mostraram que todas as partes apresentam metabólitos secundários bioativos, como compostos fenólicos, esteroides, triterpenos, saponinas, flavonóides e taninos hidrolisáveis e não hidrolisáveis, sendo que nas flores, há uma maior concentração de alguns desses compostos, os quais são possivelmente responsáveis pela importante atividade antimicrobiana e antioxidante do seu extrato (SILVA et al., 2016).

O extrato das flores de *A. occidentale* foi eficiente em inibir, *in vitro*, o crescimento de 14 cepas diferentes de bactérias, muitas delas isoladas de infecções humanas. Além de atividade antimicrobiana, foi também constatado que o extrato das flores de *A. Occidentale* apresenta ação anti-diabetes em modelo animal, pois tem ação inibitória sobre as enzimas α -amilase e α -glicosidase (SILVA, 2015; SILVA et al., 2016).

O estudo das propriedades farmacológicas de espécies vegetais é de grande importância, principalmente com o intuito de buscar novas terapias ou complementar as existentes de forma a auxiliar na melhor qualidade de vida, sobretudo de pacientes susceptíveis à infecções e sepse (HOTCHKISS; KARL, 2003).

As definições de sepse têm evoluído ao longo dos anos. A primeira proposta em 1992 por Bone e colaboradores, definia sepse como uma Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS), associada à infecção. Recentemente, a sepse foi redefinida como uma disfunção de órgãos, com risco de vida, causada por uma resposta exacerbada à infecção. Foi considerado como choque séptico um subconjunto de sinais e sintomas entre os quais se incluem: as

anormalidades metabólicas; circulatórias e celulares, responsáveis por aumentar substancialmente a mortalidade (BONE et al., 1992; SINGER et al., 2016).

Durante o choque séptico as endotoxinas e exotoxinas promovem a ativação de células residentes, de células do endotélio e de leucócitos. Monócitos e neutrófilos aumentam a produção de citocinas inflamatórias, IL-1 β , IL-6 e TNF- α , o que resulta em inflamação generalizada, associada à infecção (ANGUS; POLL, 2013; HOTCHKISS, 2013; DEUTSCHMAN, TRACEY, 2014).

A produção de óxido nítrico (NO) também contribui significativamente para a progressão da sepse e do choque séptico, pois o aumento de NO parece ser a molécula efetora na inibição da migração de neutrófilos, o que se correlaciona positivamente com a mortalidade por sepse (BENJAMIM, 2001). Embora o NO seja um mediador importante em condições fisiológicas, o seu aumento, de forma descontrolada, ocasiona danos microvasculares graves, resultando em hipovolemia e em disfunção orgânica (LERMAN; KIM, 2015).

Apesar dos recentes avanços na antibioticoterapia e nas medidas de suporte, a mortalidade por sepse ainda é muito elevada. Uma estimativa global aponta que, a cada ano, os casos de sepse tendem a crescer, estimando em 30 milhões o número de novos casos e em 6 milhões o número anual de mortes por sepse. (FLEISCHMANN et al., 2016). O prognóstico desfavorável de pacientes com sepse ocorre, na maioria das vezes, devido ao diagnóstico tardio e/ou a presença de doenças crônicas como cirrose hepática e diabetes mellitus (STOECKLE et al., 2008).

Os pacientes diabéticos estão em risco permanente de infecção por *Staphylococcus aureus*, o que os torna susceptíveis às infecções de pele e tecidos moles, e sepse (KAECH et al., 2006). Além disso, o diabetes constitui um fator de risco para bacteremia, por enterobactérias, e formação de abscessos hepáticos piogênicos, pois a redução de fluxo sanguíneo, especialmente na microcirculação, causa alterações nas membranas das hemácias, ocasionando congestão vascular e redução da resposta imune regulatória (THOMSEN et al., 2005; MOUTZOURI et al., 2008).

Considerando a ação antimicrobiana *in vitro* do extrato das flores de *A. occidentale*, o presente trabalho investigou o efeito desse extrato na sepse experimental, induzida por ligadura e perfuração cecal, em camundongos diabéticos.

2. REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Sepses

A sepsis foi inicialmente definida como Síndrome da Resposta Inflamatória Sistêmica (SIRS) associada a um quadro infeccioso e também incluiu a disfunção orgânica associada à sepsis (BONE et al.,1992). Representa um desafio para medicina, por isso têm sido dispendidos esforços consideráveis para um melhor entendimento da inflamação sistêmica que caracteriza essa síndrome (O'BRIEN et al.,2007).

Apesar de sua importância e da demanda de recursos, seu reconhecimento muitas vezes ainda não ocorre em tempo hábil, deixando margem para a sua evolução o que resulta na disfunção de múltiplos e sistemas. Seu manejo sofreu profundas mudanças na última década, pois hoje há inúmeras orientações, com base em evidências advindas de estudos no cenário clínico (ANGUS et al., 2001; O'BRIEN et al.,2007).

Recentemente, a sepsis foi definida como disfunção orgânica ameaçadora à vida, em decorrência de resposta exacerbada e desregulada do organismo à infecção (SINGER et al., 2016). Entre as diretrizes inclui-se o escore SOFA (*Sequential Organ Failure Assessment*), que deve ser observado para se chegar ao diagnóstico de disfunção orgânica, considerando variações em dois ou mais pontos. Com base nesse novo consenso, choque séptico reúne um subgrupo de pacientes com sepsis que apresentam acentuadas anormalidades circulatórias, celulares e metabólicas, apresentando como critérios para diagnóstico a necessidade de vasopressor para manutenção da pressão arterial média de 65mmHg, após a infusão adequada de fluidos, associada à concentração sérica de lactato acima de 2 mmol/L (SHANKAR-HARI et al., 2016).

Associado ao escore SOFA, também é utilizada a ferramenta “*quick SOFA*”, com a finalidade de identificar pacientes graves que apresentam diagnóstico desfavorável, o que tem auxiliado na triagem de pacientes com infecção. Os critérios utilizados incluem: frequência respiratória ≥ 22 /incursões por minuto, alteração do nível de consciência (escore segundo a Escala de Coma de *Glasgow* inferior a 15), ou pressão sistólica ≤ 100 mmHg (SEYMOUR et al., 2016).

A incidência de sepse aumentou ao longo dos anos, provavelmente, devido ao crescimento da população idosa, ao número de pacientes imunossuprimidos, portadores de doenças crônicas e devido também à maior resistência de microrganismos à terapêutica (RICE; BERNARD, 2005; DE LA RICA; GILSANZ; MASEDA, 2016).

A sepse está entre as principais causas de morte em unidades de terapia intensiva (UTIs), com elevadas taxas de letalidade, apresentando interação de componentes infecciosos, hemodinâmicos, cardiovasculares, além do processo inflamatório que inclui ativação de citocinas, produção de óxido nítrico, radicais livres de oxigênio e migração celular. Estima-se que na última década, cerca de 32 milhões de casos de sepse podem ter contribuído para até 5,3 milhões de mortes, em todo o mundo. No entanto, esses dados podem ser subestimados, tendo em vista, que se referem aos países de alta renda *per capita*. Além disso, a maioria das mortes por sepse estão associadas às doenças subjacentes como pneumonia, infecção intra-abdominal e a infecção urinária (FLEISCHMANN et al., 2016).

Nos Estados Unidos, a maioria dos estudos epidemiológicos, baseados em grandes bancos de dados hospitalares, indicaram um aumento na incidência de sepse. O número de casos de sepse reportados aumentou de 415.280 em 2003, para 711.763 em 2007, portanto, um aumento de 71% no número de novos casos. Em relação aos custos, também houve aumento significativo: de 15,4 bilhões de dólares em 2003, para 24,3 bilhões em 2007 (LAGU et al., 2012).

No Brasil, o estudo mais recente realizado pelo Instituto Latino-Americano de Sepse (ILAS), mostrou que em fevereiro de 2014, num estudo realizado em 227 unidades de terapia intensiva (UTI), selecionadas aleatoriamente, 794 indivíduos, de um total de 2632 pacientes, apresentaram sepse, com a relação de 30 pacientes com sepse, por cada 100 leitos de UTI e taxa de mortalidade de 56%. (MACHADO et al., 2017).

A origem da sepse envolve uma interação complexa entre o hospedeiro e os microrganismos da infecção, por isso é tão importante avaliar o sistema imunológico dos pacientes com sepse. As respostas imunológicas iniciais, voltadas a controlar a progressão da infecção, podem determinar a evolução para sepse, pois a fase inflamatória que visa controlar o processo infeccioso pode, quando não controlada, desencadear disfunções orgânicas, contribuindo para os eventos fisiopatológicos da sepse (SALOMAO et al., 2008). Vários fatores

estão envolvidos nessa reposta, como por exemplo: as características intrínsecas dos microrganismos, como a virulência, carga do inóculo, resistência do microrganismo à opsonização e fagocitose, e resistência aos antibióticos disponíveis (RUSSELL, 2006).

A ativação de células da imunidade adaptativa ocorre, inicialmente, pela ligação de moléculas comuns aos microrganismos, ou padrões moleculares associados aos patógenos (PAMPs - *pathogen-associated molecular patterns*, aos receptores do tipo *Toll*, presentes em macrófagos, neutrófilos e células NK. São considerados como PAMPs, os lipopolissacarídeos (LPS), presentes nas bactérias Gram-negativas e peptidoglicanos e/ou ácido lipoteicoico presente nas paredes das bactérias Gram-positivas. Os peptidoglicanos, por exemplo, podem produzir endotoxinas e exotoxinas, que ativam tanto as células residentes do endotélio, como linfócitos e macrófagos, aumentando a produção de IL-1 β , IL-6 e TNF- α , citocinas inflamatórias implicadas nas infecções generalizadas (MORATH et al., 2001; SALOMAO, 2008; ANGUS; POLL, 2013; HOTCHKISS, 2013; DEUSTSCHMAN, 2014). Além disso, o *burst* oxidativo em neutrófilos e macrófagos, resulta em aumento de óxido nítrico (NO), cujo efeito vasodilatador e hipotensor contribui para progressão do choque séptico (SALOMAO, 2008).

O aumento na produção de óxido nítrico reduz a migração de neutrófilos, aumentando o risco de morte associado a sepse (BENJAMIM, 2001). Embora o NO seja um mediador importante para a manutenção do equilíbrio fisiológico, a sua produção descontrolada ocasiona danos microvasculares graves e disfunção orgânica, contribuindo principalmente para prognóstico desfavorável de pacientes com doenças de base como cirrose hepática e diabetes mellitus (STOECKLE et al., 2008; LERMAN; KIM, 2015).

Entre os órgãos mais afetados pela sepse estão o pulmão e os rins, resultando em falência respiratória e déficit de oxigênio na circulação, e em lesão renal, respectivamente. As manifestações pulmonares, incluem edema, infiltrados celulares que levam a redução das trocas gasosas, hipóxia e conseqüente falência múltipla dos órgãos. Da mesma forma, a lesão renal aguda resulta em alterações hemodinâmicas, disfunção endotelial, infiltração de células inflamatórias e obstrução dos túbulos renais. (HOTCHKISS; KARL, 2003; FILGUEIRAS et al., 2012; ALOBAIDI et al., 2015).

2.1.1 Sepse e diabetes

O número de diabéticos está aumentando por conta do crescimento e do envelhecimento populacional, do processo de urbanização, da progressiva prevalência de obesidade e sedentarismo, bem como devido a maior longevidade de pacientes com *Diabetes mellitus* (DM). A diabetes representa uma emergência mundial, uma vez que, a cada ano aumenta o número de pessoas que convivem com essa condição, resultando em complicações diversas. Estima-se que 415 milhões de adultos tenham diabetes e que pelo menos 318 milhões possuam intolerância à glicose, o que os coloca em risco de desenvolver a doença no futuro (IDF, 2015).

Os pacientes com diabetes são mais susceptíveis do que indivíduos saudáveis a desenvolverem uma série de problemas de saúde. Elevadas concentrações de glicose no sangue podem ser responsáveis por doenças graves que afetam o coração e vasos sanguíneos, olhos, rins e nervos. Além disso, pacientes com diabetes têm maior risco de desenvolverem infecções (IDF, 2014).

Diabetes mellitus é uma doença complexa caracterizada por hiperglicemia persistente, decorrente de defeitos na secreção de insulina (Diabetes Tipo 1) ou na ação da insulina (Diabetes Tipo 2). A incidência de infecção é maior em pacientes com diabetes quando comparada aos indivíduos não diabéticos, devido a hiperglicemia, complicações na microcirculação e a disfunção imune. A infecção no diabetes é difícil de tratar e quando não conhecida ou tratada, pode progredir mais facilmente para uma sepse, um dos fatores que contribuem para a maior morbidade (BERTON; SAYDAH; BRANCAT, 2001).

Nos pacientes diabéticos, durante as fases mais graves da sepse, ocorre um marcado aumento na expressão de E-selectinas, moléculas solúveis relacionadas a adesão dos leucócitos ao endotélio, e de receptores para o fator de crescimento endotelial e vascular (VEGF- *Vascular Endothelial Growth Factor*), sugerindo que a disfunção endotelial, particularmente durante o choque séptico tem sido associado a maior mortalidade (SCHUETZ et al., 2011; DANDONA et al., 2004).

Além disso, a diabetes mellitus parece reduzir o fluxo sanguíneo, especialmente na microcirculação, devido à coagulação intravascular disseminada, alteração da resistência vascular, danos às células endoteliais, hipoperfusão tecidual e alterações na membrana de

hemácias de pacientes sépticos, ocasionando congestão vascular e redução da resposta imune regulatória (MOUTZOURI et al., 2008).

Portanto, são necessários mais estudos afim de avaliar o impacto da diabetes sobre a sepse, bem como, propor alternativas que melhorem a qualidade de vida de pacientes diabéticos, reduzindo o prognóstico desfavorável quer por conta da possível susceptibilidade às infecções, quer pela predisposição à disfunção orgânica.

2.1.2 Modelos experimentais sepse e diabetes:

Os modelos experimentais de diabetes em animais, que retratam anormalidades metabólicas e a patogênese da doença, bem como os modelos experimentais de sepse, que auxiliam no conhecimento dos mecanismos inflamatórios e processos infecciosos, têm sido muito utilizados na pesquisa científica.

A sepse em humanos é uma síndrome complexa que envolve diversos sistemas orgânicos, em desequilíbrio por conta de uma resposta desregulada do organismo à infecção. Considerada terapeuticamente desafiadora e de estudo clínico complexo, vários modelos animais têm sido utilizados para elucidar os mecanismos envolvidos na sepse experimental e para testar possíveis agentes terapêuticos.

Os modelos experimentais de sepse podem ser divididos em 3 tipos:

- Sepse induzida por administração exógena de uma toxina (por exemplo, lipopolissacarídeos, endotoxinas);
- Sepse induzida por administração exógena de um microrganismo viável, como bactérias, fungos ou protozoários, ou
- Sepse induzida pela alteração da barreira protetora endógena do animal, resultante de aumento na permeabilidade do colón e da livre passagem de bactérias para o peritônio. (BURAS et al., 2005).

O modelo de ligação e perfuração cecal (CLP), tem sido o mais utilizado, pois se assemelha as situações de apendicite ou de diverticulite em humanos. A técnica consiste numa pequena incisão na parede abdominal do animal, seguida da exteriorização do ceco e uma ligação

abaixo da válvula ileocecal e perfuração intestinal, assegurando o extravasamento do conteúdo fecal para o peritônio (WICHTERMAN; BAUE; CHAUDRY, 1980).

As vantagens do modelo CLP estão relacionadas a: - simplicidade para realização; - natureza polimicrobiana do foco infeccioso e alterações hemodinâmicas, metabólicas e produção de mediadores, semelhantes à sepse em humanos (DEJAGER et al., 2011).

Em relação a indução de diabetes experimental, há muitos tipos de indução, mas os mais utilizados são aqueles que ocasionam anormalidades metabólicas, semelhantes às que ocorre nos pacientes diabéticos, com objetivo de investigar novos agentes no tratamento da diabetes (ASRAFUZZAMAN, 2017).

No processo de indução de diabetes tipo 2, tem se associado a estreptozotocina (STZ), droga citotóxica para as células betas pancreática, com a frutose na alimentação. Nesse modelo experimental, a frutose é responsável pelo desenvolvimento de resistência insulínica, hiperglicemia e hiperlipidemia. Assim, a associação da frutose com baixas doses de estreptozotocina, por um curto período, é uma boa estratégia para avaliar o desenvolvimento de novas drogas com ação anti-diabetes (DAI et al., 1994; STARK; TIMAR; MADAR, 2000; HININGER-FAVIER, et al., 2009; WILSON; ISLAM, 2012).

2.1.3 Uso de antimicrobianos na sepse

Diante da problemática apresentada e frente a elevada incidência e mortalidade por sepse, aos altos custos e a dificuldade de implementar práticas rotineiras relacionadas aos processos de assistência a pacientes sépticos, em 2004 foi lançada a Campanha de Sobrevivência à Sepse (*Surviving Sepsis Campaign- SSC*), formulada por diversas sociedades mundiais e com apoio do Instituto Latino-Americano de Sepse (ILAS), a partir de então foram publicadas as diretrizes para o tratamento da sepse, depois revisadas em 2008, 2012 e 2016 (RHODES et al., 2017).

A SSC tem defendido a antibioticoterapia precoce, baseando-se em evidências de que a administração de antibióticos de largo espectro, na primeira hora de diagnóstico é responsável pela redução da carga bacteriana e fundamental para o controle da resposta

inflamatória. A campanha “*Sobrevivência à Sepsis*” considera tal recomendação como essencial para pacientes com sepsis ou em choque séptico (RHODES et al., 2017).

Em 2014, um estudo retrospectivo realizado a partir de dados da SSC mostrou que o atraso na administração de antibióticos está associado ao aumento da mortalidade hospitalar. Além disso, a cada hora de atraso na administração de antibióticos há um aumento linear na mortalidade por sepsis, ressaltando a importância na identificação e tratamento de pacientes sépticos no ambiente hospitalar (FERRER et al., 2014).

A escolha do antimicrobiano deve levar em consideração padrões locais de resistência, pois a terapia empírica tem sido associada a maior resistência de microrganismos. São exemplos: a mutação genética em *Staphylococcus aureus*, que conferiu resistência aos antibióticos β -lactâmicos; ou a ocorrência em *Enterococcus*, que os tornou resistentes à Vancomicina. Portanto, é importante considerar os fatores de risco, o histórico anterior dos pacientes, incluindo o uso de terapia antimicrobiana, hospitalização prévia e resultados de exames microbiológicos anteriores (KEELEY; HINE; NSUTEBU, 2017).

Por outro lado, com o surgimento e a rápida disseminação de microrganismos resistentes às diversas classes de medicamentos, a abordagem para o tratamento de infecções bacterianas e terapias antimicrobianas precisam ser redefinidas, principalmente no que concerne ao uso combinado de antibióticos (AHMED et al., 2014). Surge dessa forma, a preocupação em buscar alternativas, ou terapias complementares, como uso plantas medicinais, fomentando o conhecimento científico acerca das propriedades terapêuticas, químicas e farmacológicas.

Nesse contexto, pesquisas realizadas pelo nosso grupo (SILVA et al., 2016) demonstraram a atividade antimicrobiana dos extratos das flores, folhas e cascas de *Anacardium occidentale* L. contra espécies bacterianas previamente isolada de infecções humanas. A eficácia de inibição evidenciada nos extratos das flores, nos motivou a avaliar a eficácia desse extrato nas infecções *in vivo*, utilizando o modelo de sepsis polimicrobiana em camundongos diabéticos.

2.2 *Anacardium occidentale* L.

Anacardium occidentale L., conhecida popularmente por cajueiro, caju, acajaíba, caju-anão, é uma espécie originária do Brasil, com ampla distribuição geográfica no país, e com

ocorrências confirmadas em todos os estados. O maior número de exemplares e a maior diversidade de *Anacardium occidentale* L. encontra-se no Nordeste brasileiro, incluindo o estado do Maranhão (CRISÓSTOMO et al., 2002; LUZ; PERINI, 2017).

A. occidentale L. é única espécie cultivada e a mais dispersa do gênero (BARROS et al., 2002), pertence à família Anacardiaceae, que compreende cerca de 70 gêneros e entre 400 a 600 espécies. A diversidade de plantas do cajueiro tem sido agrupada em dois tipos: o comum e o anão precoce (BARROS, 1993).

As plantas do tipo comum têm altura média variando entre 5m e 8m, com diâmetro da copa em torno de 13 m, embora alguns exemplares possam atingir até 15m de altura com copa de até 20m de diâmetro. (BARROS, 1995; CRISÓSTOMO et al., 2003). O cajueiro anão precoce (Figura 1A) caracteriza-se pelo porte baixo, raramente ultrapassando os 5 m de altura e 8 m de diâmetro de copa. Possui copa mais compacta e homogênea do que o cajueiro-comum (ALMEIDA et al., 1995).

As flores são pequenas, curto-pediceladas, pálidas, avermelhadas ou purpúreas, após a fertilização, dispostas em panículas terminais, pedunculadas, ramificadas e bracteadas na parte inferior, com o número de flores por panícula variando normalmente de 200 a 1.600 (BARROS, 1993). Recém-abertas apresentam coloração branco-esverdeada e, após 24 horas, já apresentam coloração rosada (BARROS, 1988 – Figura 1 B). O caule, normalmente é reto e alto, algumas vezes tortuoso e baixo, dependendo da natureza do terreno. As folhas são simples, inteiras, oblongas, alternas, pecioladas, obtusas, subconvexas, onduladas e glabras como mostra a Figura 1C (MAZZETTO; LOMONACO, 2009).

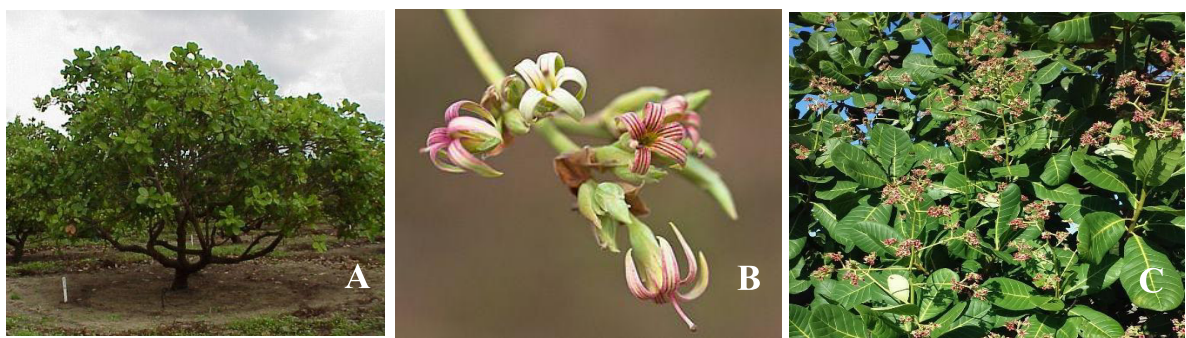


Figura 1. Aspectos gerais da árvore de *A. occidentale*. Cajueiro anão precoce (A), Flores (B) (Fonte: disponível em: www.agencia.cnptia.embrapa.br) e Folhas (C) (Fonte: Arquivo pessoal).

Praticamente todas as partes do cajueiro são utilizadas: as folhas, flores, caule e da castanha, ou fruto verdadeiro, obtêm-se a amêndoa e o líquido da casca da castanha, ambos são, em grande parte, exportados na forma de amêndoa semi-processada e óleo bruto, respectivamente; o pseudofruto, ou pedúnculo é utilizado na obtenção de inúmeros produtos, como a cajuína, o suco integral, néctares, licores, refrigerantes, aguardentes, sorvetes, doces entre outros (AGOSTINI; SILVEIRA, 2004).

2.2.1 Componentes químicos

Os estudos fitoquímicos da espécie *A. occidentale*, de forma geral, tem sido realizado a partir das cascas do caule, folhas, frutos, pseudofrutos e goma, dos quais foram isolados diversos compostos químicos, entretanto, poucos grupos avaliaram a química e o potencial biológico das flores.

Recentemente, Vilar et al. (2016) utilizando Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) para análise de compostos fenólicos identificou a presença de ácido gálico, catequina, epicatequina e epigallocatequina na casca do caule de *A. occidentale*. Associando em parte esses compostos a ação moduladora na resposta inflamatória.

Chaves et al. (2010) isolaram e identificaram a presença de uma mistura de ácidos anacárdicos, com cadeia lateral insaturada, esteroides livres, glicolicosilados e esterificados com ácidos graxos em extrato das cascas. Por outro lado, no extrato etanólico do tegumento da castanha de caju *in natura* foram identificados os esteroides sitosterol e estigmasterol, os triterpenoides pentacíclicos como o lupeol e β -amirina e os flavanóis: catequinas e epicatequina. Além disso, o extrato etanólico das cascas do caule apresentou maior conteúdo de compostos fenólicos e maior potencial antioxidante, segundo esses autores.

Silva et al. (2016) ao investigarem a composição química de extratos das flores, folhas e cascas de *Anacardium occidentale* mostraram que todos eles apresentavam metabólitos secundários bioativos, como os compostos fenólicos, esteroides, triterpenos, saponinas, flavonóides e taninos hidrolisáveis e não hidrolisáveis, sendo que a presença de muitos desses compostos era mais fortemente positiva nas flores.

2.2.2 Atividade antimicrobiana de *Anacardium occidentale* L.

Todas as partes de *A. occidentale* têm sido utilizadas em ensaios pré-clínicos, na tentativa de elucidar as mais diversas propriedades farmacológicas dessa espécie vegetal. Popularmente, infusões e chás da casca e das folhas são utilizados como analgésico, diurético, enxaguante bucal, no tratamento da astenia, problemas respiratórios, gripe, bronquite, tosse, escorbuto, eczema infantil, infecções genitais, sarna, doenças da pele, verrugas e feridas (LORENZI; MATOS, 2002; MAZZETTO, 2009). É uma das 71 espécies vegetais incluídas na Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse do SUS (RENISUS) (BRASIL, 2009).

Segundo dados etnobotânicos a casca do caule é utilizada para o tratamento de doenças gástricas e inflamatórias, e as folhas são utilizadas para tratar hipertensão, asma, diabetes, bronquites e distúrbios intestinais. (SOKENG et al., 2007). O fruto é considerado estimulante, anti-helmíntico e também usado para tratar diarreias, febre, lepra, perda de apetite, úlceras, verrugas (BORBA; MACEDO, 2006). O pseudofruto é empregado como antissifilítico, cicatrizante, icterícias e inflamações (LUZ, 2001).

A atividade antimicrobiana das várias partes de *A. occidentale* vem sendo alvo de prospecção de produtos antibióticos. Segundo Kudi et al. (1999) o extrato etanólico das folhas e o das cascas do caule de *A. occidentale* tem ação antimicrobiana contra bactérias Gram-negativas como *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*.

Os resultados obtidos por Akinpelu (2001) demonstraram a atividade antimicrobiana do extrato metanólico da casca do caule de *A. occidentale*, para vários microorganismos, mas sobretudo contra *Klebsiella pneumoniae*, resistente à Estreptomicina. O estudo realizado por Aiswarya et al. (2011) comprovaram ação antimicrobiana dos extratos obtidos a partir do pseudofruto de *A. occidentale* para cepas Gram-positivas como *Bacillus cerus* (ATCC 11778) e bactérias Gram-negativas como *Klebsiella pneumoniae*.

Já em relação aos estudos utilizando extratos obtidos a partir das flores de *A. occidentale* são mais escassos. Todavia, Silva et al. (2016), realizaram testes avaliando comparativamente a atividade antimicrobiana de extratos obtidos a partir da casca do caule, folhas e flores de *A. occidentale*, mostraram que o extrato das flores apresenta um efeito antimicrobiano mais potente pois foi efetivo contra 14 linhagens diferentes de bactérias,

incluindo tanto cepas Gram-negativas, como Gram-positivas, além de também ser efetivo contra *Candida albicans* e *Candida tropicalis*. Além disso, os mesmos autores comprovaram que o extrato das flores também apresentava importante atividade antioxidante, e resultados mais fortemente positivos quanto a presença de metabólitos secundários bioativos.

Os resultados em conjunto nos motivaram a investigar o potencial antimicrobiano do extrato das flores *in vivo*, utilizando camundongos diabéticos, por serem também os mais resistentes aos tratamentos com antimicrobianos.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

Avaliar o efeito do tratamento com extrato das flores de *Anacardium occidentale* L. em modelo experimental de sepse em camundongos diabéticos.

3.2 Específicos

✓ Avaliar o efeito do extrato de *A. occidentale* na sobrevivência dos animais diabéticos que desenvolveram sepse, considerando sua eficácia sobre a migração celular, efeito sobre o exsudado inflamatório peritoneal e a celularidade de diferentes órgãos e locais.

✓ Quantificar a ação antimicrobiana do extrato de *A. occidentale* sobre as bactérias causadoras da sepse.

✓ Avaliar a produção de mediadores inflamatórios.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADA - AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 38: 8-16; 2015.
- AGOSTINI C, SILVEIRA T. Teores de ácido anacárdico em pedúnculos de cajueiro *Anacardium microcarpum* e em oito clones de *Anacardium occidentale* var. *nanum* disponíveis no Nordeste do Brasil. *Ciência Rural*, 34:1075–1080; 2004.
- AHMED A, AZIM A, GURJAR M, BARONIA. A Current concepts in combination antibiotic therapy for critically ill patients. *Indian Journal of Critical Care Medicine*, 18: 56-60; 2014.
- AISWARYA G, REZA K, RADHIKA G, MOHAMED FAROOK S. Study for antibacterial activity of cashew apple (*Anacardium occidentale*) extracts. *Der Pharmacia Lettre*, 3: 193-200; 2011.
- AKINPELU DA. Antimicrobial activity of *Anacardium occidentale* bark. *Fitoterapia*, 72: 286-287; 2001.
- ALBUQUERQUE J M D. Plantas Mediciniais de uso popular. Brasília, ABEAS, 1989.
- ALMEIDA FAG. et al. Estudos fenológicos de plantas enxertadas de cajueiro anão sob condições de irrigação. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 17: 71-84; 1995.
- ALOBAIDI R, BASU R, GOLDSTEIN S, BAGSHAW S. Sepsis-Associated Acute Kidney Injury. *Seminars in Nephrology*, 35: 2-11; 2015.
- ANGUS D, LINDE-ZWIRBLE W, LIDICKER J, CLERMONT G, CARCILLO J, PINSKY M. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Critical Care Medicine*, 29: 1303-1310; 2001.
- ANGUS DC, POLL TVD. Severe Sepsis and Septic Shock. *New England Journal of Medicine*, 369:840-851; 2013.
- ASRAFUZZAMAN M, CAO Y, AFROZ R, KAMATO D, GRAY S, LITTLE P. Animal models for assessing the impact of natural products on the etiology and metabolic pathophysiology of Type 2 diabetes. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 89: 1242-125; 2017.
- BARROS LM. Biologia floral, colheita e rendimento do cajueiro. *In: Lima VPMS. (Org.). A cultura do cajueiro no Nordeste do Brasil. Fortaleza: BNB/ETENE, 301-319; 1988.*
- BARROS LM. Botânica, origem e distribuição geográfica. *In: Araújo, J. P. P.; Silva, V. V. (Org.). Cajucultura: modernas técnicas de produção. Fortaleza: EMBRAPA-CNPc, 55-71; 1995.*
- BARROS LM. et al. Cajueiro. *In: Bruckner, C.H. (Ed). Melhoramento de fruteiras tropicais. Viçosa: UFV, 159-176; 2002.*
- BARROS LM. et al. Recomendações técnicas para a cultura do cajueiro anão precoce. Fortaleza: EMBRAPA/CN, 65; 1993. (EMBRAPA-CNPAT. Circular Técnica, 1).

- BENJAMIM CF. Atualização sobre mediadores e modelos experimentais de sepse. Simpósio Medicina Intensiva Medicina, 34: 18-36; 2001.
- BERTON AG, SAYDAH S, BRANCAT FL. Diabetes and the Risk of Infection Related Mortality in the U.S. Diabetes Care, 24: 1044-1049; 2001.
- BONE RC, BALK RA, CERRA FB et al. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference: definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. Critical Care Medicine, 20: 864-874; 1992.
- BORBA AM; MACEDO M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro de Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. Acta Botânica, 771-782; 2006.
- BRASIL, MINISTÉRIO DA SAÚDE. Plantas de interesse ao SUS. 2009. Disponível em:<<http://portalsaude.saude.gov.br/index.php/cidadao/principal/agencia-saude/noticias-antiores-agencia-saude/3487-ms-elabora-relacao-de-plantas-medicinais-de-interesse-ao-sus>>. Acesso em: 10 set. 2017.
- BURAS JA, HOLZMANN B, SITKOVSKY ML. Model organisms: Animal Models of sepsis. Nature Reviews Drug Discovery, 4: 854-865; 2005.
- CHAVES MH, CITO AMGL, LOPES JAD, COSTA DA, OLIVEIRA CAA, COSTA AF, BRITO-JUNIOR FEM. Total phenolics, antioxidant activity and chemical constituents from extracts of *Anacardium occidentale* L., Anacardiaceae. Brazilian Journal of Pharmacognosy, 20: 106-112; 2010.
- CRISÓSTOMO JR. et al. Melhoramento do cajueiro-anão precoce: avaliação da qualidade do pedúnculo e a heterose dos seus híbridos. Revista Brasileira de Fruticultura, 24: 477-480; 2002.
- CRISÓSTOMO LA. et al. Cultivo do cajueiro anão precoce: aspectos fitotécnicos com ênfase na adubação e na irrigação. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical. (Embrapa Agroindústria Tropical. Circular Técnica, 08:8; 2003.
- CRUZ G. Dicionário de Plantas úteis do Brasil. Rio de Janeiro, RJ, Ed. Civilização Brasileira, 1985.
- DAI S, TODD M, LEE S, MCNEILL J. Fructose loading induces cardiovascular and metabolic changes in nondiabetic and diabetic rats. Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 72: 771-781; 1994.
- DANDONA P, ALJADA A, CHAUDHURI A, MOHANTY P. Endothelial dysfunction, inflammation and diabetes. Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders, 5:189–197; 2004.
- DE LA RICA A, GILSANZ F, MASEDA E. Epidemiologic trends of sepsis in western countries. Annals of Translational Medicine, 4:325-335; 2016.
- DEJAGER L, PINHEIRO DEJONCKHEERE E, LIBERT C. Cecal ligation, puncture and I: the gold standard model for polymicrobial sepsis? Trends in Microbiology, 19:198-208; 2011.
- DEUTSCHMAN CS, TRACEY KJ. Sepsis: Current Dogma and New Perspectives. Immunity Review, 40: 463-475; 2014.

- FERRER R, MARTIN-LOECHES I, PHILLIPS G, OSBORN T, TOWNSEND S, DELLINGER R, ARTIGAS A, SCHORR C, LEVY M. Empiric Antibiotic Treatment Reduces Mortality in Severe Sepsis and Septic Shock From the First Hour: Results From a Guideline-Based Performance Improvement Program. *Critical Care Medicine*, 42: 1749-1755; 2014.
- FILGUEIRAS L, MARTINS J, SEREZANI C, CAPELOZZI V, MONTES M, JANCAR S. Sepsis-Induced Acute Lung Injury (ALI) Is Milder in Diabetic Rats and Correlates with Impaired NFkB Activation. *Plos One*, 7: 1-9; 2012.
- FLEISCHMANN C, SCHERAG A, ADHIKARI N, HARTOG C, TSAGANOS T, SCHLATTMANN P, ANGUS D, REINHART K. Assessment of global incidence and mortality of hospital-treated sepsis: current estimates and limitations. *American Journal of Respiratory and Critical Care Medicine*, 193: 259-72; 2016.
- HININGER-FAVIER I, BENARABA R, COVES S, ANDERSON R, ROUSSEL A. Green Tea Extract Decreases Oxidative Stress and Improves Insulin Sensitivity in an Animal Model of Insulin Resistance, the Fructose-Fed Rat. *Journal of The American College of Nutrition*, 28:355-361; 2009.
- HOTCHKISS RSS, KARL I E. The Pathophysiology and Treatment of Sepsis. *The New England Journal of Medicine*, 2: 139-149; 2003.
- HOTCHKISS RSS, MONNERET G, PAYEN, D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy. *Nature Reviews Immunology*, 13: 862-874; 2013.
- IDF - INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *Diabetes Atlas* [Internet]. 6a ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2015. Disponível em: Acesso em: 07/09/2017.
- IDF - INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. *Diabetes Atlas* [Internet]. 6a ed. Brussels: International Diabetes Federation, 2014. Disponível em: Acesso em: 07/09/2017.
- KAECH C, ELZI L, SENDI P, FREI R, LAIFER G, BASSETTI S, FLUCKIGER U. Course and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteraemia: a retrospective analysis of 308 episodes in a Swiss tertiary-care centre. *Clinical Microbiology and Infection*, 12: 345-352; 2006.
- KEELEY A; HINE P; NSUTEBU EL. The recognition and management of sepsis and septic shock: a guide for non-intensivists. *Postgraduate Medical Journal*, 93: 1-9; 2017.
- LAGU T, ROTHBERG M, SHIEH M, PEKOW P, STEINGRUB J, LINDENAUER P. Hospitalizations, costs, and outcomes of severe sepsis in the United States 2003 to 2007. *Critical Care Medicine*, 40: 754-761; 2012.
- LERMAN YV, KIM M. Neutrophil Migration under normal and sepsis conditions. *Cardiovascular & Hematological Disorders-Drug Targets*, 1:19-28; 2015.
- LUZ CLS, PIRANI JR. *Anacardiaceae In: Flora do Brasil 2020 em construção*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB4381>>. Acesso em: 08/09/2017
- LUZ FJF. Plantas medicinais de uso popular em Boa Vista, Roraima, Brasil. *Horticultura Brasileira*, 19: 86-96; 2001.

- MACHADO F, CAVALCANTI A, BOZZA F, FERREIRA E, ANGOTTI CARRARA F, SOUSA J, CAIXETA N, SALOMAO R, ANGUS D. The epidemiology of sepsis in Brazilian intensive care units (the Sepsis prevalence Assessment Database, SPREAD): an observational study. *The Lancet Infectious Diseases*, 5: 1-10; 2017.
- MACIEL M, FARIAS J, MALUF M, GOMES E, PEREIRA, ARAGÃO-FILHO W, FRAZÃO J, COSTA G, SOUSA S, SILVA L, AMARAL F, RUSSO M, GUERRA R, NASCIMENTO F. *Syzygium jambolanum* treatment improves survival in lethal sepsis induced in mice. *Bmc Complementary and Alternative Medicine*, 8: 1-7; 2008.
- MATOS JA. *Plantas Medicinais: Guia de seleção e emprego de plantas usadas em fitoterapia no Nordeste do Brasil*. 2ª Ed. Imprensa Universitária - UFC, Ceará, Brasil, 2000.
- MAZZETTO SE, LOMONACO D. Óleo da castanha de caju: oportunidades e desafios no contexto do desenvolvimento e sustentabilidade industrial. *Química Nova*, 32: 732-741; 2009.
- MORATH S, GEYER A, HARTUNG T. Structure–Function Relationship of Cytokine Induction by lipoteichoic acid from *Staphylococcus aureus*. *The Journal of experimental medicine*, 193: 393-397; 2001.
- MOUTZOURI A, ATHANASSIOU G, DIMITROPOULOU D, SKOUTELIS A, GOGOS C. Severe sepsis and diabetes mellitus have additive effects on red blood cell deformability. *The Journal of infection*, 57: 147-151; 2008.
- O'BRIEN JM, NAEEM AA, ABEREGG SK, et al. Sepsis. *The American Journal of Medicine*, 120: 1012-22; 2007.
- RHODES A, EVANS L, ALHAZZANI W, LEVY M, ANTONELLI M, FERRER R, KUMAR A, SEVRANSKY J, SPRUNG C, NUNNALLY M. Surviving Sepsis Campaign: International Guidelines for Management of Sepsis and Septic Shock. *Intensive Care Medicine*, 43: 304-377; 2017.
- RICE T W, BERNARD GR. Therapeutic intervention and targets for sepsis. *Annual Review of Medicine*, 2: 225-248; 2005.
- RUSSELL J A. Management of Sepsis. *New England Journal of Medicine*, 355: 1699-1713; 2006.
- SALOMÃO R, MARTINS P, BRUNIALTI M, FERNANDES M, MARTOS L, MENDES M, GOMES N. TLR signaling pathway in patients with sepsis. *Shock*, 30: 73-76; 2008.
- SCHUETZ P, YANO K, SORASAKI M, NGO L, ST HILAIRE M, LUCAS J, AIRD W, SHAPIRO N. Influence of diabetes on endothelial cell response during sepsis. *Diabetologia*, 54: 996-1003; 2011.
- SEYMOUR C, LIU V, IWASHYNA T, BRUNKHORST F, REA T, SCHERAG A, RUBENFELD G, KAHN J, SHANKAR-HARI M, SINGER M. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis. *Journal American Medical Association*, 315: 762-767; 2016.
- SHANKAR-HARI M, PHILLIPS G, LEVY M, SEYMOUR C, LIU V, DEUTSCHMAN C, ANGUS D, RUBENFELD G. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock. *Journal American Medical Association*, 315: 775-787; 2016.

SILVA RA, LIBERIO S, AMARAL F, RAQUEL F, MARIA L, TORRES B, NETO V, NASSAR R, GUERRA M. Antimicrobial and Antioxidant Activity of *Anacardium occidentale* L. Flowers in Comparison to Bark and Leaves Extracts. *Journal of Biosciences and Medicine*, 4:87-99; 2016.

SILVA, TA. *Anacardium occidentale* L.: ação sobre a inibição enzimática, glicemia e produção de insulina no diabetes murino. 2015. 97 f. Tese (Doutorado) – Rede Nordeste de Biotecnologia - RENORBIO, Universidade Federal do Maranhão, São Luís, 2015. Cap. 2.

SINGER M, DEUTSCHMAN C, SEYMOUR C, SHANKAR-HARI M, ANNANE D, BAUER M, BELLOMO R, BERNARD G, CHICHE J. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *Journal American Medical Association*, 315: 801-810; 2016.

SOGAYAR A, MACHADO F, REA-NETO A, DORNAS A, GRION C, LOBO S, TURA B, SILVA C, CAL R, BEER I, MICHELS V, SAFI J, KAYATH M. A Multicenter, Prospective Study to Evaluate Costs of Septic Patients in Brazilian Intensive Care Units. *PharmacoEconomics*, 5: 425-434; 2008.

SOKENG S, LONTSI D, MOUNDIPA P, JATSA H, WATCHO P, KAMTCHOUING P. Hypoglycemic Effect of *Anacardium occidentale* L. Methanol Extract and Fractions on Streptozotocin-induced Diabetic Rats. *Global Journal of Pharmacology*, 1:1-5; 2007.

STARK A H; TIMAR B; MADAR Z. Adaption of Sprague Dawley rats to long-term feeding of high fat of high fructose diets. *European Journal of Nutrition*, 39: 229-234; 2000.

STOECKLE M, KAECH C, TRAMPUZ A, ZIMMERLI W. The role of diabetes mellitus in patients with bloodstream infections. *SWISS MEDICAL WEEKLY*, 138: 512-519; 2008.

THOMSEN R, HUNDBORG H, LERVANG H, JOHNSEN S, SCHØNHEYDER H, SØRENSEN H. Diabetes Mellitus as a Risk and Prognostic Factor for Community-Acquired Bacteremia Due to Enterobacteria: A 10-Year, Population-Based Study among Adults. *Clinical Infectious Diseases*, 40:628-631; 2005.

VILAR M, SOUSA G, LEITE J. Assessment of Phenolic Compounds and Anti-Inflammatory Activity of Ethyl Acetate Phase of *Anacardium occidentale* L. Bark. *Molecules*, 21:1-17; 2016.

WICHTERMAN KA; BAUE AE; CHAUDRY R H. Sepsis and Septic Shock -A Review of Laboratory Models and a Proposal. *Journal of Surgical Research*, 29:189-201; 1980.

WILSON RD; ISLAM MDS. Fructose-fed streptozotocin-injected rat: an alternative model for type 2 diabetes. *Pharmacological Reports*, 64: 129-139; 2012.