

**UNIVERSIDADE FEDERAL DA GRANDE DOURADOS**  
**FACULDADE DE CIÊNCIAS DA SAÚDE**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**Erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): consumo, composição química e  
influência sobre o metabolismo**

**KARIMI SATER GEBARA**

**Dourados, MS**

**2019**

**KARIMI SATER GEBARA**

**Erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): consumo, composição química e influência sobre o metabolismo**

Exame de Qualificação apresentado ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Faculdade de Ciências da Saúde da Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD), para obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde

Área de concentração: Farmacologia

Orientador: Prof. Dr. Arquimedes Gasparotto Júnior

Dourados - MS

2019

## DEDICATÓRIAS

*Aos meus meninos: Rafael e Felipe.*

## AGRADECIMENTOS

À Deus, que esteve comigo em todas as etapas de execução desse projeto e que me fortaleceu diante das dificuldades.

Ao Ricardo, esposo que me apoia, me incentiva e me traz paz. Minha outra parte. Aos meus filhos Rafael e Felipe, que fazem de mim uma pessoa melhor e que trazem alegria e conforto naqueles momentos mais difíceis da pesquisa. Meus amores!

Aos meus pais, Gassen e Nádia, quem me inspiro e me acolho, e à minha sogra, Dona Maria, que me apoiaram e cuidaram dos netinhos.

Ao meu irmão Jaber e minha cunhada Thaís pelo carinho, atenção e apoio emocional. Vocês foram essenciais!

Ao meu orientador Dr. Arquimedes pelo apoio, otimismo e também por me ensinar que a resiliência e o amor pela pesquisa são segredos do bom pesquisador.

Ao Dr. Euclides Lara Cardoso Júnior por me acompanhar na realização do projeto durante todo o doutoramento.

A todos os alunos que participaram direta e indiretamente da execução dessa pesquisa, como Carla Bonetti, Célhia Ferreira, Ester Genke, Bianca Franzoso, Ana Luisa Bertolli, Geovana Travaim, João Vitor Cristaldo, Lara de Lima Dorneles, Paula Gozzi e Martha de Mello.

A todos que aceitaram participar desse ensaio clínico como voluntários, pois fizeram isso por acreditarem na seriedade da pesquisa.

## EPÍGRAFE

*Não há lugar para sabedoria onde não há paciência.*

(Santo Agostinho).

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1.</b> Lipoproteínas e transporte de lipídeos.	<b>23</b>
<b>Figura 2.</b> Feedback entre as células $\beta$ e tecidos insulino-sensíveis.	<b>30</b>
<b>Figura 3.</b> Interação das adipocinas, citocinas e marcadores endoteliais que contribuem para o desenvolvimento da síndrome metabólica e suas complicações.	<b>44</b>
<b>Figura 4.</b> Folhas de erva-mate.	<b>45</b>
<b>Figura 5.</b> Desidratadores de erva-mate.	<b>47</b>
<b>Figura 6.</b> Sapegador rotativo de erva-mate.	<b>48</b>
<b>Figura 7.</b> Esquema de processamento da erva-mate para obtenção de tereré e chimarrão.	<b>49</b>
<b>Figura 8.</b> Estrutura molecular dos alcaloides purínicos.	<b>57</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

[HbA1c]	Hemoglobina glicada
ABTS	3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico
ACAT	Colesterol aciltransferase
ADMA	Dimetilarginina assimétrica
AG	Ácidos graxos
AMP	5'-monofosfato-adenosina
AMPK	Proteína quinase dependente AMP
Apo100	Apolipoproteína 100
ApoB	Apolipoproteína B
ATP	Adenosina trifosfato
AUC	Área sob a curva
BRA	Bloqueadores dos receptores de angiotensina
Ca	Cálcio
CA	Circunferência abdominal
CEPT	Proteína de transferência de ésteres de colesterol
CGA	Ácidos clorogênicos
cm	Centímetros
CQA	Monoésteres do ácido caféico
CsiQA	Di-ésteres do ácido caféico e sinápico
CT	Colesterol total
DAG	Diacilglicerol
DCV	Doenças cardiovasculares
DE	Disfunção endotelial
di-CQAs	di-cafeoilquínicos
dL	Decilitro
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
EC	Éster de colessterila

ET-1	Endotelina-1
FQA	Ácido ferrúlico
g	Gramma
GDP	Difosfato de guanosina
GLUT-2	Transportador de glicose tipo 2
GLUT-4	Transportador de glicose tipo 4
GTP	Trifosfato de guanosina
HDL-c	Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA
HM74A	Receptor ácido nicotínico
HOMA-IR	Homeostatic model assessment
ICAM-1	Moléculas de adesão intercelular-1
IDL	Lipoproteínas de densidade intermediária
IECA	Inibidores da enzima conversora de angiotensina
IL-6	Interleucina-6
IL-8	Interleucina-8
IMC	Índice de massa corpórea
IP3	Trifosfato de inositol
IRS-1	Receptor de insulina
K	Potássio
Kg	Quilograma
L	Litro
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteínas de baixa densidade
LDLox	Lipoproteínas de baixa densidade oxidada
MDA	Malondialdeído
mg	Miligrama
mm Hg	Milimetro de Mercúrio
Mmol	Milimol
mono-CQAs	mono-dicafeoilquínicos
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NFkB	Fator nuclear kappa B



NO	Óxido nítrico
°C	Grau Célsius
OMS	Organização Mundial de Saúde
PA	Pressão arterial
pCoQA	Ácido p-cumárico
PCR	Proteína C-Reativa
PCSK9	Subtilisina kexina convertase tipo 9
PKC	Proteína quinase C
PKC	Proteína quinase
PON-1	Paraxonase-1 plasmática
RI	Resistência à insulina
ERO	Espécies reativas de oxigênio
RI	Resistência à insulina
SGLTs	Co-transportadores sódio-glicose
SM	Síndrome metabólica
TAG	Triacilglicerol
TG	Triglicerídeos
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral- $\alpha$
TOTG	Teste oral de tolerância à glicose
VCAM-1	Proteína de adesão celular vascular-1
VLDL	Lipoproteínas de muito baixa densidade

## **Erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): consumo, composição química e influência sobre o metabolismo.**

### **RESUMO**

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é utilizada na preparação de bebidas tônicas e estimulantes e recentemente esta espécie tem sido estudada pelos efeitos biológicos benéficos principalmente relacionados à saúde cardiovascular e ao metabolismo glicêmico. Esses benefícios são atribuídos principalmente à presença de compostos fenólicos derivados do ácido clorogênico. Buscou-se nesse ensaio quantificar o aporte de compostos fenólicos em consumidores de erva-mate em bebidas típicas chimarrão e tereré, avaliar os possíveis benefícios de erva-mate no metabolismo lipídico e glicêmico em humanos e verificar possíveis mecanismos desses benefícios em estudos com marcadores bioquímicos e antropométricos. Inicialmente, foi realizado um levantamento com 450 consumidores de tereré e chimarrão da cidade de Toledo-PR que responderam um questionário socioeconômico e sobre hábitos de consumo das bebidas típicas. O volume médio diário ingerido de chimarrão e tereré foi de 942,84 mL e 271,62 mL, respectivamente. Após o levantamento das informações das entrevistas, foram realizadas extrações que simularam o consumo de tereré e chimarrão e estimou-se que em cada 100 mL de bebida ingerida, a quantidade total de compostos fenólicos extraídos é de 673,6 mg no chimarrão e 271,62 mg no tereré. Monodicafeoilquínicos constituem cerca de 38,4% dos compostos fenólicos do chimarrão e 55,3% do tereré. A ingestão diária de compostos fenólicos no chimarrão varia de 529,6 a 1.765,4 mg/dia e no tereré a variação é de 583,1 a 1779,7 mg/dia. O ensaio clínico consistiu em um estudo experimental randomizado, duplo-cego e cruzado e os sujeitos da pesquisa foram homens saudáveis, com idade entre 45 a 65 anos. Os voluntários tomaram durante 4 semanas cápsulas de placebo ou de extrato seco de erva-mate, que forneceram cerca de 580 mg de ácidos clorogênicos, 75 mg de cafeína e 8 mg de teobromina por dia. Parâmetros antropométricos e hemodinâmicos (circunferência abdominal, peso, índice de massa corpórea, pulso, pressão arterial) e variáveis bioquímicas (perfil lipídico e glicêmico) foram verificados nos voluntários em jejum, antes e após cada período de intervenção. Não foram encontradas diferenças estatísticas significativas entre erva-mate e placebo nos parâmetros investigados. No entanto, foi observada diferença estatisticamente significativa entre os níveis de glicemia em jejum antes ( $4,99 \pm 0,09$  mmol/L) e depois ( $4,42 \pm 0,09$  mmol/L) do consumo de extrato

de erva-mate. As concentrações plasmáticas da curva glicêmica, insulina e HOMA-IR mostrou tendência de redução para com o consumo da erva-mate. Níveis de HDL-c apresentaram importante elevação, embora não estatisticamente significativa. Embora o ensaio não revelou diferenças significantes entre os grupos de tratamento (erva-mate x placebo) sugere-se um interesse em potencial do consumo da espécie para a melhoria do controle glicêmico e lipídico.

**Palavras-chave:** síndrome metabólica; ácidos clorogênicos; dislipidemia; diabetes mellitus tipo 2; ensaio clínico.

## **Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.): consumption, chemical composition and influence on metabolism.**

### ***ABSTRACT***

*Ilex paraguariensis* St. Hil. is used in the preparation of tonic and stimulant beverages and recently this species has been studied for beneficial biological effects mainly related to cardiovascular health and glycemic metabolism. These benefits are mainly attributed to the presence of phenolic compounds derived from chlorogenic acid. The aim of this study was to quantify the contribution of phenol compounds to the consumption of maté in typical beverages, to evaluate the possible benefits on lipid and glycemic metabolism in humans and to verify the possible mechanisms of these benefits in studies with biochemical markers and anthropometric. Initially, a survey was conducted with 450 consumers of terere and chimarrão from the city of Toledo, PR, who answered a socioeconomic questionnaire and about habits of consumption of typical beverages. The average daily intake of chimarrão and tereré was 942.84 mL and 271.62 mL, respectively. After collected the information from the interviews, extractions were performed that simulated the consumption of terere and chimarrão and it was estimated that in each 100 mL of ingested beverage, the total amount of phenolic compounds extracted is 673.6 mg in the chimarrão and 271.62 mg in the terere. Mono-dicafeoilquinones constitute about 38.4% of the phenolic compounds of the chimarrão and 55.3% of terere. The daily intake of phenolic compounds in the chimarrão ranges from 529.6 to 1765.4 mg/day and in terere the variation is from 583.1 to 1779.7 mg/day. The clinical trial consisted of a randomized, double-blind, cross-over trial and the subjects were healthy men aged 45 to 65 years. The volunteers took 4-week placebo or dry-mate capsules, which provided about 580 mg of chlorogenic acids, 75 mg of caffeine and 8 mg of theobromine per day. Anthropometric and hemodynamic parameters (abdominal circumference, weight, body mass index, pulse, blood pressure) and biochemical variables (lipid and glycemic profile) were verified in fasting volunteers, before and after each intervention period. No significant statistical differences were found between yerba mate and placebo in the investigated parameters. However, a statistically significant difference was observed between fasting glycemia levels before ( $4.99 \pm 0.09$  mmol/L) and after ( $4.42 \pm 0.09$  mmol/L) consumption of yerba mate extract. Plasma concentrations of the glycemic curve, insulin and HOMA-IR showed a tendency to decrease with the consumption of yerba mate. HDL-c levels presented a significant elevation, although

not statistically significant. Although the trial did not reveal significant differences between the treatment groups (maté x placebo) it is suggested a potential interest in the consumption of the species for the improvement of glycemic and lipid control.

**Keywords:** metabolic syndrome; chlorogenic acids; dyslipidemia; diabetes mellitus type 2; clinical trial.

## SUMÁRIO

1 Introdução.....	15
2 REVISÃO DE LITERATURA .....	20
2.1 Doenças crônicas: aspectos epidemiológicos, fisiopatológicos e clínicos .....	20
2.1.1 O metabolismo lipídico e as doenças cardiovasculares.....	20
2.1.2 O metabolismo glicêmico.....	27
2.1.3 Síndrome metabólica.....	31
2.1.3.1 Fisiopatologia da Síndrome Metabólica.....	33
2.1.3.2 Terapêutica da Síndrome Metabólica.....	34
2.1.3.3 Síndrome Metabólica e seus biomarcadores .....	39
2.2. <i>Ilex paraguariensis</i> A. St. -Hil. ....	44
2.2.1. Aspectos botânicos e etnobotânicos .....	44
2.2.2 Beneficiamento da erva-mate .....	46
2.2.3 Estudos pré-clínicos e atividades biológicas gerais.....	50
2.2.4 Ensaio clínico e efeitos na saúde humana .....	54
2.2.5. Composição química .....	55
2.2.5.1. Derivados cafeiolquínicos .....	58
2.2.5.1.1. Absorção e metabolismo dos derivados cafeiolquínicos.....	59
2.2.5.1.2. Ácidos clorogênicos e o metabolismo lipídico.....	60

2.1.5.1.3. Ácidos clorogênicos e o metabolismo glicêmico .....	61
3. Objetivos.....	64
3.1. Objetivo Geral: .....	64
3.2. Objetivos específicos:.....	64
4 Referências Bibliográficas.....	65
5 APÊNDICES .....	91
5.1 Artigo 1: Daily intakes of caffeoylquinic acids in mate ( <i>Ilex paraguariensis</i> A.St.-Hil.) traditional beverages consumption. ....	92
5.2 Artigo 2: Maté Extract ( <i>Ilex paraguariensis</i> A. St.-Hill.) contributes to the improvement of glycemic metabolism: a randomized crossover study in healthy to moderate cardiovascular risk volunteers. ....	100
6 CONCLUSÕES .....	129
7 ANEXOS .....	130

## 1 INTRODUÇÃO

A síndrome metabólica (SM) é um conjunto de componentes desencadeados pela supernutrição e estilo de vida sedentário, que refletem no excesso de adiposidade. Entre esses componentes destacam-se a gordura abdominal, resistência à insulina, hipertensão e dislipidemias. Eles estão associados com outras comorbidades, como estado pró-trombótico, esteatose hepática não alcoólica, estado pró-inflamatório e até desordens reprodutivas (Cornier *et al.*, 2008). Não há tratamento específico para a síndrome. A mudança de hábitos de vida e os fármacos são direcionados para as patologias que estão evidentes, como a dislipidemia e diabetes (I-DBSM).

As dislipidemias estão entre as maiores causas de mortalidade mundial, pois são associadas às doenças cardiovasculares (DCV) (SBC, 2017). Em alguns casos, a população atingida possui uma pré-disposição à enfermidade, porém, na maioria dos casos, é uma consequência de maus hábitos alimentares e físicos. Quando há associação das dislipidemias à hipertensão arterial e obesidade, torna-se ainda mais significativo o desenvolvimento desta enfermidade (Scherr *et al.*, 2007).

A maioria das DCV é causada por complicações da aterosclerose, que é uma doença inflamatória crônica caracterizada pelo desenvolvimento de placas ateroscleróticas na parede vascular. Fatores de risco podem criar um ambiente pró-oxidante e pró-inflamatório para início de seu desenvolvimento. Sintomas clínicos só aparecem depois de vários anos e, por isso, a prevenção é necessária. A aterosclerose está correlacionada com altos níveis plasmáticos de colesterol, de LDL oxidado e estresse oxidativo (Ross, 1999). É iniciada por uma disfunção endotelial desencadeada por vários fatores de risco aterogênico. Isto leva à adesão de monócitos e migração através da camada endotelial no espaço subendotelial. Monócitos se diferenciam em macrófagos e favorecem captação de LDL oxidadas, formando as células lipídicas ricas conhecidas como células esponjosas. A lesão é acompanhada pela proliferação de células musculares lisas, bem como formação da matriz extracelular e aterotrombose (Navab *et al.*, 2004; Wu *et al.*, 2017).

Outro componente da SM é a diabetes *mellitus*, que é caracterizada por hiperglicemia crônica de jejum e pós-prandial. Trata-se de um problema de saúde crescente em todos os países, independente do grau de desenvolvimento (SBD, 2018). A Federação Internacional de



Diabetes estimou há 425 milhões de pessoas entre 20 a 79 anos de idade com diabetes no mundo em 2017 (FID, 2017). Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), a glicemia elevada é o terceiro fator de causa de mortalidade pré-matura, perdendo somente para hipertensão e tabagismo.

Com o aumento da obesidade, mais casos de diabetes *melittus* tipo 2 (DM2) são diagnosticados. Os maiores danos causados por essa doença são os relacionados com a micro (retinopatia, nefropatia, neuropatia) e macro circulação (doença arterial coronariana, doença periférica arterial e acidente vascular encefálico) (Kahn *et al.*, 2014). Sujeitos com DM2 apresentam resistência à insulina (RI), o que potencializa o efeito hiperglicêmico plasmático (Skyler *et al.*, 2017).

Dietas à base de produtos ricos em fenóis têm sido associadas à inibição de certas doenças crônicas em seres humanos. Vários estudos epidemiológicos examinaram o efeito protetor dos compostos polifenólicos (frutas e sucos de frutas, chá, vinho, cacau) sobre as doenças cardiovasculares (Turkmen *et al.*, 2006; Kuriyama *et al.* 2006; Ghosh *et al.*; 2009) e na DM2 (Rodriguez-Mateos *et al.*, 2014; Xiao e Hogger, 2015; Cremonini *et al.*, 2016). Pesquisas observacionais mostraram também uma associação inversa entre o consumo de algumas classes de polifenóis e de mortalidade geral ou risco de doença cardiovascular (Arts *et al.* 05; Mink *et al.* 2007; Hollman *et al.*, 2010). Isso foi evidenciado em trabalhos acadêmicos realizados em modelos animais com níveis nutricionais de flavonóides isolados (Norata *et al.* 2007; Auclair *et al.* 2009, Mauray *et al.*, 2009) e em humanos com alimentos ricos em flavonóides (Hooper *et al.*, 2008).

Os ácidos clorogênicos (CGAs) polifenóis derivados de uma família de ésteres formados entre certos ácidos trans-cinâmicos e ácido quínico. De forma geral os ácidos clorogênicos podem ser subdivididos em grupos de monoésteres do ácido caféico (CQA), ácido p-cumárico (pCoQA) e ácido ferrúlico (FQA); di, tri e tetra-ésteres do ácido caféico, respectivamente denominados di-CQA, tri-CQA e tetra-CQA; combinação de di-ésteres do ácido caféico e ferrúlico (FCQA) e de di-ésteres do ácido caféico e sinápico (CsiQA); e combinações de ésteres do ácido caféico e de ácidos oxálicos, succínicos e glutáricos (Clifford, 1999). Para cada grupo destes compostos existe certo número de isômeros identificados. Basicamente estes isômeros são formados devido às diferentes posições de esterificação por parte dos grupos acilo. Os ácidos mono e di-cafeoilquínicos estão presentes em diversas espécies de plantas e suas atividades vêm sendo estudadas em pesquisas *in vivo* e

*in vitro*. Entre os efeitos exibidos, destacam-se a atividade antioxidante e anti-inflamatória (Hung *et al.*, 2006; Sato *et al.*, 2011; Pimentel *et al.*, 2012) e o efeito hipoglicêmico (Ong *et al.*, 2011; Cardoso; Morand, 2016; Cho *et al.*, 2010).

A erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) é uma espécie rica em ácidos clorogênicos e tem origem em países do cone sul como Paraguai, Argentina e Brasil, onde a espécie é nativa da Formação Floresta Ombrófila Mista, também conhecida como Floresta com Araucária ou Mata de Pinheirais, um dos mais importantes ecossistemas da região Sul do Brasil. Essa espécie compõe o extrato arbóreo inferior da Mata com Araucária e apresenta especial interesse econômico, ecológico e social. O extrativismo da erva-mate foi motivo de intensa exploração comercial, sendo responsável por um dos mais importantes ciclos econômicos da região Sul do Brasil (Daniel, 2009).

No Brasil foram produzidas 619.003 toneladas de erva-mate em uma área colhida de 75.810 hectares, alcançando um rendimento médio de 8,18% e valor de produção de aproximadamente meio bilhões de reais (501,633 milhões) em 2017. A região sul do Brasil são responsáveis por 99,26% dessa produção, ficando somente 0,74% com a região centro-oeste (Brasil, 2018). As importações da erva-mate sempre são superiores às exportações. O principal destino das exportações é principalmente o Uruguai, que não tem água produtiva. A erva é exportada cancheada, beneficiada, solúvel e em extrato ou essência concentrados. A Argentina é o país que mais exporta para o Brasil, embora haja uma queda das remessas de erva-mate nos últimos anos em função dos altos preços negociados dentro do seu próprio território (Sindimate, 2013).

A espécie tem um importante papel na indústria de alimentos, onde há diversos produtos processados a partir de suas folhas e ramos, como o tereré, chimarrão, chá mate, chá verde, refrigerante, bebidas energéticas, ingredientes para produtos alimentícios) e desperta grande interesse na indústria química, principalmente no desenvolvimento de novos fármacos e cosméticos (Da Croce, 2002; Rocha Júnior, 2001).

O preparo das bebidas à base do mate é realizado sobretudo pelo processo de infusão. O processamento das folhas e a temperatura empregada para a extração é que diferenciam a classificação das bebidas típicas, como o chimarrão, tereré e o chá mate. Essas diferenças de processamento implicam em mudanças nas características organolépticas e de composição química das bebidas (Heck *et al.*, 2007).

A constituição química da erva-mate foi investigada por diversos autores demonstrando a riqueza química dessa planta. Como componentes principais destacam-se os nutrientes, minerais, vitaminas solúveis, alcaloides (metilxantinas, incluindo cafeína, teobromina e teofilina), terpenos (carotenoides e saponinas) e os compostos fenólicos (flavonoides e derivados do ácido clorogênico) (Dartora *et al.*, 2011; Souza *et al.*, 2011).

A quantidade total de cafeína e teobromina nos produtos comerciais da erva-mate estão relacionados ao modo de preparação e quantidade ingerida. Essa quantidade já foi comparada com a oferta de outras bebidas como café, bebidas energéticas, guaraná em pó e chocolate (Reginatto *et al.*, 1999; Hashihara *et al.*, 2007). Clifford e Ramirez-Martinez (1990) também analisaram teores de fenóis em amostras comerciais de erva mate e demonstraram a presença de derivados da quercetina e principalmente derivados do ácido clorogênico.

Bebidas típicas contendo erva-mate muito consumida e apresenta diversos benefícios à saúde, como atividade antimicrobiana, antioxidante, anti-inflamatória, efeito quimio-preventivo (Burris *et al.*, 2012; Bassani *et al.*, 2014; Souza *et al.*, 2015; Colpo *et al.*, 2017). Ensaios *in vivo* da espécie demonstraram atividade hipocolesterolêmica (Cho *et al.*, 2010; Fernandes, Machado, *et al.*, 2012), prevenção da aterosclerose e de doenças coronarianas (Santiago *et al.*, 2017), melhora o estado clínico do paciente com síndrome metabólica (Hussein *et al.*, 2011), efeito antiobesidade (Lima *et al.*, 2014) e hipoglicemiante (Pereira *et al.*, 2012). Ensaios clínicos também comprovaram sua atividade redutora da gordura corporal em pacientes sobrepeso (Kang *et al.*, 2012; Kim, H. J. *et al.*, 2012), melhora do controle glicêmico e do perfil lipídico em pacientes DM2 (Klein *et al.*, 2011). Muitos desses benefícios do mate são devidos à presença de ácidos clorogênicos em bebidas chimarrão e tereré, especialmente os derivados mono e di-cafeoilquínicos.

Poucas pesquisas clínicas foram realizadas com a *I. paraguariensis* para investigar a sua atividade no sistema cardiovascular e no metabolismo lipídico. Esse manuscrito buscou evidenciar a relação entre o consumo de bebidas típicas preparadas à base da erva-mate, especificamente tereré e chimarrão, com a saúde cardiovascular e com o metabolismo glicêmico. Para isso, a pesquisa foi organizada em três momentos: i) entrevistas com consumidores de erva-mate com o objetivo de realizar um levantamento sobre a quantidade de bebida típica ingerida por uma população; ii) extrações simuladas de erva-mate tereré e chimarrão, cujo objetivo foi levantar a quantidade de compostos fenólicos e metilxantinas

obtidas com o consumo popular; iii) ensaio clínico, que foi conduzido com voluntários sadios que receberam doses padronizadas do extrato de erva-mate.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Doenças crônicas: aspectos epidemiológicos, fisiopatológicos e clínicos

A prevalência de doenças crônicas no mundo é alta e muitos sistemas de saúde não conseguem sustentá-las. Nos Estados Unidos, no século passado, as taxas de mortalidade e morbidade das doenças crônicas ou não contagiosas ultrapassaram aquelas infecciosas ou contagiosas (Dwyer-Lindgren *et al.*, 2016). A mortalidade chega a 70% de todas as mortes no mundo e aproximadamente 80% de 16 milhões de indivíduos morrem prematuramente ou antes de atingir 70 anos de idade. Entre as doenças crônicas que mais levam à morte nos Estados Unidos, destacam-se as cardíacas, o câncer, as cerebrovasculares e diabetes *mellitus* (OMS, 2018).

A etiologia das doenças crônicas inclui idade, história familiar, predisposição genética, sobrepeso, práticas de atividade física, cigarro, álcool e dieta. Felizmente, muitas podem ser prevenidas com longas práticas de adesão a padrões alimentares, engajamento em atividades físicas e manutenção do peso corporal (Neuhouser, 2018, prelo). Dietas ricas em frutas, vegetais, grãos, baixo teor de carboidratos e gorduras, e proteínas magras foram definidas como dietas saudáveis padronizadas pelo Relatório Científico do Comitê Consultivo de Diretrizes Dietéticas (2015). Além disso, o consumo reduzido de gorduras saturadas, gordura *trans*, sódio e açúcar reduzem o risco de doenças crônicas como DM, DCV e câncer (Kimokoti; Millen, 2016).

#### 2.1.1 O metabolismo lipídico e as doenças cardiovasculares

Os fosfolipídios, o colesterol e os triglicerídeos (TG) e os ácidos graxos (AG) são lípidos importantes para o entendimento do metabolismo lipídico. Os AG e TG são moléculas de armazenamento. Os fosfolipídios e o colesterol são moléculas estruturais de membranas biológicas. Os triglicerídeos têm função principal de armazenamento e são formados por 3 moléculas de ácidos graxos e uma de glicerol. O colesterol é o principal esteroide dos tecidos animais e tem diferentes funções como constituinte de membrana, precursores de hormônios, síntese de ácidos biliares e da vitamina D. É o lípido que está relacionado com a incidência de doenças cardiovasculares em humanos. A síntese do colesterol consiste na conversão de HMG-CoA (3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA) em mevalonato, reação catalisada pela HMG-CoA redutase. A regulação dessa enzima ocorre por alteração covalente reversível através da

fosforilação da proteína quinase dependente AMP (AMPK). Quando ocorre redução de ATP, há declínio da síntese de colesterol. A insulina e o glucagon, hormônio que regula a HMG-CoA redutase atuam sobre a HMG-CoA redutase e forma antagônica: o glucagon estimula a inativação da enzima, reduzindo a síntese de colesterol e a insulina ativa a enzima favorecendo a síntese de colesterol (Goldstein e Brown, 1990).

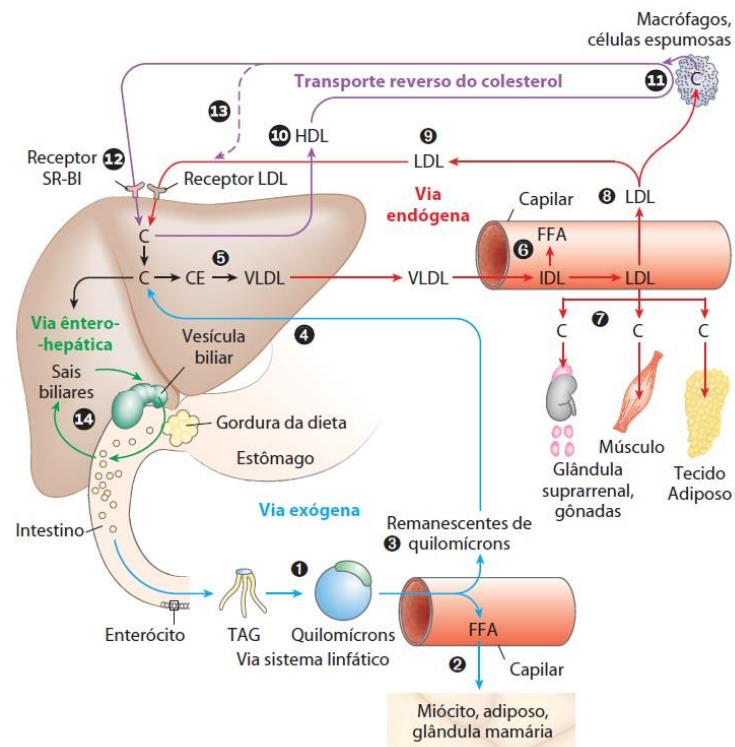
O colesterol, o triacilglicerol (TAG) e os fosfolípidos são insolúveis em água e são transportados para os tecidos onde serão armazenados e consumidos por proteínas transportadoras chamadas de apolipoproteínas. As diferentes combinações de lípidos e proteínas produzem partículas de diferentes densidades, variando de quilomícrons a lipoproteínas de alta densidade (Nelson e Cox, 2017).

Os quilomícrons são as maiores e menos densas e contêm alta proporção de TAG e sua função principal é o transporte de AG da dieta para os tecidos. O restante move-se pela corrente sanguínea para o fígado. Ali, eles liberam o colesterol e são degradados pelos lisossomos. O excesso de colesterol e ácidos graxos na dieta leva à produção de TAG ou ésteres de colesterol no fígado, os quais são empacotados com apolipoproteínas específicas formando as lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL – lipoproteína de muito baixa densidade) por ação da proteína de transferência de ésteres de colesterol (CEPT). Essas lipoproteínas são transportadas do fígado para o músculo e tecido adiposo. No músculo, os AG são liberados após a ativação da lipase proteica, reconvertem-se em TAG e armazenam os produtos em gotículas intracelulares de lípidos. Os miócitos oxidam os AG para obterem energia (Zhang *et al.*, 2018).

A perda de TAG da VLDL converte VLDL em lipoproteínas de densidade intermediária, as IDL. A remoção de adicional de TAG da IDL produz lipoproteínas de baixa densidade, LDL. Essa é rica em colesterol e éster de colesterol (EC) e a sua principal apolipoproteína é a apo100. A LDL transporta colesterol para os músculos, glândulas suprarrenais, tecido adiposo e também para os macrófagos, os quais podem ser convertidos em células espumosas. A LDL não captada pelos tecidos retorna para o fígado e o colesterol, após incorporado pelas membranas, é convertido em ácidos biliares e reesterificado pela ACAT para armazenamento nas gotículas lipídicas citosólicas. Na hipercolesterolemia familiar, há uma mutação dos receptores de LDL, tanto nos tecidos como no fígado. Assim, ocorre acúmulo de LDL e colesterol plasmático, o que aumenta a probabilidade do desenvolvimento da aterosclerose (Nelson e Cox, 2017; Zhang *et al.*, 2018).

A lipoproteína de alta densidade, HDL tem origem no fígado e no intestino delgado. São partículas ricas em proteínas que contêm relativamente pouco colesterol e nenhum ésteres de colesterol. Sua principal apolipoproteína é a apoA-1. A HDL também contém lecitina-colesterol-aciltransferase (LCAT), que catalisa a formação de ésteres de colesterol a partir de lecitina e colesterol. A LCAT converte o colesterol, a fosfatidilcolina dos quilomícrons e a VLDL remanescentes em ésteres de colesterol, os quais formam o núcleo da HDL. Ela também capta colesterol de células extra-hepáticas e o descarrega o fígado. Em seguida, a HDL retorna para a corrente sanguínea para captar mais lipídeos que estão em excesso. Assim, o transporte do colesterol pela HDL é reverso. Parte dele é transformado em sais biliares e armazenados na vesícula biliar (Contreras-Duarte *et al.*, 2014). A figura 1 fornece uma visão sobre a síntese e transporte das lipoproteínas em humanos.

A diminuição da concentração plasmática de HDL circulante é um fator de risco para o desenvolvimento das doenças cardiovasculares (DCV) e da síndrome metabólica. Além disso, o aumento das concentrações de LDL e VLDL circulante está relacionado com a redução de HDL. A LDL e a VLDL, por levarem lipídeos para os tecidos periféricos, são lipoproteínas aterogênicas. Já a HDL é uma lipoproteína antiaterogênica, pois realiza o transporte reverso de lipídeos dos tecidos periféricos para o fígado. Outros efeitos benéficos da HDL são proteção antioxidante, regulação da atividade plaquetária, inibição da apoptose de células endoteliais, inibição da síntese das moléculas de adesão vascular e indução de óxido nítrico (NO) (LIMA; COUTO, 2006)



**Figura 1.** Lipoproteínas e transporte de lipídeos. C = colesterol; EC: ésteres de colesterol. Nas vias exógenas os lipídeos (setas azuis) os lipídeos são empacotados em quilomícrons. Os triacilgliceróis são liberados pela lipase lipoproteica nos tecidos muscular e adiposo, durante o transporte ao longo dos capilares. Os quilomícrons remanescentes que contém proteínas e colesterol são captados pelo fígado. Os sais biliares produzidos no fígado auxiliam a dispersão de gorduras da dieta e em seguida são reabsorvidos na via entero-hepática (setas verdes). Na via endógena (setas vermelhas), os lipídeos sintetizados ou empacotados no fígado são distribuídos aos tecidos periféricos pela VLDL. Esta, gradualmente é convertida em LDL, que transporta colesterol para os tecidos extra-hepáticos ou retornam para o fígado. O LDL remanescente por endocitose mediada por receptor. O colesterol excedente nos tecidos extra-hepáticos retorna para o fígado como HDL por transporte reverso (setas roxas). Fonte: (Nelson e Cox, 2017).

O HDL circulante protege contra o dano oxidativo produzido por radicais livres presentes nas LDL, inibindo a geração e/ou facilitando a degradação de lipídeos oxidados pró-inflamatórios (Fuhrman *et al.*, 2005). A HDL transporta uma variedade de enzimas como a Paroxonase-1 (PON1) que são as responsáveis pela modificação oxidativa das partículas de LDL, evitando resposta inflamatória caracterizada por indução de citocinas e monócitos de adesão na superfície endotelial. Adicionalmente, ocorre por meio da PON1 a redução direta da peroxidação lipídica no interior das placas ateromatosas coronárias e carótidas (Contreras-Duarte *et al.*, 2014).



A LDLox e seus componentes induzem a síntese de citocinas, mediadores inflamatórios e de crescimento que podem alterar o comportamento das células endoteliais. As moléculas de adesão intercelular, ICAM e VCAM, são as primeiras manifestações de disfunção endotelial e elas promovem recrutamento de leucócitos na parede vascular. Há estudos que verificaram que HDL reconstituída tornam células endoteliais mais resistentes à síntese de moléculas de adesão induzidas por citocinas (Clay *et al.*, 2001). Alguns estudos demonstraram a relação entre a vasodilatação dependente de NO e a concentração plasmática de HDL, pois ela induz a NO sintase, a liberação de NO e o efeito de vaso relaxamento (Rämet *et al.*, 2003).

Um estudo que avaliou o perfil lipídico no município de São Paulo em 2014, apontou que a prevalência de qualquer tipo de dislipidemia na população foi de 59,74%, considerando que baixos níveis de HDL-colesterol foi o mais prevalente (Garcez *et al.*, 2014). As dislipidemias levam a DCV, que estão entre as maiores causas de mortalidade, morbidade e incapacidade no mundo e em ambos os sexos (OMS, 2008).

As dislipidemias estão entre as causas da aterosclerose, juntamente com a hipertensão e o tabagismo. Existem diversas DCV, mas aquelas que atingem as artérias cerebrais e coronárias são as mais preocupantes e em sua maioria são provocadas pela aterosclerose. A aterosclerose é uma doença inflamatória crônica, consequência de uma lesão endotelial que acomete principalmente a camada íntima das artérias de grande e médio calibre (SBC, 2017).

A formação de um trombo como consequência de uma placa ateromatosa é determinada por diversos elementos, como fator tissular, micropartículas apoptóticas e monócitos circulantes. A HDL também influencia a ativação das plaquetas e da cascata de coagulação, pois elas inibem a produção do fator tissular e evitam a formação de material pro-coagulante, impedindo que o fibrinogênio una-se às plaquetas. Além disso, a formação de trombina é inibida drasticamente na presença de HDL (Contreras-Duarte *et al.*, 2014). Estudos *in vitro* demonstraram que HDL<sub>3</sub>, que constituem a maior parte das HDL circulantes, inibem a proteína quinase C (PKC), dependente de fosfatidil-inositol, provocando redução da agregação plaquetária, secreção de grânulos e redução de fibrinogênio em resposta à trombina (Surya e Akkerman, 1993).

A formação da placa aterosclerótica inicia-se com uma injúria ao endotélio vascular ocasionada pelos fatores citados anteriormente. Em seguida, há o aumento da permeabilidade

da camada íntima às lipoproteínas plasmáticas que ficam retidas no espaço subendotelial. Ali, a LDL sofre oxidação e se torna imunogênica (Navab *et al.*, 2004). Quanto maior a concentração de lipoproteínas no plasma, maior será o depósito na parede arterial. Além do depósito das lipoproteínas, a LDLox também provoca migração de moléculas de adesão leucocitária na superfície endotelial. Em seguida, monócitos e linfócitos são atraídos para a camada íntima da parede arterial. Os monócitos migram para o espaço subendotelial e se transformam em macrófagos repletos de lipídeos e são chamados de células espumosas. Os macrófagos são responsáveis pela secreção de citocinas de inflamação e adesão e de enzimas proteolíticas que degradam o colágeno e outros tecidos locais (SBC, 2017).

Além da dislipidemia, diabetes, tabagismo, hipertensão, fatores a nível celular como isquemia e alteração na pressão do arraste hemodinâmico podem ativar um complexo inflamatório que rompe a placa ou promove alteração endotelial. Conseqüentemente, ocorre interação do fator tecidual da íntima vascular com o fator VIIa circulante, levando à geração de trombina, ativação plaquetária e formação de trombo, fatores que levam às principais complicações da aterosclerose que são o infarto agudo do miocárdio e o acidente vascular cerebral (SBC, 2017). A HDL, a apo-I e a apoA-I previnem a oxidação da LDL livre e da parede arterial, reduzem a reatividade vascular em modelos animais (Badimon *et al.*, 1990; Shah *et al.*, 2001; Navab *et al.*, 2002) e previnem a aterosclerose em humanos (Nissen *et al.*, 2003; Rader, 2003). Há uma relação inversa dos altos níveis de HDL-colesterol com a aterosclerose (Remaley *et al.*, 2003; Zhang *et al.*, 2003), pois essa lipoproteína executa o transporte reverso de colesterol, reduzindo sua concentração plasmática. A SBC (2017) atualizou os parâmetros laboratoriais e classificou as dislipidemias de acordo com a fração lipídica alterada, conforme descrito na Tabela 1:

Os valores de referência e os parâmetros lipídicos colesterol total (CT), HDL e TG em adultos com mais de 20 anos são:

**CT:** < 190 mg/dL (em jejum ou sem jejum);

**HDL-c:** > 40 mg/dL (em jejum ou sem jejum)

**TG:** < 150 mg/dL (em jejum) e < 175 mg/dL (sem jejum)

Tabela 1. Classificação das dislipidemias de acordo com a fração lipídica alterada.

<b>Classificação da dislipidemia</b>	<b>Lípide alterado</b>
Hipercolesterolemia alterada	Aumento isolado do LDL-c (LDL $\geq$ 160 mg/dL).
Hipertrigliceridemia isolada	Aumento isolado dos triglicérides (TG $\geq$ 150 mg/dL em jejum ou $\geq$ 175 mg/dL sem jejum).
Hiperlipidemia mista	Aumento do LDL-c (LDL $\geq$ 160 mg/dL) e dos TG (TG $\geq$ 150 mg/dL) ou $\geq$ 175 mg/dL em jejum). Se TG > 400 mg/dL, o cálculo de LDL-c pela fórmula de Friedewald é inadequado, devendo-se considerar hiperlipidemia mista quando o não HDL-c $\geq$ 190 mg/dL.
HDL baixo	Redução do HDL-c (homens < 40 mg/dL e mulheres < 50 mg/dL) isolada ou em associação ao aumento de LDL-c ou de TG.

Fonte: SBC, 2017.

A Sociedade Brasileira de Cardiologia reduziu as taxas de referências de LDL para os níveis considerados seguros (Tabela 2). Esse valor depende do grau da categoria de risco que o paciente apresenta em desenvolver uma Doença Aterosclerótica Cardiovascular (DACV). Essa categoria pode ser calculada pelo Escore de Risco Global (ERG), cujo aplicativo está disponibilizado no site do departamento de aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia (SBC-DA) (Calculadora ER 2017) (Magalhães, 2017).

Os riscos são classificados de acordo com a presença de doença aterosclerótica, doença renal, diabetes, nível de LDL-c e colesterol total, idade, hipertensão arterial e síndrome metabólica (SBC, 2017).

Tabela 2. Valores de referência e de alvo terapêutico de acordo com o risco cardiovascular estimado para adultos com mais de 20 anos.

Lípides	Com jejum (mg/dL)	Sem jejum (mg/dL)	Categoria referencial
LDL-c	< 130	< 130	Baixo risco
	< 100	< 100	Risco intermediário
	< 70	< 70	Alto risco
	< 50	< 50	Risco muito alto
Não HDL-C	< 160	< 160	Baixo risco

< 130	< 130	Risco intermediário
< 100	< 100	Alto risco
< 80	< 80	Risco muito alto

---

Fonte: Magalhães, 2017.

Uma ferramenta útil para avaliação desse risco é o *Framingham Heart Study*, que indica a probabilidade de um indivíduo desenvolver uma doença coronariana como o infarto agudo do miocárdio e a angina do peito em dez anos. Para o cálculo utiliza-se as informações de faixa etária, sexo, valores de pressão arterial, colesterol total, HDL, tabagismo e diabetes. É uma ferramenta útil para iniciar ações preventivas em um indivíduo ou em uma população (Magalhães, 2017). Os riscos são classificados em baixo (< 5%), limítrofe (5 a 7,4%), intermediário (7,5 a 19,9%) e alto ( $\geq 20\%$ ) (ASCVD, 2019).

### 2.1.2 O metabolismo glicêmico

A diabetes *mellitus* (DM) é um importante problema de saúde pública para um país, independentemente do grau de desenvolvimento. A Federação Internacional de Diabetes estimou que, em 2015, 8,8% da população mundial entre 20 a 79 anos de idade vivia com diabetes. Esse aumento da prevalência da doença está associado a fatores como rápida urbanização, transição epidemiológica, transição nutricional, estilo de vida sedentário, excesso de peso, envelhecimento populacional e maior sobrevivência de adultos com diabetes (SBD, 2018).

A insulina é um hormônio peptídico cuja produção é controlada principalmente pela variação da concentração de glicose no sangue. As células  $\beta$  pancreáticas respondem tanto à concentração absoluta de glicose como à taxa de mudança do nível de glicemia. Ela é liberada continuamente e, em casos de elevação dos níveis de glicose, há uma descarga adicional do hormônio (Hang *et al.*, 2016).

A insulina penetra nas células-  $\beta$  através de um transportador de superfície chamado GLUT-2 (Thorens, 2015) e o seu metabolismo liga a secreção de insulina à glicose extracelular. O aumento de ATP nas células bloqueia canais K/ATP provocando

despolarização da membrana. A secreção de insulina é estimulada após influxo de íons  $\text{Ca}^{+2}$  ocasionado pela despolarização (Guo *et al.*, 2012).

Redução dos níveis de insulina no corpo elevam a glicemia. Ela também influencia o metabolismo da glicose em diversos tecidos. No fígado, por exemplo, inibe a glicogenólise e a gliconeogênese e estimula a síntese do glicogênio. No músculo ela estimula a síntese do glicogênio e a glicólise. Nesse tecido ela estimula a síntese de GLUT-4, um transportador de glicose (Huang e Czech, 2007). GLUT-4 também está presente no tecido adiposo. Nesse tecido, o glicerol, que é o principal produto do metabolismo da glicose, é esterificado a TG, interferindo assim no metabolismo lipídico (Kotani *et al.*, 2004). Outros efeitos da insulina no metabolismo lipídico são aumento da síntese de AG e TG no fígado, inibição da lipólise, inativação das lipases, inibição dos efeitos lipolíticos da epinefrina, do hormônio do crescimento e do glucagon (Pearson *et al.*, 2016).

Uma alteração na liberação de insulina descompensa os níveis de glicose plasmático e leva a uma situação de hiperglicemia ou DM. Há três classificações para diabetes, a diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) e diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) e a diabetes gestacional (DMG) (ADA, 2018). A DM1 é uma doença autoimune, poligênica, que ocorre após a destruição de células  $\beta$  pancreáticas e interrupção da secreção de insulina (Alam *et al.*, 2014). Sua prevalência é de 5 a 10% dos casos de DM e o diagnóstico mais frequente é na infância e adolescência (ADA, 2017b; SBD, 2018). O diagnóstico da doença em adultos pode ser de uma forma lenta e progressiva da doença chamada de diabetes autoimune (Chiang *et al.*, 2018).

A DM2 corresponde a 90-95% dos casos de DM e sua etiologia envolve aspectos ambientais e genéticos (Skyler *et al.*, 2017). A hiperglicemia está relacionada com a hiper glucagonemia, resistência dos tecidos periféricos à insulina, aumento da produção hepática de glicose, disfunção das incretinas, aumento dos ácidos graxos livres circulantes, aumento da reabsorção tubular de glicose, deficiência da secreção de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas (ADA, 2017a).

São fatores de risco para DM2 a história familiar, idade avançada, obesidade, sedentarismo, pré-diabetes, diabetes *mellitus* gestacional, presença de componente da síndrome metabólica (SM) como hipertensão e dislipidemia (SBD, 2018).

Para o diagnóstico da DM2 são levantadas informações sobre os fatores de risco do indivíduo e podem ser utilizados os ensaios de glicemia em jejum, glicemia de 2 horas pós-sobrecarga ou hemoglobina glicada [HbA1c]. O teste de hemoglobina glicada apresenta mais vantagens do que o teste oral de tolerância à glicose (TOTG), além de ser mais conveniente, já que o jejum não é necessário. As vantagens são estabilidade pré-analíticas, menos influência das perturbações diárias e de doenças. As Sociedade Americana de Diabetes(ADA) e a Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD) trazem os critérios de diagnósticos para DM (Tabela 3).

Tabela 3. Critérios diagnósticos para DM recomendados pela ADA e SBD.

Exame	Normal	Pré-diabetes	Diabetes
Glicemia em jejum (mg/dL)	< 100	100 a 125	≥ 126
Glicemia após 2 horas após TOTG com 75 mg de glicose (mg/dL)	< 140	140 a 190	≥ 200
Hemoglobina glicada (%)	< 5,7	5,7 a 6,4	≥ 6,5

TOTG: Teste oral de tolerância à glicose. Fonte: ADA, 2017 e SBC, 2017.

Diferentes vias que incluem fatores ambientais e genéticos resultam na perda progressiva de células  $\beta$  e/ou de sua função, o que se manifesta em hiperglicemia. Uma vez manifestada, indivíduos diabéticos correm o risco de desenvolver diversas complicações (Skyler *et al.*, 2017).

A regulação normal do metabolismo da glicose é determinada por *feedback* que envolve as células  $\beta$  e tecidos sensíveis à insulina. Quando há resistência à insulina pelos tecidos, as células  $\beta$  mantêm níveis normais de glicose aumentando a secreção de insulina. É somente quando as células  $\beta$  são incapazes de liberar insulina suficiente na situação de resistência à insulina que os níveis de glicose aumentam (Reaven, 1988; Kahn *et al.*, 2014).

Na DM2, para manter os níveis normais de glicose, a secreção de insulina varia em uma ampla faixa em resposta à sensibilidade dos tecidos à insulina. A relação entre a secreção de insulina e resistência à insulina é uma curva linear, mas não com sujeitos com DM2 (Basu *et al.*, 2009). A primeira fase de secreção à insulina, especialmente em resposta à estimulação de glicose, é notavelmente prejudicada DM2 (Van Haeften *et al.*, 2000). A secreção máxima

de insulina e a potencialização pela hiperglicemia das respostas à insulina aos estímulos independente da glicose são reduzidos e a proporção de pró-insulina é aumentada na DM2.

A figura 2 ilustra a o feedback entre as células  $\beta$  e os tecidos insulino-sensíveis. A insulina liberada em resposta à estimulação das células  $\beta$  coordena a captação de glicose, aminoácidos e ácidos graxos pelos tecidos sensíveis à insulina. Esses tecidos retornam informações às ilhotas sobre a necessidade de insulina. Quando há resistência à insulina, nos casos de obesidade, por exemplo, as células  $\beta$  aumentam a produção de insulina para manter a tolerância à glicose normal. No entanto, quando as células  $\beta$  são incapazes de realizar essa tarefa, o resultado é a elevação da glicose plasmática. O feedback endócrino opera para garantir a integridade da homeostase da glicose e sua manutenção em um intervalo ajustado. (Kahn *et al.*, 2014).

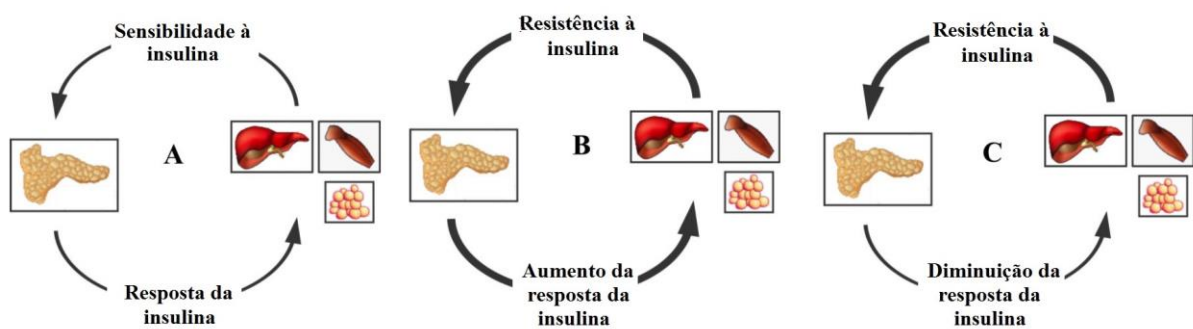


Figura 2. Feedback entre as células  $\beta$  e tecidos insulino-sensíveis. (A) Insulina atua no fígado para suprimir a produção de glicose e no músculo e tecido adiposo para estimular a absorção de glicose, aminoácidos e ácidos graxos. (B) Quando há resistência à insulina pelos tecidos periféricos, o feedback para células  $\beta$  garante que há aumento de insulina para manter tolerância à glicose regular. (C) Quando as células  $\beta$  são incapazes de aumentar a liberação de insulina na presença de resistência à insulina, o resultado é o desenvolvimento de níveis elevados de glicose, inicialmente manifestados como redução da tolerância à glicose. À medida que a disfunção das células  $\beta$  progride, ocorrem elevações da glicemia e diabetes é o resultado final. Fonte: (Kahn *et al.*, 2014).

A inibição da reabsorção renal de glicose é um mecanismo efetivo de controle da glicemia, função das células  $\beta$  e sensibilidade à insulina em pacientes com DM2 (DeFronzo *et al.*, 2012; Norton *et al.*, 2017). Co-transportadores sódio-glicose (SGLTs) são responsáveis pela reabsorção tubular da glicose filtrada. Em pacientes não diabéticos, ela não aparece na urina (Wright e Turk, 2004). Esses co-transportadores estão localizados na membrana apical das células do túbulo proximal nos rins. O sistema renal tem máxima capacidade de absorção, aproximadamente 350 mg/min, 500 g/dia. Em indivíduos diabéticos mal controlados, a carga

de glicose pode exceder a capacidade máxima e resultar em glicosúria, no entanto essa capacidade máxima é maior em indivíduos com DM2. Esse é um mecanismo mal adaptado que permite uma maior reabsorção de glicose e eleva a hiperglicemia em pacientes DM2 (Farber *et al.*, 1951; Norton *et al.*, 2017).

Já no intestino, a absorção de glicose ocorre via dois componentes. Um deles é o mediado pelo transportador de sódio-glicose dependente (SGLT1), apicalmente localizado, o qual apresenta alta afinidade, baixa capacidade e transporte ativo de proteínas (Corpe e Burant, 1996; Wright *et al.*, 2003; Zheng *et al.*, 2012). O outro componente é o GLUT-2, que apresenta baixa afinidade, alta capacidade e transporte facilitado de proteína (Drozdowski e Thomson, 2006). Segundo o clássico paradigma de absorção de glicose, o seu transporte no lúmen intestinal ocorre nos enterócitos pelo SGLT1. Em seguida, é transportada do exterior das células por GLUT-2 para o sistema venoso portal. Recentemente, foi proposto que o GLUT-2 pode recrutar altas concentrações de glicose na membrana apical, permitindo absorção de glicose por difusão facilitada (Röder *et al.*, 2014).

### 2.1.3 Síndrome metabólica

A Federação Internacional de Diabetes (IDF) descreve a Síndrome Metabólica (SM) como um “complexo reconhecível de sintomas físicos e bioquímicos para os quais uma causa direta não é compreendida e os componentes coexistem mais frequentemente do que seria esperado apenas para o acaso. Quando um mecanismo causal é identificado, a síndrome passa a ser uma doença” (SBC, 2005).

A SM é um termo que destaca características que podem aumentar o risco de um indivíduo apresentar determinada doença, aproximadamente duas vezes maior para DCV e cinco vezes maior para DM2 (Samson e Garber, 2014). Acredita-se que a obesidade, a resistência à insulina, a hipertrigliceridemia (dislipidemia) e a hipertensão estejam no centro da maioria dos casos de síndrome metabólica. A SM também está relacionada a uma variedade de cânceres como o de mama, pancreático, cólon e hepático. Os principais fatores que desencadeiam a SM são sedentarismo e dieta rica em gordura e carboidratos (O'Neill e O'Driscoll, 2015). A prevalência da SM tem aumentado em proporções epidêmicas nos países desenvolvidos e também em desenvolvimento (Cornier *et al.*, 2008).



Embora não se conheça o mecanismo fisiopatológico que resulta na SM, ao que tudo indica, a resistência à insulina e a gordura abdominal são os elementos principais da síndrome (Cornier *et al.*, 2008). Pelo fato da SM ser um conjunto de diferentes situações patológicas, e não uma condição isolada, há múltiplas correntes de definições como as apresentadas na Tabela 4. Esse resumo define os critérios e o diagnóstico de SM por diferentes associações para detectar o risco de um indivíduo com SM desenvolver DM2 e CVD. Outros pré-requisitos para SM são circunferência abdominal, etnia e nacionalidade. Por exemplo, a prevalência da SM em alguns estudos é menor em indivíduos brancos (Alberti *et al.*, 2009).

Tabela 4. Critérios estabelecidos pelas diferentes associações para definição e diagnóstico de SM.

OMS	EGIR	NCEP:ATPIII	AACE	IDF
Intolerância à glicose, tolerância à glicose reduzida ou DM e/ou resistência à insulina + dois ou mais dos componentes listados:	Alta concentração de insulina em jejum e resistência à insulina + dois dos seguintes critérios:	Qualquer dos três critérios	Prejuízo na tolerância à glicose + 2 dos seguintes critérios:	Obesidade central = CA Etnia e idade + Dois dos seguintes critérios:
1. Obesidade abdominal > 94 cm CA > 94 cm IMC > 30 Kg/m <sup>2</sup>	1. CA ≥ 94 cm para homens ≥ 80 cm para mulheres	1. CA > 101,6 cm para homens > 88,9 cm para mulheres	1. TG ≥ 150 mg/dL. HDL-c < 40 mg/dL para homens < 50 mg/dL para mulheres	1. TG ≥ 150 mg/dL. HDL-c < 40 mg/dL para homens e < 50 mg/dL para mulheres
2. TG ≥ 150 mg/dL e/ou HDL-c < 35 mg/dL (homens) < 39 mg/dL (mulheres)	2. TG > 177 mg/dL HDL-c < 39 mg/dL	2. TG ≥ 150 mg/dL HDL-c < 40 mg/dL para homens < 50 mg/dL para mulheres	2. PA ≥ 130/85 mm Hg	2. PA ≥ 130/85 mm Hg

3. PA $\geq$ 140/90 mm Hg	3. PA $\geq$ 140/90 mm Hg	3. PA $\geq$ 130/85 mm Hg	3. Glicemia em jejum $\geq$ 5,6 mmol/L (100,9 mg/dL).
4. Microalbuminúria	5. Glicemia em jejum $\geq$ 6,1 mmol/L (109,99 mg/dL).	4. Glicemia em jejum $\geq$ 110 mg/dL	

OMS: Organização Mundial da Saúde; EGIR: Grupo Europeu de Estudo de Insulina; NCEP:ATPIII: Programa Nacional de Educação em Colesterol; AACC: Associação Americana de Endocrinologia Clínica; IDF: Federação Internacional de Diabetes; CA: circunferência abdominal; PA: pressão arterial; TG: triglicerídeos. Fonte: (O'Neill e O'Driscoll, 2015).

A I Diretriz Brasileira de Síndrome Metabólica segue os critérios da NCEP:ATPIII. Embora as especificações sugeridas pelos grupos mencionados apresentem valores um pouco diferentes entre si, há uma concordância que a prevalência de SM tem aumentado proporcionalmente ao IMC e à idade dos indivíduos (Ervin, 2009).

### 2.1.3.1 Fisiopatologia da Síndrome Metabólica

#### *Obesidade*

A obesidade é um excesso de massa corporal gorda e pode ser mensurada pelo IMC ou CA. De acordo com a OMS, são considerados sobrepeso sujeitos com  $IMC \geq 25$  Kg/m<sup>2</sup>. A circunferência abdominal reflete melhor o conteúdo de gordura visceral e tem boa relação com a gordura corporal. Ainda segundo a OMS, o ponto de corte para risco cardiovascular aumentado é a CA  $\geq 94$  cm em homens, e  $\geq 80$  cm em mulheres. Já obesos apresentam  $IMC \geq 30$  Kg/m<sup>2</sup> e CA  $\geq 102$  em homens, e CA  $\geq 88$  em mulheres (ABESO, 2016).

Há vários padrões para a medida da CA. Pode ser realizada no maior perímetro abdominal entre a última costela e a íliaca (OMS) ou no ponto médio entre o rebordo costal inferior e a crista íliaca. Na população brasileira, os pontos de corte mencionados, a PA é outro parâmetro para as doenças metabólicas (ABESO, 2016).

### *Resistência à insulina*

A obesidade, fatores ambientais e genéticos são riscos predominantes para a resistência à insulina e DM2. Em torno de 40% da população apresenta resistência à insulina (O'Neill e O'Driscoll, 2015). Além disso, níveis elevados de AG prejudicam a função das células- $\beta$ , o que relaciona a hiperglicemia com as DCV (Kahn *et al.*, 2006; Cerf, 2013).

### *Dislipidemia*

A dislipidemia é um importante marcador da SM. Pacientes com a síndrome podem desenvolver dislipidemia devido à combinação de superprodução de VLDL e ApoB, redução da lise da ApoB e aumento do catabolismo de HDL-c. Todos eles podem ser consequências da RI (Chan *et al.*, 2004; Kolovou *et al.*, 2005; Klop *et al.*, 2013).

### *Hipertensão arterial sistêmica*

A hipertensão é um importante constituinte da síndrome metabólica. No entanto, o mecanismo que relaciona as duas não está bem esclarecido, mas sabe-se que a obesidade abdominal, resistência à insulina, hiperatividade simpática, estresse oxidativo, disfunção endotelial, ativação do sistema renina-angiotensina, aumento dos mediadores inflamatórios e apnéia do sono são possíveis fatores que desencadeiam a hipertensão da síndrome metabólica (Klop *et al.*, 2013).

Em condições normais, a liberação de insulina na corrente sanguínea promove produção de óxido nítrico e vasodilatação. Em contrapartida, em uma condição de obesidade e RI, ocorre hiperinsulinemia por mecanismo compensatório que ativa o sistema renina angiotensina aldosterona e conseqüentemente há vasoconstrição e hipertensão (Yanai *et al.*, 2008).

#### 2.1.3.2 Terapêutica da Síndrome Metabólica

O tratamento pode ser não medicamentoso ou medicamentoso. A realização de um plano alimentar para a redução do peso associado a exercícios físicos são considerados terapias de primeira escolha para os pacientes acometidos da síndrome. Essa associação contribui para a redução da CA e gordura visceral, melhora da resistência à insulina, redução

dos níveis plasmáticos de glicose, além de prevenir o aparecimento de DM2. Há ainda redução da PA e TG e aumento do HDL-c (ABESO, 2016).

O tratamento medicamentoso deve ser aplicado a cada patologia acometida na síndrome. A obesidade pode ser tratada com mudanças de hábitos (como já comentado) e com sibutramina (que é antagonista serotoninérgico), orlistat (inibidor seletivo da lipase) e rimonabant (bloqueador do receptor de canabioide-1), únicos permitidos pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e *Food and Drug Administration* (FDA) (Israili *et al.*, 2007). Essas drogas melhoram o metabolismo lipídico de pacientes com dislipidemias (James *et al.*, 2000), reduz hipertensão (Dedov *et al.*, 2018) e também contribuem para o metabolismo glicêmico (Miles *et al.*, 2002; Berne, 2005). Conseqüentemente, há redução do risco de eventos cardiovasculares.

#### *O tratamento medicamentoso da hiperglicemia*

A hiperglicemia e/ou resistência à insulina é um componente da SM que merece atenção. A resistência à insulina pode apresentar melhoras com a dieta e prática de atividade física. No entanto, quando não há sucesso com essa opção, o tratamento deve ser farmacológico. Os agentes utilizados na DM2 não são direcionados para pacientes com SM, ou seja, eles não melhoram os casos de DCV (Cornier *et al.*, 2008). Exemplos de fármacos utilizados no tratamento da DM2 são aqueles que não aumentam a secreção de insulina (biguanidas, as glitazonas e inibidores da  $\alpha$ -glicosidade) e os que aumentam a secreção de insulina (sulfoniuréias e as metglitinidas).

A ação hipoglicemiante da metformina se dá principalmente no fígado, onde reduz a produção de glicose e a ação periférica (Stamler *et al.*, 1993; Zheng *et al.*, 2015). Esse mecanismo leva a um retardo na progressão da DM nos casos de redução da tolerância à glicose em aproximadamente 31%, dos quais 53% apresentam síndrome metabólica (Knowler, 2002; Cornier *et al.*, 2008; Holman *et al.*, 2008). A metformina não melhora os sintomas cardíacos na mesma proporção que a mudança de hábitos de vida (Stakos *et al.*, 2005) e a sua utilização a longo prazo trata a tolerância à glicose, mas não previne a progressão da DM2 (Diabetes Prevention Program Research, 2003).

As glitazonas melhoram a sensibilidade à insulina e há estudos que demonstram que elas previnem a DM2 em indivíduos com alto risco (Holman *et al.*, 2008). Sua atividade

ocorre principalmente da insulino-resistência periférica muscular, hepática e adiposa (Brunmair *et al.*, 2001). Embora as glitazonas aumentem o ganho de peso corporal, há uma redução da proporção cintura-quadril e melhora em outros componentes da SM como PA, TG, HDL-c e transaminases hepáticas. No entanto, fármacos como a rosiglitazona parecem apresentar potencial aumento de riscos com desfechos de DCV (Gerstein *et al.*, 2006).

A acarbose é um inibidor da  $\alpha$ -glicosidase que diminui a absorção intestinal de glicose, agindo na glicemia pós-prandial. Ela retarda a progressão da DM2 em pacientes com tolerância à glicose diminuída. O tratamento com acarbose está associado com a redução de eventos CV e com hipertensão (Chiasson *et al.*, 2003). Sua maior limitação é a baixa tolerância dos pacientes.

Os secretagogos são fármacos que aumentam a secreção de insulina e compreendem as classes das sulfoniluréias e metglitinidas (ou glinidas). As sulfoniluréias apresentam efeito mais prolongado e as metglitinidas têm efeito mais rápido que cobrem principalmente o período pós-prandial (Sola *et al.*, 2015). No entanto, elas não são os agentes hipoglicemiantes mais usados para o controle glicêmico da DM2. Além disso, as sulfoniluréias mais antigas estão relacionadas a casos de hipoglicemia e risco cardiovascular (Shorr *et al.*, 1997). O ganho de peso da classe também é um efeito adverso, mas que é contornado com a utilização de metformina (ADA, 2017b).

#### *Tratamento medicamentoso das dislipidemias*

A dislipidemia metabólica é caracterizada por elevada concentração de TG, baixos níveis de HDL-c e altos níveis de LDL-c. O manejo adequado dos níveis de LDL-c mostrou reduzir significativamente os eventos CV e as mortes. As medidas que podem ser empregadas para as dislipidemias são as não medicamentosas e as medicamentosas. Dentro das medidas não medicamentosas destaca-se a terapia nutricional, cujo consumo de ácidos graxos saturados deve ser substituído por mono e poli-insaturados, exclusão de ácidos graxos trans. A hipertrigliceridemia também pode ser pela quantidade de gordura e carboidrato ingeridos pela dieta. A ingestão elevada de carboidratos aumenta a glicemia, levando ao aumento da insulinemia a qual promove síntese de ácidos graxos e triglicerídeos. Em contrapartida, o consumo de ácidos graxos ômega 3 e fitosteróis são úteis na redução no colesterol plasmático e são empregados no tratamento não farmacológico em indivíduos que apresentam baixo risco e também prescritos em associação ao tratamento medicamentoso (SOCERJ, 2017).

Vários fármacos reduzem o LDL-c plasmático e a terapia medicamentosa é usada para complementar as medidas dietéticas e de atividade física. Os principais agentes utilizados clinicamente são as estatinas, fibratos, os inibidores da absorção de colesterol, o ácido nicotínico e seus derivados, derivados do óleo de peixe (Rang *et al.*, 2016), ezetimiba, convertase subtilisina kexina tipo 9 (PCSK9) (Cavallari *et al.*, 2018).

As estatinas são fármacos que inibem a enzima que atua na etapa limitante da síntese do colesterol, a HMG-CoA redutase. A inibição da síntese hepática do colesterol aumenta a síntese dos receptores de LDL e consequentemente aumenta a remoção do LDL-c plasmático. Há discreta redução do TG e aumento do HDL. As estatinas são a classe mais vendidas para a prevenção de DCV. Entre elas podemos citar a sinvastatina, atorvastatina e rosuvastatina (Rang *et al.*, 2016). Elas são contraindicadas na gravidez, pois a HMG-CoA redutase orienta células germinativas primordiais em migração (Van Doren *et al.*, 1998). Entre os efeitos adversos incluem mialgia, elevação das concentrações de enzimas hepáticas, distúrbios gastrointestinais, insônia e rash (Tonkin, 2001).

Os fibratos promovem redução do VLDL circulante e influenciam a redução dos TG e LDL-c e aumento do HDL-c. Eles são agonistas de elementos reguladores dos genes lipídicos (PPARs). Eles aumentam a transcrição de lipase de lipoproteínas, apoA1 e apoA5, aumentam a captação hepática de LDL-c, reduzem PCR e fibrinogênio plasmático. São representantes da classe bezafibrato, ciprofibrato, genfibrozila e fenofibrato. Os principais efeitos adversos incluem rabdomiólise, comprometimento renal, sintomas gastrointestinais, prurido e rash (Rang *et al.*, 2016).

As resinas eram utilizadas como ligantes dos sais biliares, no entanto essa classe ficou mais restrita, pois a redução do colesterol exógeno e redução do LDL-c plasmático é modesto quando comparado às estatinas. São exemplos de fármacos a colestiramina e o colestípol. Entre os efeitos adversos estão o sabor desagradável e a diarreia (Cavallari *et al.*, 2018).

A Ezetimiba é um inibidor seletivo de colesterol plasmático e não afeta a absorção de vitaminas lipossolúveis. É um fármaco potente e bem tolerado. Sua utilização é como complemento da dieta e das estatinas. Pode causar diarreia, dor abdominal e cefaleia (Tonkin e Byrnes, 2014).

O ácido nicotínico é uma vitamina que inibe a produção hepática de VLDL, reduz a concentração plasmática de TG, de LDL-c e aumenta a concentração de HDL-c. Acredita-se

que o mecanismo seja sobre a lipólise através de um receptor órfão acoplado à proteína G chamado HM74A e presente na membrana dos adipócitos. Entre os efeitos adversos estão incluídos palpitações, distúrbios gastrointestinais e rubor (Cavallari *et al.*, 2018).

A função da PCSK-9 é promover a degradação de receptores de LDL e sua inibição favorece o catabolismo de LDL-c reduzindo sua concentração plasmática. Os agentes são administrados uma a duas vezes ao mês e causam considerável redução de LDL-c. Um representante da classe é o evolocumab. Efeitos adversos ainda não foram relatados com a utilização do fármaco (Seidah *et al.*, 2014; Cavallari *et al.*, 2018)

#### *Fármacos utilizados no tratamento da hipertensão*

O controle da PA é importante para evitar ou reduzir a ocorrência de eventos CV em pacientes com SM, embora não haja tratamento específico para essa população. Entre as classes utilizadas para o controle da hipertensão são muito prescritos os bloqueadores dos receptores de angiotensina (BRAs) como primeira classe. Outras classes que podem ser utilizadas isoladamente ou em associações são os diuréticos, os inibidores da enzima conversora de angiotensina (IECA), os antagonistas dos canais de cálcio, os betabloqueadores e os inibidores adrenérgicos (SBC, 2005).

A grande vantagem dos BRAs no tratamento da hipertensão na SM é que esses fármacos são nefro e cardioprotetores em paciente com DM2 estabelecida (Brenner *et al.*, 2001; Lewis *et al.*, 2001; Cheng *et al.*, 2014). Há estudos que comprovam que o tratamento com esses agentes é acompanhado de menor incidência de casos de nefropatia diabetes (Parving *et al.*, 2004; Mcfarlane, 2009).

Os diuréticos são eficazes no tratamento da hipertensão arterial e alguns estudos comprovaram sua eficácia na redução da morbidade e mortalidade cardiovascular de pacientes diabéticos (Chen *et al.*, 2015; Tseng *et al.*, 2017; Aomatsu *et al.*, 2018). Os tiazídicos e similares em baixas dose são os mais indicados, pois outros diuréticos mais potentes não apresentam necessariamente efeito hipotensor adicional benéfico (ABESO, 2016).

Os IECAs são eficazes no tratamento da hipertensão arterial e reduzem a morbimortalidade cardiovascular dos pacientes hipertensos (Cheng *et al.*, 2014; Tai *et al.*, 2017) com síndrome metabólica e elevado risco para doença aterosclerótica (Yusuf *et al.*, 2000). Esses fármacos também reduzem a incidência de novos casos de DM2 (Wang *et al.*, 2015).

Os antagonistas de cálcio são hipotensores com pouca atividade no metabolismo glicêmico e lipídico. No entanto, sua proteção cardiovascular é semelhante aos demais fármacos anti-hipertensivos (Oparil e Bakir, 2000; Alcocer *et al.*, 2010).

Os betabloqueadores são agente eficazes do tratamento da hipertensão e também reduzem o risco de morbi-mortalidade cardiovascular. As principais desvantagens são ganho de peso (Messerli *et al.*, 2007), aumento do risco de desenvolvimento de diabetes tipo 2 (Dézsi e Szentes, 2017), aumento dos triglicerídeos e redução do HDL-c (Whalen e Stewart, 2008). Assim, apesar de serem fármacos de primeira escolha no tratamento da hipertensão associada à doença coronariana (Schumann e Hickner, 2008), não o são para tratar hipertensão em pacientes com síndrome metabólica.

O impacto de determinados medicamentos anti-hipertensivos nos outros componentes da síndrome metabólica é uma questão clínica importante. As alterações metabólicas principalmente aquelas relacionadas com o perfil lipídico e resistência à insulina, durante o tratamento anti-hipertensivo com diuréticos e beta-bloqueadores são apontadas como as responsáveis por reduções menores do que as esperadas em morbidade e mortalidade de doença cardíaca coronária (Redon *et al.*, 2008).

### 2.1.3.3 Síndrome Metabólica e seus biomarcadores

#### *Biomarcadores inflamatórios*

A SM está associada com aumento do estado inflamatório. Há evidências de aumento de moléculas de adesão, incluindo Proteína C-Reativa (PCR), TNF- $\alpha$ , resistina plasmática, IL-6 e IL-8 (Bahia *et al.*, 2006; Dézsi, 2016), consistentes com o aumento do tecido adiposo característico na SM. Já os níveis de adiponectina e adipocina anti-inflamatórias estão deprimidos na SM (Bahia *et al.*, 2006).

A inflamação é um processo intrínseco e que está relacionada a marcadores específicos: a interleucina-6 (IL-6) e a proteína-C-reativa (PCR). A síntese da PCR ocorre no fígado e é induzida pelo aumento da IL-6. A dosagem de ambas é realizada para detectar um processo inflamatório ou o grau de severidade dele (Baumann *et al.*, 1996). Há estudos epidemiológicos que relacionam os níveis de PCR e IL-6 com causas de doenças cardiovasculares e síndrome metabólica (Schnabel *et al.*, 2013).



Existem diversas hipóteses que buscam explicar o mecanismo exato da relação entre os componentes da SM com o aumento do risco de DCV e uma delas, bastante estabelecida, é a que envolve as respostas aguda dos mediadores pró-inflamatórios à disfunção endotelial (Kahn *et al.*, 2013).

### *PCR*

A PCR é um marcador inflamatório não específico, mas é aceitável para se trabalhar com a síndrome metabólica. O aumento dos seus níveis está associado com aumento da CA (Gonzalez *et al.*, 2006), da RI (Deepa *et al.*, 2006), do IMC (Guldiken *et al.*, 2007) e da hiperglicemia (Bahia *et al.*, 2006). Além disso, já foi demonstrado que independentemente do grau da SM, os níveis de PCR podem prever de forma independente a ocorrência de eventos futuros de DCV (Ridker *et al.*, 2003; Singh-Manoux *et al.*, 2017; Syauqy *et al.*, 2018)

A PCR de alta sensibilidade aumenta agudamente após lesão tecidual incluindo infarto agudo do miocárdio. Sua medida é o principal fator correlativo para eventos clínicos como inflamação arterial, angina instável, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica (Ramesh *et al.*, 2018).

Níveis de PCR também estão mais elevados em sujeitos com síndrome metabólica e com resistência à insulina quando comparados aos sujeitos com a síndrome e sem o quadro de resistência (Indulekha *et al.*, 2011). Isso significa que esses indivíduos apresentam risco ainda maior de apresentar doença coronariana pré-matura.

### *IL-6*

A IL-6 é um marcador liberado tanto pelo músculo esquelético como pelo tecido adiposo em humanos (Morrison *et al.*, 2008). Apesar de estar envolvido em eventos inflamatórios e anti-inflamatórios, ela tem sido positivamente associada com a CA, insulina prandial e DM2 (Pradhan *et al.*, 2001). Em contrapartida, apresenta relação negativa com HDL-c. O aumento de IL-6 está relacionado com elevação da atividade da AMP quinase em diversos tecidos e tem impacto tanto no metabolismo lipídico como no glicêmico.

Os níveis de IL-6 são elevados em DM2. Essas citocinas, regulam/estimulam a produção de moléculas de adesão, mediadores quimioestáticos, de proteínas de fase aguda e de citocinas que amplificam a resposta inflamatória (Rodrigues *et al.*, 2017).

A IL-6 provoca prejuízo na sinalização de insulina e isso ocorre em nível de substrato do receptor de insulina (IRS-1), os quais na presença de IL-6 desencadeiam efeito reverso da fosforilação de tirosina induzida por insulina (Rieusset *et al.*, 2004). Isso significa que a IL-6 possa ser um possível mediador da resistência à insulina (Fasshauer *et al.*, 2004).

A obesidade visceral é caracterizada pelo aumento do tamanho dos adipócitos e pelo recrutamento de células de defesa, o que desencadeia uma resposta pró-inflamatória. Portanto, nessa condição, há produção de mediadores inflamatórios, como IL-6 e PCR. Isso explica a relação entre CA, IMC e IL-6 e PCR. Essas citocinas pró-inflamatórias podem atuar em seguida em inúmeras vias, incluindo a proteína quinase (PKC) para induzir a resistência à insulina. Essas propriedades inflamatórias, implicam em dano celular endotelial, o que leva a uma disfunção vascular e até aterosclerose (Srikanthan *et al.*, 2016). Essa associação próxima de PCR e IL-6 com a síndrome metabólica e com cada um dos seus componentes sugerem que eles sejam fatores importantes de progressão da síndrome e poderiam ser utilizados também como complementos do painel de diagnóstico clínico e laboratorial.

### *Biomarcadores endoteliais*

#### *Endotelina-1 (ET-1)*

A disfunção endotelial (DE) é o precursor da doença aterosclerótica e é evidente em pacientes com obesidade associada à SM devido ao excesso de vasoconstrição decorrente do aumento da endotelina-1 (ET-1), um mediador de vasoconstrição (Schinzari *et al.*, 2018).

A ET-1 é um hormônio secretado por células endoteliais pelas vias constitutiva e regulada. Sua síntese e liberação é regulada por fatores físicos e químicos, como hipóxia, acidez, angiotensina II, vasopressina, trombina, fatores de crescimento e citocinas. Sua síntese é inibida por óxido nítrico (NO), peptídeos natriuréticos, prostaciclina, heparina e aumento do fluxo sanguíneo (La e Reid, 1995).

Embora sua maior atividade seja no tônus vascular, ET-1 também é responsável pela proliferação de fibroblastos (Macnulty *et al.*, 1990) e induz a produção de citocinas via

receptor ET<sub>A</sub> em macrófagos (Ruetten e Thiemermann, 1997). Em camundongos, a superexpressão de genética de ET-1 aumenta o estresse oxidativo devido ao aumento da atividade de NADPH oxidase, promove hipertrofia e induz a inflamação local caracterizada pela infiltração de macrófagos (Amiri et al., 2004).

ET-1 promove hipertrofia cardíaca em diversas vias. Uma delas é através da fosfolipase-c (PLC). A ligação de ET-1 ao seu receptor ET<sub>A</sub> induz a dissociação de pequenas proteínas G, ativação de PLC e produção de trifosfato de inositol (IP<sub>3</sub>) e diacilglicerol (DAG) em miócitos (Shubeita et al., 1990). Em resposta ao ET-1, proteínas quinase PKC $\delta$  são ativadas pela DAG. PKC provoca alteração de GDP a GTP da pequena proteína G Ras, que ativa cascata de PKC Raf-MKK1/2-ERK1/2. Por fim, ERK1/2 (Bogoyevitch et al., 1994) promove transcrição de genes que codificam fator de resposta rápida, o qual causa hipertrofia (Marshall et al., 2010). O bloqueio da atividade de ET-1 aumenta o grau de sobrevivência de ratos em modelo de falência cardíaca (Sakai et al., 1996).

ET-1 também apresenta efeitos cardioprotetores importantes. ET-1 miocardial pode ser benéfico dependendo da condição fisiológica. Entre esses efeitos podem ser destacados a prevenção da apoptose em sobrecarga cardíaca induzida por bandagem aórtica (Zhao et al., 2006), previne a fase precoce da citotoxicidade induzida pela doxorrubicina (Suzuki e Miyauchi, 2001) e a infusão de pré-condicionamento de ET-1 pode reduzir o tamanho do infarto em ratos submetidos à isquemia/reperfusão (Gourine et al., 2005).

Na situação de síndrome metabólica, em pacientes obesos, a DE ocorre não somente por uma falha na liberação de óxido nítrico (NO) mas também pelo aumento de ET-1, via mecanismo independente da atividade de leptina (Schinzari *et al.*, 2018).

#### *VCAM-1 e ICAM-1*

As moléculas de adesão vascular (VCAM-1) e as moléculas de adesão intravascular (ICAM-1) são biomarcadores plasmáticos de DE. Elas são expressas na superfície do endotélio em resposta a uma ativação por citocinas inflamatórias e outros estímulos. Essas moléculas se ligam a leucócitos específicos de adesão, aumentando a afinidade desses leucócitos na superfície endotelial e eventualmente aumentam a trans migração endotelial, contribuindo assim para a doença cardiovascular (Steyers e Miller, 2014).

A DE está fortemente relacionada à RI na síndrome metabólica. A hiperglicemia e a RI causam aderência de leucócitos, produção de superóxido e altera a função endotelial via inibição da via de produção de NO e aumento de ET-1, ICAM-1 e VCAM-1 (Gonzalez-Chávez *et al.*, 2018).

A dislipidemia tem relação direta com a DE. Níveis elevados de LDL e CT prejudicam a função endotelial, enquanto que níveis elevados de HDL promovem resultados contrários (Norata *et al.*, 2002). Em pacientes lipidêmicos, o LDL-ox reduz a viabilidade de NO, ou por reduzir a atividade de NOS ou por aumentar o seu metabolismo pela ADMA (Vladimirova-Kítova *et al.*, 2008). Lipoproteínas também implicam em produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) via modulação da atividade da NOX e por permitir o acoplamento da eNOS. A modulação da síntese de NO e ROS oxida LDL e induz a up regulation da expressão de CAM na superfície endotelial e promove secreção de TNF-  $\alpha$  (Stancu *et al.*, 2012).

A inflamação crônica também está associada com lesão do endotélio e morbidade cardiovascular. Fator de necrose tumoral (TNF- $\alpha$ ), o estresse oxidativo, a dislipidemia e doença autoimune são estímulos para ocorrência de DE em pacientes com doença inflamatória crônica (Steyers e Miller, 2014). As patologias e alguns dos marcadores envolvidos na síndrome metabólica mencionados no texto estão resumidos na Figura 3.

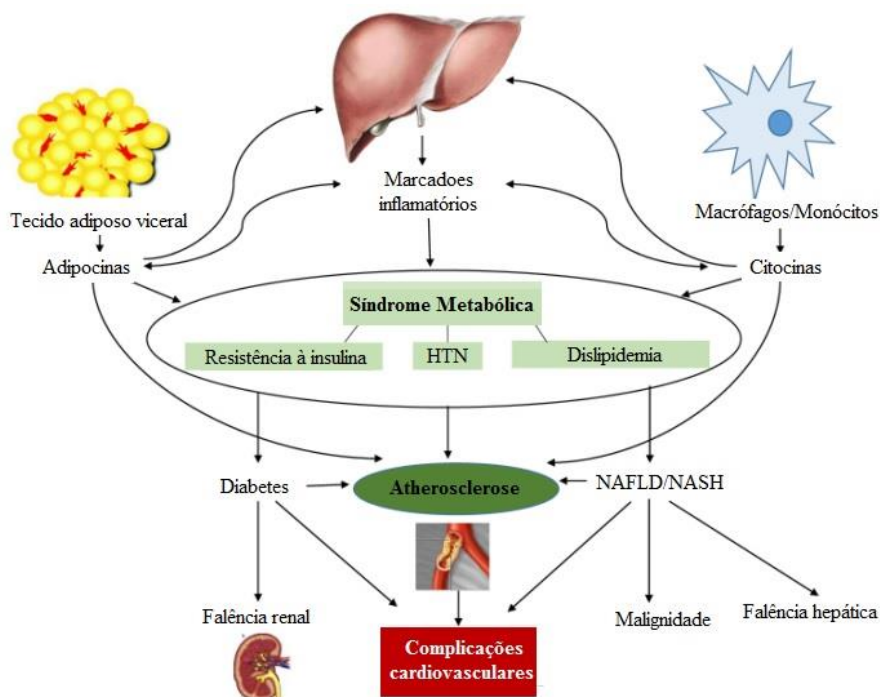


Figura 3. Interação das adipocinas, citocinas e marcadores endoteliais que contribuem para o desenvolvimento da síndrome metabólica e suas complicações. HTN: hipertensão; NAFLD/NASH: doença do fígado gorduroso não alcoólico/esteatose hepática não alcoólica  
Fonte: Srikanthan *et al.* (2016).

## 2.2. *Ilex paraguariensis* A. St. -Hil.

### 2.2.1. Aspectos botânicos e etnobotânicos

O mate, *Ilex paraguariensis* St. Hil. var. *paraguariensis* (Aquifoliaceae) é utilizado popularmente há séculos e foi adotado pelos guaranis, habitantes nativos da região que compreende o Paraguai, Uruguai, nordeste da Argentina e sul do Brasil. Essa população consumia a planta na forma de bebida para efeito estimulante ou propriedades medicinais. (BRACESCO *et al.*, 2011). A erva despertou interesse por parte dos colonizadores europeus que chegaram ao Brasil no século XVI, pois as características descritas eram de “atenuadora da fome, descanso para os músculos (...) e tornava o índio ‘dono da floresta’ de espírito altamente belicoso” (Daniel, 2009). O General Domingo Martínez Irala foi um conquistador e colonizador espanhol que, em 1954, com seus soldados, na tentativa de expandir a colônia Paraguaia, alcançou a bacia do Paraná. Ali, foi recebido por guairenhos (índios do Guaíra).

Atualmente, os estados de Mato Grosso do Sul, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul produzem em 99,26% da área ervateira produtiva no Brasil, para uma produção anual

de 619.003 toneladas em 2017. Aproximadamente 50,00% dessa produção ocorre no Rio Grande do Sul (Brasil, 2018).

O chimarrão e o tereré são as bebidas mais consumidas com a erva-mate. No chimarrão a água é aquecida sem atingir a fervura e derramada sobre a erva-mate. A bebida é muito consumida especialmente nos estados do Rio Grande do Sul, Santa Catarina e, com menos frequência, Paraná. Já o tereré é preparado com água gelada a qual é vertida sobre a erva. Seu consumo se dá especialmente no Mato Grosso do Sul e Paraguai (Daniel, 2009).

*Ilex paraguariensis* é uma árvore subtropical dióica que pode atingir até 18 m de altura. A árvore de mate é produtora de flores e fruto. Sua floração ocorre de outubro a novembro e produz frutos de março a junho. A planta necessita de um regime de precipitação anual de no mínimo 1200 mm distribuídos ao longo do ano (Heck e De Mejia, 2007). A figura 4 apresenta folhas de erva-mate.



Figura 4. Folhas de erva-mate. Fonte: Heck e De Mejia, 2007.

Por se tratar de uma árvore de porte relativamente desenvolvido, o emprego do termo “erva” apresenta mais origem histórica e não está relacionado à descrição da espécie. Os ramos são acinzentados e possuem em média 50 cm de diâmetro. Suas folhas são simples,

alternas, subcoriáceas, com formato obtuso e margem serrada-crenada da porção mediana até a extremidade superior (Macari Junior, 2005; Vieira, 2012).

### 2.2.2 Beneficiamento da erva-mate

Algumas etapas do processamento da erva-mate (como a trituração, a desidratação e a tamisação) e o modo de consumo tradicional (como a temperatura da água, número de indivíduos que compartilham a bebida, tempo de contato da água com erva) podem alterar a concentração dos componentes químicos extraídos nas bebidas típicas tereré e chimarrão.

O processo de beneficiamento do mate compreende duas etapas distintas: os ciclos de cancheamento e a industrialização. O cancheamento se divide em sapeco, desidratação e fragmentação (trituração). A industrialização é realizada em engenhos e se resume a três operações: classificação, armazenamento, moagem, mistura (ou homogeneização) e empacotamento (Mendes, 2005).

#### *Sapeco*

O sapeco tem a função de evitar o escurecimento das folhas da erva após a secagem e desativar enzimas como as polifenóis oxidase. Essa etapa consiste na passagem das folhas em calor excessivo para promover a abertura dos estômatos, perda da umidade e decomposição das enzimas oxidativas. Tem como consequência o escurecimento do material (Heck e De Mejia, 2007). É realizado diretamente em uma fogueira rodeada por anteparo de madeira ou barro (sapeco manual) ou em um cilindro metálico, perfurado ou não, mas movido mecanicamente (sapeco industrial).

O sapeco e a desidratação são efetivos para a redução do amargor da erva. A temperatura média de entrada no sapecador é de 400°C e na saída é de 65°C (Esmelindro *et al.*, 2002). A perda da umidade pelo sapeco também tem a propriedade de fixar a cor verde oliva da erva, característica de melhor qualidade. Possivelmente o teor de cafeína presente na erva sofre sublimação ou complexação com os polifenóis, o que justifica a alteração do sabor.

### *Desidratação ou secagem*

O objetivo da secagem é desidratar as folhas. O carijo, a furna e o barbacué são sistemas utilizados nesse ciclo. O carijo (Figura 5A), que está em desuso atualmente, consistia em um galpão coberto e com laterais abertas. No interior no galpão montavam-se um jirau de forquilhas de madeira onde instalavam-se os feixes de erva-mate. As fogueiras eram mantidas ativas por um período de 12 a 14 horas, até que as folhas de mate ficassem quebradiças.

A furna consistia em uma escavação do solo onde se faz o fogo, que se comunicava através de um pequeno túnel com a área do jirau que sustentava os feixes de erva-mate. Os feixes mais próximos recebiam labaredas e os mais afastados apenas o calor. Por isso, os sistemas de secagem foram aperfeiçoados com o barbacué (Figura 5B). O barbacué brasileiro trata-se de secagem em fornalha fora ou sob o galpão. O piso possui aberturas de metal perfurado ou madeira espaçada, por onde chega o calor (Daniel, 2009).



Figura 5. Desidratadores de erva-mate. (A) Tendal do carijo. (B) Barbacué tipo paraguaio. Fonte: Daniel, 2009.

A desidratação também pode ser realizada em dois tipos de dessecadores mecânicos: o rotativo e o de esteira. No secador rotativo (Figura 6) a fumaça entra em contato direto com a planta a qual permanece no interior do secador por cerca de 30 minutos. Ali, a temperatura varia de 350°C a 110°C entre início e final da secagem. Já na esteira o contato da planta com a fumaça é indireto, afetando menos a qualidade da matéria-prima. Nesse caso a secagem ocorre a uma temperatura média de 90°C a 110°C e por isso a secagem é mais demorada (em torno de 3 horas) (Esmelindro *et al.*, 2002).





Figura 6. Sapecador rotativo de erva-mate. Fonte: Maccari Junior, 2005.

#### *Fragmentação (trituração) e classificação*

A trituração é realizada logo após a secagem e desidratação e utiliza-se para isso a cancha, que consiste em um triturador normalmente feito de madeira dura ou de metal. Esse triturador pode ser um sistema de discos ou martelos picadores. A erva, agora chamada de cancheada, é peneirada por um jogo de tamises cuja finalidade é a classificação por tamanho e separação dos palitos (talos) e do pó (goma) (Daniel, 2009; Maccari Junior, 2005).

#### *Armazenamento ou estacionamento*

O armazenamento da erva-mate tem o objetivo de maturar o produto. As reações de oxidação ocorrem durante o armazenamento e podem alterar propriedades organolépticas do produto. O produto de coloração verde é não estacionado ou estacionado por tempo menor. Já o amarelo foi estacionado por longos períodos (entre 6 a 24 meses). O sistema acelerado de estacionamento (30 a 60 dias) ocorre em câmaras automatizadas. Se a finalidade do ervateiro é a produção de chimarrão, o armazenamento ocorre em menor tempo possível e nesse caso deve-se realizar primeiramente a moagem da erva (Maccari Junior, 2005).

#### *Moagem*

A moagem é realizada no *soque* que consiste em um conjunto de pilões que socam a erva até que ela atinja um ponto ideal. No entanto, há outros moedores mais eficientes. Outros

produtos, como ervas medicinais, são adicionados após a moagem e em seguida é realizada a homogeneização. Se o objetivo for o preparo do tereré, após a fragmentação ocorre a classificação. Essas etapas podem acontecer antes ou após o armazenamento (Daniel, 2009).

A erva de chimarrão consiste num produto com uma variedade inferior de palitos (talos) e mais esverdeado quando comparado com o tereré. A figura 7 apresenta o esquema das etapas de processamento do tereré e do chimarrão:

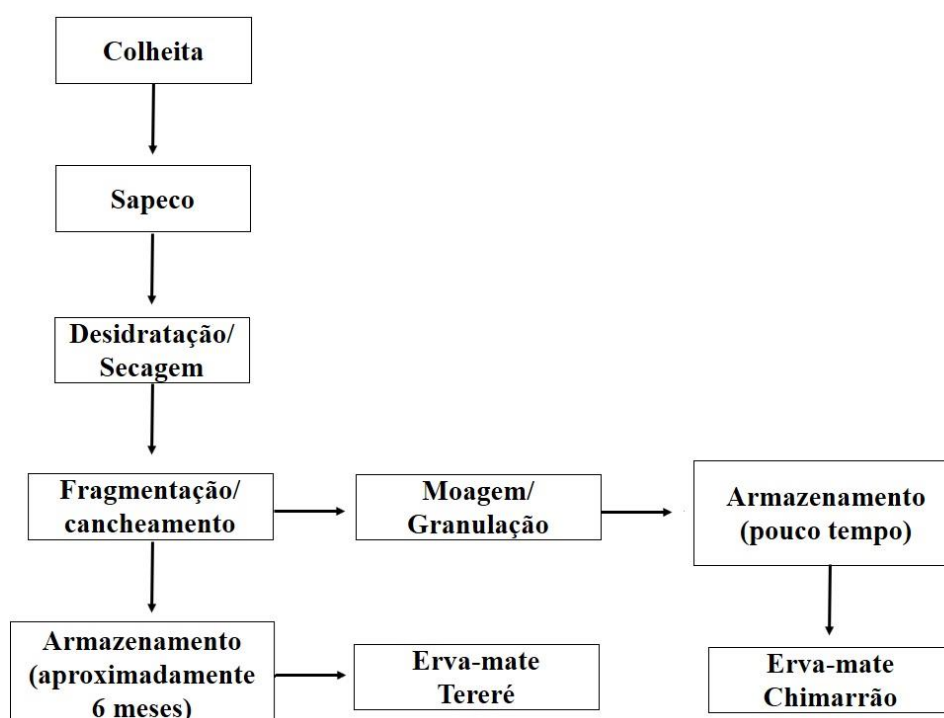


Figura 7. Esquema de processamento da erva-mate para obtenção de tereré e chimarrão. Fonte: adaptado de Heck e Mejia (2007).

#### *Preparo do chimarrão e do tereré*

O chimarrão é uma bebida preparada com água quente e consumida em um recipiente chamado de *cuia*. O mate preenche cerca de dois terços da *cuia* e o volume livre é preenchido com a água. A infusão do mate é parcial e o extrato resultante é sugado por um aparato de metal chamado de *bomba*. Já o tereré é consumido com água gelada e a infusão é completa. A *cuia* e a *bomba*, embora com características diferentes, também são utilizados no consumo do tereré (Meinhart *et al.*, 2010).

### 2.2.3 Estudos pré-clínicos e atividades biológicas gerais

O principal efeito buscado por quem consome o mate é o estimular o sistema nervoso central devido à presença da cafeína. No entanto, outros componentes presentes nas folhas, como os polifenóis, apresentam efeitos importantes como o protetor do dano cardiovascular.

Estudos *in vitro* com *I. paraguariensis* comprovaram atividade antioxidante por diferentes metodologias (Filip *et al.*, 2001; Schinella *et al.*, 2009; Bremer Boaventura *et al.*, 2015). O mate também inibiu oxidação de LDL (Gugliucci e Stahl, 1995) por atuar na atividade da enzima paraxonase-1 plasmática (PON-1) (Fernandes, Machado Mde, *et al.*, 2012). Essas propriedades antioxidantes parecem estar relacionadas com a presença de compostos fenólicos da espécie. As saponinas e compostos fenólicos presentes no mate são responsáveis pela atividade anti-inflamatória mediada pela modulação de fator nuclear kappa B (NFkB) (Puangraphant e De Mejjia, 2009; Puangraphant, S. *et al.*, 2011) e prevenção da inflamação e câncer do colo em células humanas (Puangraphant, Sirima *et al.*, 2011). A espécie também apresentou efeito cardioprotetor via mecanismo NO-dependente (Schinella *et al.*, 2005).

A erva-mate apresenta efeito *in vitro* contra citotoxicidade induzida por peroxinitrito (Bixby *et al.*, 2005), que implica no mecanismo patogênico do acidente vascular, isquemia do miocárdio, diabetes e diabetes associada a disfunção cardiovascular (Szabo, 2003).

A glicação ou caramelização ou reação de Maillard, é uma reação não enzimática entre um carboidrato e uma proteína, que ocorre em decorrência de complicações diabéticas especialmente aquelas relacionadas à hiperglicemia. Ainda com relação aos estudos *in vitro*, extratos concentrados de erva-mate também inibem a formação de produtos finais de glicação avançada (AGEs) semelhantemente a dois padrões de inibição (aminoguanidina) (Lunceford e Gugliucci, 2005). Os AGEs são formas irreversíveis que se acumulam com a idade, aterosclerose e diabetes *mellitus*.

Diferentes experimentos apresentaram impacto da erva-mate sobre o metabolismo lipídico e outros fatores de risco cardiovasculares. Modelos animais com dislipidemia, obesidade e aterosclerose receberam suplementação de produtos à base de mate e apresentaram melhora no perfil lipídico, redução da resistência à insulina, melhora da função endotelial e inibição da progressão da aterosclerose. A tabela 5 apresenta alguns ensaios pré-

clínicos que foram realizados com extratos de *I. paraguariensis*, contendo dosagem, tempo de tratamento e modelos animais utilizados.

Tabela 5. Estudos pré-clínicos sobre o impacto do consumo da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) em parâmetros inflamatórios e cardiovasculares.

Extrato (dosagem)	Modelos experimental (animais, dieta e tratamento)	Parâmetros avaliados	Resultados conclusões	Referências
Fração butanólica obtida do extrato etanólico	Coelhos machos Nova Zelândia (DRC=1%; 10, 30 e 100 mg/kg por 4 semanas)	Perfil lipídico sérico, lesões ateroscleróticas, glicose plasmática; dosagem de NO, sICAM-1 e sVCAM-1, IL-1 $\beta$ e IL-6	Atenuação do estresse oxidativo e nitrosativo, melhora da função endotelial e aumento do NO.	(Santiago et al., 2017).
Extrato aquoso de EC (0,05 g/mL)	Coelhos machos Nova Zelândia (DRC=1%, 60 dias <i>ad libitum</i> )	Perfil lipídico sérico, lesões ateroscleróticas, TBARS e atividade de enzimas oxidativas	Inibição das lesões ateroscleróticas, sem alterações dos lipídios séricos, de TBARS aórtico e das enzimas oxidativas	(Mosiman et al., 2006).
Extrato aquoso de Folhas secas e EC (0,07 g/mL)	Ratos machos Wistar (dieta padronizada, 30 dias de tratamento)	Perfil lipídico sérico, glicose plasmática, gordura abdominal e epididimal	Aumento da glicose plasmática e redução do depósito de gordura se alteração do perfil lipídico	(Silva et al., 2011)
Extrato seco alcoólico das folhas secas (rendimento de 20%)	Ratos Sprague-Dawley (DRG = 17% banha de porco e 3% óleo de milho; 60 dias de tratamento com 0,24% p/p);	Gordura visceral acumulada, marcadores de obesidade, peso corporal, ingestão de alimento, perfil lipídico, insulina e leptina, expressão de mRNAe AMPK.	Efeito protetor contra obesidade, aumento da expressão de proteínas de acoplamento, aumento da oxidação de ácidos graxos via fosforilação de AMPK	(Pang et al., 2008)
Extrato hidroalcoólico de folhas secas (1:2,5 p/p) e fração n-butanólica	Ratos machos Wistar (DRC = 2%, 30 dias de tratamento, frações de 200, 400 e 800 mg/kg/dia)	Efeitos no perfil lipídico, peso corporal e índice aterogênico	Redução dos triglicerídeos séricos, colesterol e índice aterogênico	(Balzan et al., 2013)

Extrato aquoso de EC	Ratos machos Wistar (DRC = 1%, tratamento por 21 dias (v.o.) <i>ad libitum</i> )	Perfil lipídico, índice aterogênico, capacidade antioxidante sérica, biomarcadores de lipídios e proteínas, catalase, glutatona redutase, superóxido dismutase, gordura fecal, determinação protéica e de polifenóis	Ação hipolipidêmica, redução de TG e LDL-c.	(Bravo et al, 2014).
Extrato aquoso de EC e fração purificada de saponinas (SP)	Ratos machos Wistar (dieta padronizada, tratamento por 30 dias <i>ad libitum</i> , EC =27,7 mg/mL	Perfil lipídico, gordura intra-abdominal e epididimal e nível de oxidação glicêmica	SP reduziu TG, gordura hepática e tecidual e redução oxidação glicêmica	(Resende et al., 2012)
Extrato aquoso de EC contendo 340 mg/g de compostos fenólicos totais	Ratos Sprague-Dawly (DRG, tratamento por 30 dias (v.o.)	Efeitos na expressão da disfunção endotelial, de ET-1, NO, tromboxana B <sub>2</sub> e 6- keto-PGG1 $\alpha$ . Análise histológica de da aorta torácica, ICAM-1. Expressão proteica, LDLR e SR-B1 mRNA	Melhora do perfil lipídico e da função endotelial; aumento de NO e modulação da expressão de LDLR e genes SR-B1	(Gao et al., 2013)
Extrato aquoso liofilizado de EC tostado (total de compostos fenólicos = 348,80 mg/mL $\pm$ 16,35 mg/g)	Camundongos machos Swiss (DRC = banha de porco 31.2% p/p, tratamento por 60 dias (v.o.), 1 mg/kg/dia por gavagem	Resistência à insulina, parâmetros inflamatórios, glicose plasmática, expressão de InsR e de marcadores inflamatórios	Efeito anti-inflamatório mediado por NF-kB, inibição de TNF- $\alpha$ hepática e restauração de sinalização de insulina hepática e muscular	(Arçari et al., 2011)
Extrato aquoso de EC	Ratos machos Wistar (DRC = 45% kcal, tratamento por 60 dias (v.o.), 0,01 g/dia no primeiro período e 0,02 g/dia no segundo período)	Efeito nos parâmetros inflamatórios induzidos pela obesidade, peso corporal e tecido adiposo; parâmetros lipídicos, níveis de insulina e leptina, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-10	Reversão do efeito pró-inflamatório induzido pela obesidade, efeito anti-inflamatório via modulação de NF-kB	(Pimental et al., 2013)
Extrato aquoso de folhas secas (rendimento 25,7%)	Camundongos machos obesos e diabéticos Tsumura Suzuki (dieta padronizada, tratamento por 50	Glicose plasmática, tolerância à glicose, tolerância à insulina, triglicerídeos, ácidos graxos	Melhora da resistência à insulina e dislipidemia na síndrome metabólica	(Hussein et al., 2011)

	dias, 10 mg/kg/dia	livres, insulina plasmática, adipocitina	
Extrato aquoso de chá mate	Ratos machos Wistar (tratamento por 30 dias, 1g/kg/dia)	Perfil lipídico, glicose plasmática, leptina, insulina, TG hepático, atividade antioxidantes enzimática, conteúdo de Malondialdeido	Melhora da atividade hipotalâmica e sinalização da insulina, redução do estresse oxidativo e da gordura hepática (Conceição et al., 2017)

EC = Erva-mate comercial; DRC = dieta rica em colesterol; TBARS = Substâncias reativas a ácido tiobarbitúrico; v.o. = via oral; SP = Fração purificada de saponinas; ICAM-1 moléculas de adesão intracelular; NO = óxido nítrico, LDLR = receptor de LDL; SR-B1 = sequestrador de receptor B1; InsR = Receptor de insulina;

Coelhos machos, Nova Zelândia, hiperlipidêmicos, que foram tratados com fração butanólica concentrada de erva-mate, apresentaram regressão da aterosclerose através da atenuação do estresse oxidativo e nitrosativo que afetam especialmente os níveis de IL-1 $\beta$ , IL-6, sICAM-1 e sVCAM-1 (Santiago *et al.*, 2017). Resultado semelhante foi observado ao administrar extrato aquoso de *I. paraguariensis* (Mosimann *et al.*, 2006). Não foi observada redução do colesterol plasmático em nenhum dos estudos.

Ratos que receberam dieta hiperlipidêmica e tratados com diferentes extratos de erva-mate apresentaram redução do depósito de gordura tecidual (Silva *et al.*, 2011), efeito protetor de obesidade induzida por dieta rica em gordura (Pang *et al.*, 2008, redução de TG, LDL-c (Bravo *et al.*, 2014), colesterol e redução do índice de aterosclerose (Balzan *et al.*, 2013), reversão da lipogênese hepática induzida por dieta rica em gordura efeito anti-obesidade no metabolismo lipídico (Resende *et al.*, 2012), melhoria do metabolismo lipídico e da função endotelial (Gao *et al.*, 2013), reversão da atividade pró-inflamatória após obesidade induzida por dieta e efeito anti-inflamatório modulado por NF $\kappa$ B (Arçari *et al.*, 2011; Pimentel *et al.*, 2013).

Outro estudo realizado com extrato aquoso de erva-mate também melhorou resistência à insulina e dislipidemia na síndrome metabólica em camundongos obesos diabéticos Tsumura Susuki (TSDO). Os mecanismos envolvidos são aumento da sensibilidade periférica à insulina aumento da absorção de glicose (Hussein *et al.*, 2011).

Extrato aquoso de erva-mate melhorou a atividade hipotalâmica da insulina, permitindo melhora da sua sinalização e aumento da sua sensibilidade central e periférica, reduziu o estresse oxidativo, a microesteatose e o acúmulo de TG no fígado de animais

sobrepeso com resistência central à leptina e insulina. A normalização da sinalização se deve provavelmente à atividade anti-inflamatória da espécie. Os resultados sugerem então o uso da *Ilex paraguariensis* como estratégia terapêutica para o manejo da obesidade (Conceição *et al.*, 2017).

Ensaio de toxicidade pré-clínicos com extrato seco de erva-mate foram realizados e a espécie foi bem tolerada com relação à parâmetros hematológicos, séricos, peso corporal, e histopatológicos durante administração aguda, subcrônica e crônica em ensaio pré-clínico com ratos Wistar e coelhos Nova Zelândia (de Andrade *et al.*, 2012). Há também segurança embrionária em ratas prenhas nas etapas de pré-implantação embrionária nem na organogênese (De Sousa *et al.*, 2018).

Em síntese, os estudos pré-clínicos apresentados indicam que o consumo de mate melhora os efeitos de modulação do perfil lipídico, o metabolismo glicêmico e a função endotelial. Ainda, preserva a função vascular e previne o desenvolvimento da aterosclerose. No entanto, ainda é necessário investigar os mecanismos celulares envolvidos nessas atividades.

#### 2.2.4 Ensaio clínicos e efeitos na saúde humana

Algumas pesquisas sobre o efeito da erva-mate na saúde cardiovascular e no metabolismo glicêmico foram realizadas. Nelas, concluiu-se que doses agudas administradas em indivíduos saudáveis promovem aumento da capacidade antioxidante sérica pós-prandial e da resistência da oxidação da LDL (Arçari *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2008).

Sujeitos com sobrepeso entre 20-39 anos em ensaio randomizado e duplo-cego durante 6 semanas consumiram extrato de mate verde e a porcentagem de gordura corporal e a massa corporal gorda sofreram relevante redução (Kim, Hwa Jung *et al.*, 2012).

Indivíduos dislipidêmicos também apresentaram aumento da proteção antioxidante plasmática com o consumo do mate, independentemente da intervenção dietética. O estudo foi de longa duração (90 dias de tratamento) e os voluntários consumiram 1 litro de mate diariamente ao longo desse período (Boaventura *et al.*, 2012).

Efeitos positivos no perfil lipídico, glicêmico e em parâmetros antropométricos também foram descritos em pesquisa com seres humanos saudáveis e não saudáveis. O

consumo de 1 litro de chá de mate torrado (0,02g/mL) por pacientes diabéticos e pré-diabéticos durante 60 dias reduziu significativamente a glicose em jejum, a hemoglobina glicada, LDL-c, sem redução do consumo de calorias totais, proteínas, carboidratos, colesterol e fibras (Klein *et al.*, 2011).

Em um estudo de caso post hoc realizado com mulheres pós-menopausa do Grupo de Obesidade e Fratura, em Santa Maria (RS), investigou a influência do consumo de 1 L diário de infuso de mate em parâmetros cardiovasculares. O grupo de mulheres que consumiu o infuso teve significativa redução do diagnóstico de doença coronariana, dislipidemia, hipertensão e também glicemia. Interessantemente, níveis séricos de CT, LDL-c, HDL-c e TG não apresentaram diferença entre os grupos consumidor e não-consumidor, sugerindo, portanto que o efeito do mate pode ter sido indireto (Da Veiga *et al.*, 2018).

O número de trabalhos publicados e as discrepâncias entre as metodologias (duração da pesquisa, tipo e dose do produto utilizado e a diversidade nos dados aferidos dificultam o delineamento das conclusões (Cardozo Junior e Morand, 2016).

A dificuldade da pesquisa clínica é a investigação do mecanismo de ação, uma vez que existem fatores que podem influenciar os resultados, tais como hábitos do indivíduo e alimentos ingeridos.

#### 2.2.5. Composição química

As folhas de *I. paraguariensis* contêm uma variedade de constituintes, que incluem nutrientes, minerais e vitaminas solúveis em água. Seus metabólitos principais são polifenóis (ácidos fenólicos e flavonoides), alcaloides (metilxantinas – cafeína, teofilina e teobromina) e terpenos (carotenoides e saponinas) (Heck e De Mejia, 2007). A tabela 6 apresenta os componentes químicos e as respectivas quantidades presentes em porção de erva-mate considerada como a média consumida diariamente.



Tabela 6. Composição química de uma porção de 62,5 g de folhas secas de erva-mate considerada a média consumida diariamente.

Constituintes	Quantidade
Nutrientes (g)	
Proteínas (N x 5,75)	0,8
Carboidratos	6,5
Gordura total	0,5
Minerais (mg)	
Potássio	679
Magnésio	185
Enxofre	59
Cálcio	44
Fósforo	41
Manganês	34
Zinco	2,26
Ferro	0,33
Cobre	0,29
Vitaminas (mg)	
Vit. C	15,0
Vit. B1	3,60
Vit. B2	1,20
Vit. B6	0,47
Fitoquímicos (mg)	
Polifenóis	3767 – 4085
Metilxantinas	303 – 962
Saponinas	50 - 146

DP = Desvio padrão. Fonte: Cardozo Junior e Morand, 2016.

As saponinas são um vasto grupo de glicosídeos que se dissolvem em água e formam soluções coloidais que espumam sob agitação. As principais aplicações das saponinas são as propriedades de ruptura da membrana e formação de micelas com esteroides e sais biliares. Saponinas triterpênicas e oligoglicosídicos monoterpênicos da erva-mate exibiram atividade inibitória da lipase pancreática e são também responsáveis pelo efeito anti-obesidade da erva-mate (Sugimoto *et al.*, 2009). Entre outras propriedades farmacológicas das saponinas destacam-se a anti-inflamatória, antibacteriana, antiparasitária e antiviral (Sparg *et al.*, 2004).

As folhas de *I. paraguariensis* contêm significante quantidade de saponinas triterpênicas. Saponinas monodesmosídicas e bidesmosídicas foram isoladas de partes aéreas de erva-mate como o ácido oleanólico e ursólico (Martinet *et al.*, 2001).

A cafeína (1, 3, 7-trimetilxantina), a teobromina (3,7-dimetilxantina) e teofilina (1,3-dimetilxantina) são alcaloides purínicos encontrados em espécies alimentícias (Figura 8).

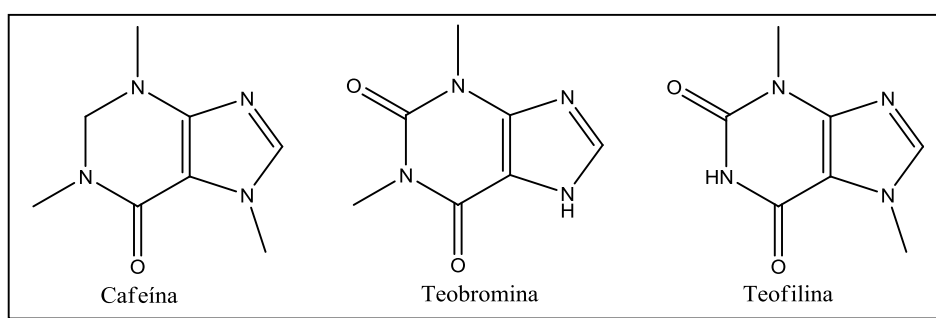


Figura 8. Estrutura molecular dos alcaloides purínicos

O conteúdo total de cafeína (25-175 mg) e teobromina (6-28,5mg) após o consumo de mate depende das características do produto, do modo de preparação e da quantidade ingerida. Amostras de extrações sequenciais de tereré e chimarrão foram analisadas em HPLC-DAD para quantificação do conteúdo de cafeína e compostos fenólicos extraídos com o consumo de bebidas típicas. A quantidade total de cafeína extraída foi de 6,33 mg no chimarrão e 68,29 mg de cafeína no tereré (Gebara *et al.*, 2017).

A quantidade de cafeína e teobromina consumida em produtos do mate foi comparada com outras bebidas, como café, guaraná em pó e chocolate (Meinhart *et al.*, 2010). A quantidade de cafeína extraída em 100 mL de tereré e chimarrão corresponde, respectivamente, ao consumido em 10 e 25 mL de café expresso, 118 e 277 mL de bebida tipo cola, 34 e 80 mL de bebida energética, 0,5 e 0,11 g de guaraná em pó.

Embora as metilxantinas apresentem muitas propriedades farmacológicas, são os compostos fenólicos da família dos ácidos cafeoilquínicos o alvo da pesquisa com as atividades biológicas da erva-mate.

#### 2.2.5.1. Derivados cafeoilquínicos

Hidroxicinamatos são uma classe de metabólitos secundários de baixo peso molecular. Ácidos clorogênicos (CGAs) são derivados de ácidos hidroxicinâmicos, que estão presentes em diferentes espécies vegetais. Eles são ésteres formados entre ácido quínico e ácidos trans-cinâmicos, mais comumente ácido caféico, p-cumárico e ácido ferúlico (Clifford, 1999).

Os CGAs podem ser classificados pelo número de posição dos resíduos de acila. Mono e di ésteres de ácido caféico (mono-CQAs e di-CQAs), ácido p-cumárico, ácido p-cumaroilquínico (pCoQA) e ácido ferúlico (FQA). Esses são os principais ácidos da erva-mate. O ácido clorogênico mais comum é o ácido 5-O-cafeoilquínico (5-CQA), conhecido por ácido clorogênico (Tabela 7) (Clifford, 2000).

Tabela 7. Representação das estruturas dos principais ácidos clorogênicos da erva-mate.

Nome	Abreviação	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>
3-O-cafeoilquínico	3-CQA	AC	H	H
4-O-cafeoilquínico	4-CQA	H	AC	H
5-O-cafeoilquínico	5-CQA	H	H	AC
3,4-di-O-cafeoilquínico	3,4-diCQA	AC	AC	H
3,5-di-O-cafeoilquínico	3,5-diCQA	AC	H	AC
4,5-di-O-cafeoilquínico	4,5-diCQA	H	AC	AC

Fonte: Jaiswal *et al.*, 2010; Upadhyay e Mohan, 2013.

As principais propriedades medicinais da erva-mate são atribuídas ao seu alto conteúdo de compostos fenólicos (Balzan *et al.*, 2013; Bravo *et al.*, 2014; Baeza *et al.*, 2016). Cerca de 10% do peso do seu extrato seco são de derivados cafeoil, especialmente mono-cafeoilquínico (3-cafeoilquínico, 4-cafeoilquínico e 5-cafeoilquínico), di-cafeoilquínico (3,5-dicafeoilquínico, 4,5-dicafeoilquínico e 3,4-dicafeoilquínico) e traços de flavonoides e ácido caféico (Filip *et al.*, 2001).

Os CGAs apresentam uma variedade de atividades biológicas, como antioxidante, anti-inflamatória, inibição da mutagênese e carcinogênese, além de ser considerada benéfica para a saúde humana por prevenir doenças cardiovasculares e reduzir a absorção de glicose (Hemmerle *et al.*, 1997; Upadhyay, e Mohan, 2013). O 5-CQA é o único cafeoilquínico disponível comercialmente e já foi muito estudado por suas propriedades biológicas e farmacológicas (Upadhyay e Mohan, 2013).

#### 2.2.5.1.1. Absorção e metabolismo dos derivados cafeoilquínicos

Os ácidos clorogênicos e seus derivados de ésteres são formas menos absorvidas que os ácidos hidroxicinâmicos correspondentes livres (Manach *et al.*, 2004). Aproximadamente um terço do total de ésteres ingeridos são absorvidos na porção superior do trato gastrointestinal e o restante é absorvido no cólon, onde ocorre a metabolização pela microbiota que primeiro hidrolisa os ésteres a ácidos graxos livres (Del Rio *et al.*, 2010). As etapas de metilação, sulfonação e glucuronidação ocorrem no intestino delgado, no grosso e no fígado (Crozier *et al.*, 2009).

Gómez-Juaristi *et al.* (2018), estudaram o metabolismo dos polifenóis do mate. Os ácidos diidroxicinâmicos, que são formas reduzidas dos ácidos hidroxicinâmicos, principalmente os metabólitos conjugados de fase II formados após a absorção no cólon, são os metabólitos predominantes no plasma e na urina. A absorção direta de ésteres de hidroxicinamatos ocorre no intestino delgado e é confirmada pela presença dos ácidos cafeoilquínico, feruloilquínico e cumaroilquínico na urina, cujo pico ocorre entre 2-4 horas e a quantidade é de 1,6% da quantidade total de derivados fenólicos na urina. Não foram encontrados di-CQAs livres em amostras biológicas, ou seja, não há absorção direta desses diacilésteres e a biotransformação deles envolve uma hidrólise inicial a mono-CQA no intestino delgado.

Os polifenóis passam pela recirculação hepática após absorção intestinal e aqueles hidroxicinamatos que não são absorvidos no intestino delgado são hidrolizados por esterasas colônicas a ácidos hidroxicinâmicos (ácido caféico e ácido quínico) no intestino grosso. Em seguida, ocorre desidroxilação pela microflora, absorção e metabolismo hepático e renal. Os produtos conjugados de fase II são parcialmente absorvidos e metabolizados em derivados de fase II antes de atingir a circulação. Esses mecanismos podem explicar a longa permanência dos polifenóis no organismo e a extensão de sua bioatividade (Gómez-Juaristi *et al.*, 2018). Ácido benzoico é formado e conjugado com glicina resultando em ácido hipúrico e metade da quantidade ingerida de CGA é encontrada na urina na forma desse conjugado (Olthof *et al.*, 2001).

A biodisponibilidade dos compostos fenólicos no mate é baixa. Apenas 13,4% dos fenóis ingeridos são recuperados (Gómez-Juaristi *et al.*, 2018), diferentemente dos fenóis do café, que também contêm ésteres hidroxicinâmicos, cuja recuperação chega a 30% da dose de café ingerida (Stalmach *et al.*, 2009). Observou-se que há diferença na metabolização entre consumidores habituais de erva-mate e consumidores não-habituais, sugerindo alteração por adaptação da microbiota colônica. No entanto não há estudos que comparam a biodisponibilidade dos polifenóis do mate entre esses consumidores (Gómez-Juaristi *et al.*, 2018).

Há evidências de que alguns dos metabólitos absorvidos no cólon apresentam efeito anti-inflamatório em diferentes modelos (Larrosa *et al.*, 2009) e atividade antioxidante *in vitro*. Os principais metabólitos do ácido caféico e do ácido ferúlico foram sintetizados, purificados para investigação das atividades antioxidantes pelo ensaio de redução de íons ferro (FRAP) e ácido 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolino-6-sulfônico (ABTS). O ácido ferúlico-4'-O-sulfato e o ácido ferúlico-4'-O-glicuronídeo exibiram atividade antioxidante muito baixa, enquanto os derivados monossulfato do ácido cafeico foram 4 vezes menos eficientes como antioxidante em relação ao ácido cafeico. O acilglucuronídeo do ácido ferúlico mostrou forte ação antioxidante. Esses resultados são interessantes, pois aumentam a atividade dos polifenóis do mate após a metabolização (Piazzon *et al.*, 2012).

#### 2.2.5.1.2. Ácidos clorogênicos e o metabolismo lipídico

Os CGAs são agentes hipoglicêmicos e afetam também o metabolismo lipídico. Ratos Zucker obesos, hiperlipidêmicos e insulino-resistentes foram tratados com esses polifenóis e o

pico de glicose pós-prandial foi inferior ao pico antes do tratamento. Os mesmos animais apresentaram redução das concentrações de colesterol e triacilglicerol (Rodriguez De Sotillo e Hadley, 2002). CGAs e outros polifenóis do chá verde suprimem o ganho de peso, reduzir TG hepático, CT, leptina plasmática e massa gorda visceral em estudo *in vivo* (Cho *et al.*, 2010b)

Ácidos clorogênicos também podem reduzir o risco de eventos cardiovasculares por diminuir a oxidação de LDL a LDL-ox, a LDL-c e os níveis de malondialdeído (MDA) (Goldstein *et al.*, 1979).

Os mecanismos sugeridos para as atividades no metabolismo lipídico incluem ativação do metabolismo lipídico hepático, redução da absorção de gordura (Shimoda *et al.*, 2006), inibição de ácidos-graxo sintase, da 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA redutase, colesterol acil-CoA aciltransferase (Cho *et al.*, 2010b), inibem a absorção intestinal de lipídeos, a biotransformação hepática e a biossíntese de colesterol, inibição da HMG CoA redutase (Gebhardt, 2002), fortalecimento da atividade de palmitato de carnitina transferase (CPT) (Frank *et al.*, 2003).

#### 2.1.5.1.3. Ácidos clorogênicos e o metabolismo glicêmico

Os efeitos observados dos ácidos clorogênicos no metabolismo glicêmico incluem hipoglicemia, redução do risco de desenvolvimento de DM2, estímulo da secreção de insulina e melhora da tolerância à glicose e resistência à insulina (Van Dam *et al.*, 2004; Van Dam, 2008).

Muitos trabalhos que estudaram o efeito dos compostos fenólicos do café no metabolismo glicêmico observaram que a ingestão a longo prazo (semanas) da bebida cafeinada melhora o metabolismo glicêmico por reduzir a área sob a curva no ensaio TOTG e melhoram a resposta a resposta da insulina (Bhupathiraju *et al.*, 2014; Ding *et al.*, 2014; Jiang *et al.*, 2014). Estudos epidemiológicos de meta-análises concluem que tanto café cafeinado como descafeinado reduzem o risco de DM2 e um deles sugere que esse efeito é mais pronunciado no produto descafeinado (Pereira *et al.*, 2006). Essas informações são importantes, já que o perfil fitoquímico do café é bastante semelhante ao da erva-mate.

Diferentes mecanismos foram investigados *in vivo* para explicar esses efeitos. A melhora da sensibilidade à insulina pelos tecidos está associada à redução da glicose pós-

prandial (Ebina *et al.*, 1985). A expressão de receptores hepáticos de insulina na porção exon 11 pode explicar o impedimento da tolerância à glicose e da resistência à insulina (Rodriguez De Sotillo e Hadley, 2002).

CGAs reduzem a atividade da  $\alpha$ -amilase e da  $\alpha$ -glicosidase e suprimem a hiperglicemia pós-prandial (Tateishi *et al.*, 2004). CGAs também aumentam a captação de glicose por células L6 musculares e esse efeito é observado com estímulo de insulina. Ácidos clorogênicos do café atenuaram a absorção intestinal de glicose e atuam como antagonistas de transportadores de glicose (Johnston *et al.*, 2003).

A enzima glicose-6-fosfatase (G-6-Pase) é a principal responsável pela regulação homeostática da glicose plasmática e pela formação de glicose endógena de origem da gliconeogênese e glicogenólise. Um estudo com ácidos clorogênicos mostrou uma inibição dose-dependente da enzima (Hemmerle *et al.*, 1997). A diminuição da absorção de glicose também ocorre pela inibição da atividade hepática da G-6-Pase e também da absorção de glicose no intestino delgado. Assim, há menor quantidade de glicose circulante e da atividade da insulina (Meng *et al.*, 2013; Naveed *et al.*, 2018). A administração crônica de CGA em camundongos Leprdb/db inibiu a expressão da G-6-Pase atenuando a esteatose hepática, melhorando o perfil lipídico e a captação de glicose no músculo esquelético, tolerância à glicose, sensibilidade à insulina e dislipidemia (Ong *et al.*, 2013).

*Glucagon like peptide* (GLP-1) e *peptide insulinotropic dependent of glucose* (GIP) são incretinas que aumentam a secreção de insulina em resposta a uma elevada concentração de glicose plasmática. Ambas estão envolvidas no mecanismo de ação dos CGAs. Estudos *in vitro* observaram o estímulo do GLP-1 (Johnston *et al.*, 2003), no entanto, pesquisas *in vivo* não apresentaram diferença nas concentrações desse hormônio após administração dos CGAs (Rafferty *et al.*, 2011).

Ratos *Sprague-Dawley* receberam CGA por gavagem e a área sob a curva de glicose plasmática sofreu atenuação no grupo tratado com os polifenóis. No mesmo experimento, a resposta do GIP foi inferior ao grupo tratado com placebo, mas não foi observada diferença nas concentrações de GLP-1 (Tunnicliffe *et al.*, 2011).

CGAs podem melhorar o metabolismo da glicêmico e lipídico via ativação da proteína quinase ativada por adenosina fosfato (AMPK). O AMPK é um sensor e regulador do balanço energético. Sua ativação leva a translocação de GLUT4 do meio intracelular, aumentando o

transporte de glicose (Kurth-Kraczek *et al.*, 1999). Outros efeitos resultantes dessa ativação são supressão da produção de glicose hepática e da síntese de ácidos graxos, ou seja, pode haver melhora do metabolismo lipídico e glicêmico com o consumo dos CGAs.

Os receptores ativados por proliferador de peroxissoma (PPAR- $\alpha$ ) são membros de uma superfamília de receptores nucleares envolvidos na regulação do metabolismo glicolipídico. CGAs elevam a expressão protéica em PPAR- $\alpha$  hepático. A modificação do metabolismo glicêmico e lipídico pode ser também atribuída ao efeito facilitador de remoção de lipídeos no fígado e aumento da sensibilidade à insulina promovidos por essa proteína receptora (Li *et al.*, 2009; Wan *et al.*, 2013).

Diante do exposto, notou-se a necessidade de relacionar o impacto do dos hábitos de consumo das bebidas típicas chimarrão e tereré nos metabolismos glicêmicos e lipídicos de consumidores e não consumidores da erva-mate. Para isso, foi necessário investigar desde a composição química das bebidas típicas, até os possíveis mecanismos envolvidos no efeito terapêutico e nutricional.



### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral:**

Avaliar o consumo da erva-mate (*Ilex paraguariensis*) pela população e verificar os benefícios sobre parâmetros cardiovasculares e glicêmicos após o consumo de produtos com teor quantificado de compostos fenólicos.

#### **3.2. Objetivos específicos:**

Quantificar o aporte de compostos fenólicos em consumidores de erva-mate na região de Toledo-PR.

Verificar o efeito do consumo de erva-mate em biomarcadores relacionados a saúde cardiovascular em humanos.

Avaliar a atividade antilipidêmica, hipoglicemiante e anti-inflamatória da erva-mate em indivíduos submetidos a estresse pós-prandial.

#### 4 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABESO. Associação Brasileira para o Estudo da Obesidade e Síndrome Metabólica. Diretrizes Brasileiras de Obesidade, v. 1, p. 188, 2016. Disponível em:<  
<http://www.abeso.org.br/uploads/downloads/92/57fcc403e5da.pdf>>.

ALAM, U.; ASGHAR, O.; AZMI, S.; MALIK, R.A. General aspects of diabetes mellitus. **Handbook of Clinical Neurology**, v. 126, p. 211-22, 2014.

ALBERTI, K. G.; ECKEL, R.H.; GRUNDY, S.M.; ZIMMET, P.Z.; CLEEMAN, J.I.; DONATO, K.A.; FRUCHART, J.C.; JAMES, W.P.; LORIA, C.M.; SMITH, S.C.JR.; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION TASK FORCE ON EPIDEMIOLOGY AND PREVENTION; NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE; AMERICAN HEART ASSOCIATION; WORLD HEART FEDERATION; INTERNATIONAL ATHEROSCLEROSIS SOCIETY; INTERNATIONAL ASSOCIATION FOR THE STUDY OF OBESITY. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. **Circulation**, v. 120, n. 16, p. 1640-5, 2009.

ALCOCER, L.; BENDERSKY, M.; ACOSTA, J.; URINA-TRIANA, M. Use of calcium channel blockers in cardiovascular risk reduction: issues in Latin America. **American Journal of Cardiovascular Drugs**, v. 10, n. 3, p. 143-54, 2010.

ALIKARIDIS, F. Natural constituents of *Ilex species*. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 20, p.121-144, 1987.

ADA. American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care**, v. 40, p. S1-131, 2017a.

\_\_\_\_\_. American Diabetes Association. Classification and diagnosis of diabetes: Standard diabetes. **Diabetes Care**, v. 40, p. S1-131, 2017b.

AMIRI, F.; VIRDIS, A.; NEVES, M.FF.; IGLARZ, M.; SEIDAH, N. G.; TOUYZ, R.M.; REUDELHUBER, T.L.;SCHIFFRIN, E.L. Endothelium-restricted overexpression of human endothelin-1 causes vascular remodeling and endothelial dysfunction. **Circulation**, v. 110, n. 15, p. 2233-40, 2004.

ANDERSEN, T., FOGH, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. **Journal of Human Nutrition and Dietetics** v.14, p. 243–250, 2001.

AOMATSU, A.; OOKAWARA, S.; ISHIBASHI, K.; MORISHITA, Y.. Protective Effects of Diuretics Against the Development of Cardiovascular Disease in Patients with Chronic

Kidney Disease: A Systematic Review. **Cardiovascular & Hematological Agents in Medicinal Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 12-19, 2018.

ARÇARI, D. P.; PORTO, V. B.; RODRIGUES, E. R. V.; MARTINS, F.; LIMA, R. J. D.; SAWAYA, A. C. H. F.; RIBEIRO, M. L.; CARVALHO, P. D. O. Effect of mate tea (*Ilex paraguariensis*) supplementation on oxidative stress biomarkers and LDL oxidisability in normo- and hyperlipidaemic humans. **Journal of Functional Foods**, v. 3, n. 3, p. 190-197, 2011.

ARTS, I. C., HOLLMAN, P. C. Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 81, p. 317S-325S, 2005.

ASCVD. American College of Cardiology. **Risck estimator plus**. Disponível em: <<http://tools.acc.org/ASCVD-Risk-Estimator-Plus/#!/calculate/estimate/>>. Acesso em 20 de abril de 2019.

ASHIHARA, H.; SANO, H.; CROZIER, A. Caffeine and related purine alkaloids: Biosynthesis, catabolism, function and genetic engineering. **Phytochemistry**, v. 69, p. 841-856, 2008.

AUCLAIR, S., MILENKOVIC, D., BESSON, C., CHAUVET, S., GUEUX, E., MORAND, C., MAZUR, A., AND SCALBERT, A. Catechin reduces atherosclerotic lesion development in apo E-deficient mice: a transcriptomic study. **Atherosclerosis**. v. 204(2): p. 21-7, 2009.

BADIMON, J. J.; BADIMON, L.; FUSTER, V. Regression of atherosclerotic lesions by high density lipoprotein plasma fraction in the cholesterol-fed rabbit. **Journal of Clinical Investigation**, v. 85, n. 4, p. 1234-41, 1990.

BAEZA, G.; SARRIÁ, B.; MATEOS, R.; BRAVO, L. Dihydrocaffeic acid, a major microbial metabolite of chlorogenic acids, shows similar protective effect than a yerba mate phenolic extract against oxidative stress in HepG2 cells. **Food Research International**, v. 87, p. 25-33, 2016.

BAHIA, L.; AGUIAR, L. G.; VILLELA, N.; BOTTINO, D.; GODOY-MATOS, A. F.; GELONEZE, B.; TAMBASCIA, M.; BOUSKELA, E. Relationship between adipokines, inflammation, and vascular reactivity in lean controls and obese subjects with metabolic syndrome. **Clinics**, v. 61, n. 5, p. 433-40, 2006.

BALZAN, S.; HERNANDES, A.; REICHERT, C. L.; DONADUZZI, C.; PIRES, V. A.; GASPAROTTO, A.; CARDOZO, E. L. BALZAN, S.; HERNANDES, A.; REICHERT, C. L.; DONADUZZI, C.; PIRES, V. A.; GASPAROTTO, A.; CARDOZO, E. L. Lipid-lowering effects of standardized extracts of *Ilex paraguariensis* in high-fat-diet rats. **Fitoterapia**, v. 86, p. 115-22, 2013.

BASSANI, D.C.; NUNES, D.S.; GRANATO, D. Optimization of phenolics and flavonoids extraction conditions and antioxidant activity of roasted yerba-mate leaves (*Ilex paraguariensis* a. St.-Hil., aquifoliaceae) using response surface methodology. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 86, p. 923–933, 2014.

BASU, A.; DALLA MAN, C.; BASU, R.; TOFFOLO, G.; COBELLI, C.; RIZZA, R. A. Effects of type 2 diabetes on insulin secretion, insulin action, glucose effectiveness, and postprandial glucose metabolism. **Diabetes Care**, v. 32, n. 5, p. 866-72, 2009.

BAUMANN, H.; MORELLA, K. K.; WHITE, D. W.; DEMBSKI, M.; BAILON, P. S.; KIM, H.; LAI, C. F.; TARTAGLIA, L. A. The full-length leptin receptor has signaling capabilities of interleukin 6-type cytokine receptors. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 93, n. 16, p. 8374, 1996.

BERNE, C. A randomized study of orlistat in combination with a weight management programme in obese patients with Type 2 diabetes treated with metformin. **Diabetic Medicine**, v. 22, n. 5, p. 612-8, 2005.

BHUPATHIRAJU, S. N.; PAN, A.; MANSON, J. E.; WILLETT, W. C.; VAN DAM, R. M.; HU, F. B. Changes in coffee intake and subsequent risk of type 2 diabetes: three large cohorts of US men and women. **Diabetologia**, v. 57, n. 7, p. 1346-2014.

BIXBY, M.; SPIELER, L.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: a comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. **Life Sciences**, v. 77, n. 3, p. 345-58, 2005.

BOAVENTURA, B. C.; DI PIETRO, P. F.; STEFANUTO, A.; KLEIN, G. A.; DE MORAIS, E. C.; DE ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; DA SILVA, E. L. Association of mate tea (*Ilex paraguariensis*) intake and dietary intervention and effects on oxidative stress biomarkers of dyslipidemic subjects. **Nutrition**, v. 28, n. 6, p. 657-64, 2012.

BOGOYEVITCH, M. A.; GLENNON, P. E.; ANDERSSON, M. B.; CLERK, A.; LAZOU, A.; MARSHALL, C. J.; PARKER, P. J.; SUGDEN, P. H. Endothelin-1 and fibroblast growth factors stimulate the mitogen-activated protein kinase signaling cascade in cardiac myocytes. The potential role of the cascade in the integration of two signaling pathways leading to myocyte hypertrophy. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 269, n. 2, p. 1110-9, 1994.

BRACESCO, N.; SANCHEZ, A.G.; CONTRERAS, V.; MENINI, T.; GUGLIUCCI, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 136, n. 3, p. 378-84, 2011.

BRAVO, L.; MATEOS, R.; SARRIA, B.; AEZA, G.; LECUMBERRI, E.; RAMOS, S.; GOYA, L. Hypocholesterolaemic and antioxidant effects of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) in high-cholesterol fed rats. **Fitoterapia**, v. 92, p. 219-29, 2014.

BRASIL. IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. **Produção Agrícola Municipal: culturas temporárias e permanentes**, 2018. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/tabela/289#resultado>>. Acesso em 10 nov. 2018.

BREMER BOAVENTURA, B. C.; DA SILVA, E. L.; LIU, R. H.; PRUDÊNCIO, E. S.; DI PIETRO, P. F.; BECKER, A. M.; AMBONI, R. D. D. M. C. Effect of yerba mate (*Ilex paraguariensis* A. St. Hil.) infusion obtained by freeze concentration technology on

antioxidant status of healthy individuals. **LWT - Food Science and Technology**, v. 62, n. 2, p. 948-954, 2015.

BRENNER, B. M.; COOPER, M. E.; DE ZEEUW, D.; KEANE, W. F.; MITCH, W. E.; PARVING, H.-H.; REMUZZI, G.; SNAPINN, S. M.; ZHANG, Z.; SHAHINFAR, S. Effects of Losartan on Renal and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes and Nephropathy. **New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 12, p. 861-869, 2001.

BRUNMAIR, B.; GRAS, F.; NESCHEN, S.; RODEN, M.; WAGNER, L.; WALDHAUSL, W.; FURNSINN, C. Direct thiazolidinedione action on isolated rat skeletal muscle fuel handling is independent of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma-mediated changes in gene expression. **Diabetes**, v. 50, n. 10, p. 2309-15, 2001.

BURRIS, K.P.; DAVIDSON, P.M.; STEWART, C.N., JR.; ZIVANOVIC, S.; HARTE, F.M. Aqueous extracts of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) as a natural antimicrobial against *Escherichia coli* O157:H7 in a microbiological medium and pH 6.0 apple juice. **Journal of Food Protection**, v. 75, p. 753-757, 2012.

CAMBRIL, L. T.; SOUZA, M.; MANNRICH, G.; CRUZ, R. O.; GEVAERD, M. S. Perfil Lipídico, Dislipidemias e Exercício Físico. **Revista Brasileira Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 8, n° 3, p. 100-106, 2006.

CARDOZO JUNIOR, E. L., CARDOZO FILHO, L., FERRARESE FILHO, O., ZANOELO, E. F. Selective liquid CO<sub>2</sub> extraction of purine alkaloids in different *Ilex paraguariensis* progenies grown under environmental influences. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 55, p. 6835-6841, 2007b.

CARDOZO JUNIOR, E. L., DONADUZZI, C. M., FERRARESE FILHO, O., FRIEDRICH, J. C., GONELA, A., STURION, J. A. Quantitative genetic analysis of methylxanthines and phenolic compounds in mate progenies. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 45, p.171 - 177, 2010.

CARDOZO JUNIOR, E. L., FERRARESE-FILHO, O., CARDOZO FILHO, L., FERRARESE, M. L. L., DONADUZZI, C. M., STURION, J. A. Methylxanthines and phenolic compounds in mate (*Ilex paraguariensis* st. hil.) progenies grown in Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, v.20, p.553 - 558, 2007a.

CARDOZO JUNIOR, E. L.; MORAND, C. Interest of mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. **Journal of Functional Foods**, v. 21, p. 440-454, 2016.

CAVALLARI, I.; DELLI VENERI, A.; MADDALONI, E.; MELFI, R.; PATTI, G.; NAPOLI, N.; POZZILLI, P.; DI SCIASCIO, G. Comparison of Lipid-Lowering Medications and Risk for Cardiovascular Disease in Diabetes. **Current Diabetes Reports**, v. 18, n. 12, p. 138, 2018.

CERF, M. E. Beta cell dysfunction and insulin resistance. **Frontiers in Endocrinology**, v. 4, p. 37-37, 2013.

CHAN, D. C.; BARRETT, P. H. R.; WATTS, G. F. Lipoprotein kinetics in the metabolic syndrome: pathophysiological and therapeutic lessons from stable isotope studies. **The Clinical of biochemical Reviews**, v. 25, n. 1, p. 31-48, 2004.

CHANET, A., MILENKOVIC, D., DEVAL, D., POTIER, M., CONSTANS, J., BENNETAU-PELISSERO, C., MAZUR, A., MORAND, C., and BÉRARD, A. M. Naringin, the major grapefruit flavonoid, specifically affects atherosclerosis development in diet-induced hypercholesterolemia in mice. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 23, p. 469-477, 2012.

CHEN, P.; CHAUGAI, S.; ZHAO, F.; WANG, D. W. Cardioprotective Effect of Thiazide-Like Diuretics: A Meta-Analysis. **American Journal of Hypertension**, v. 28, n. 12, p. 1453-63, 2015.

CHENG, J.; ZHANG W.; ZHANG, X.; HAN, F.; LI, X.; HE, X.; LI, Q. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin ii receptor blockers on all-cause mortality, cardiovascular deaths, and cardiovascular events in patients with diabetes mellitus: A meta-analysis. **JAMA International Medicine**, v. 174, n. 5, p. 773-785, 2014.

CHIANG, J. L.; MAAHS, D. M.; GARVEY, K. C.; HOOD, K. K.; LAFFEL, L. M.; WEINZIMER, S. A.; WOLFS DORF, J. I.; SCHATZ, D. Type 1 Diabetes in Children and Adolescents: A Position Statement by the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, v. 41, n. 9, p. 2026-2044, 2018.

CHIASSON, J. L.; JOSSE, R. G.; GOMIS, R.; HANEFELD, M.; KARASIK, A.; LAAKSO, M. Acarbose treatment and the risk of cardiovascular disease and hypertension in patients with impaired glucose tolerance: the STOP-NIDDM trial. **Jama**, v. 290, n. 4, p. 486-94, 2003.

CHO, A. S.; JEON, S. M.; KIM, M. J.; YEO, J.; SEO, K. I.; CHOI, M. S.; LEE, M. K. Chlorogenic acid exhibits anti-obesity property and improves lipid metabolism in high-fat diet-induced-obese mice. **Food Chemistry and Toxicology**, v. 48, p. 937-943, 2010.

CLAY, M. A. *et al.* Time sequence of the inhibition of endothelial adhesion molecule expression by reconstituted high density lipoproteins. **Atherosclerosis**, v. 157, n. 1, p. 23-9, 2001.

CLIFFORD, M. N. Chlorogenic acids and other cinnamates – nature, occurrence and dietary burden. **Journal of Science and Food Agricultural**, v. 79, n. 3, p. 362-372, 1999.

CLIFFORD, M.N.; RAMIREZ-MARTINEZ, J.R. Chlorogenic acids and purine alkaloids contents of mate (*Ilex paraguariensis*) leaf and beverage. **Food Chemistry**, v. 35, p. 13-21, 1990.

COLEMAN R., HAYEK T., KEIDAR S. and Aviram M. A mouse model for human atherosclerosis: long-term histopathological study of lesion development in the aortic arch of apolipoprotein E-deficient (E<sup>-/-</sup>) mice. **Acta Histochemistry**, v. 108, p. 415-424, 2006.

COLPO, A.C.; DE LIMA, M.E.; MAYA-LOPEZ, M.; ROSA, H.; MARQUEZ-CURIEL, C.; GALVAN-ARZATE, S.; SANTAMARIA, A.; FOLMER, V. Compounds from *Ilex paraguariensis* extracts have antioxidant effects in the brains of rats subjected to chronic immobilization stress. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 42, p. 1172–1178, 2017.

CONCEIÇÃO, E. P.; KAEZER, A. R.; PEIXOTO-SILVA, N.; FELZENSZWALB, I.; DE OLIVEIRA, E.; MOURA, E. G.; LISBOA, P. C. Effects of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) on the hypothalamic signalling of insulin and leptin and liver dysfunction in adult rats overfed during lactation. **Journal of Developmental Origins of Health and Disease**, v. 8, n. 1, p. 123-132, 2017.

CONTRERAS-DUARTE, S.; VARAS, P.; AWAD, F.; BUSSO, D.; RIGOTTI, A. Papel protector de las lipoproteínas de alta densidad en sepsis: aspectos básicos e implicancias clínicas. **Revista Chilena de Infectología**, v. 31, p. 34-43, 2014.

CORNIER, M. A.; DABELEA, D.; HERNANDEZ, T. L.; LINDSTROM, R. C.; STEIG, A. J.; STOB, N. R.; VAN PELT, R. E.; WANG, H.; ECKEL, R. H. The metabolic syndrome. **Endocrine Reviews**, v. 29, n. 7, p. 777-822, 2008.

CORPE, C. P.; BURANT, C. F. Hexose transporter expression in rat small intestine: effect of diet on diurnal variations. **American Journal of Physiology**, v. 271, n. 1 Pt 1, p. G211-6, 1996.

CREMONINI, E.; BETTAIEB, A.; HAJ, F. G.; FRAGA, C. G.; OTEIZA, P. I. (-)-Epicatechin improves insulin sensitivity in high fat diet-fed mice. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 599, p. 13-21, 2016.

CROZIER, A.; JAGANATH, I. B.; CLIFFORD, M. N. Dietary phenolics: chemistry, bioavailability and effects on health. **Natural Product Reports**, v. 26, p. 1001-1043, 2009.

DANIEL, O. Erva-mate: sistema de produção e beneficiamento industrial. 1ed. Dourados: editor da UFGD, 2009.

DARTORA, N. UPLC-PDA-MS evaluation of bioactive compounds from leaves of *Ilex paraguariensis* with different growth conditions, treatments and ageing. **Food Chemistry**, v. 129, p. 1453-1461, 2011.

DA VEIGA, D. T. A.; BRINGHENTI, R.; COPES, R.; TATSCH, E.; MORESCO, R. N.; COMIM, F. V.; PREMAOR, M. O. Protective effect of yerba mate intake on the cardiovascular system: a post hoc analysis study in postmenopausal women. **Brazilian Journal of Medical and Biology Research**, v. 51, n. 6, p. e7253, 2018.

DAYA, L., SEYMOUR, R. B., PITTS, K. F., KONCZAKA, I., LUNDINA, L. Incorporation of Functional ingredients into foods. **Trends in Food Science & Technology**, v. 20, p. 388-395, 2009.

DE ANDRADE, F.; DE ALBULQUERQUE, C.A.; MARASCHIN, M.; DA SILVA, E.L. Safety assessment of yerba mate (*Ilex paraguariensis*) dried extract: results of acute and 90 days subchronic toxicity studies in rats and rabbits. **Food and Chemistry Toxicology**, v. 50, n. 2, p. 328-34, 2012.

DE SOUSA, W.R.; LOURENÇO, B.H.L.B.; REIS, M.P.; DONADEL, G.; MARQUES, M.A.A.; CARDOZO JUNIOR, E.L.; JACOMASSI, E.; BELETTINI, S.T.; LÍVERO, F.A.D.R.; GASPAROTTO JUNIOR, A.; LOURENÇO, E.L.B. Evaluation of Reproductive Toxicology of Aqueous Extract of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.), a Traditional South American Beverage. **Journal of Medicinal Food**, v. 22, p. 97–101, 2018.

DEDOV, I.I.; MELNICHENKO, G. A.; TROSHINA, E. A.; MAZURINA, N. V.; GALIEVA, M. O. Body Weight Reduction Associated with the Sibutramine Treatment: Overall Results of the PRIMAVERA Primary Health Care Trial. **Obesity Facts**, v. 11, n. 4, p. 335-343, 2018.

DEEPA, R.; VELMURUGAN, K.; ARVIND, K.; SIVARAM, P.; SIENTAY, C.; UDAY, S.; MOHAN, V. Serum levels of interleukin 6, C-reactive protein, vascular cell adhesion molecule 1, and monocyte chemotactic protein 1 in relation to insulin resistance and glucose intolerance--the Chennai Urban Rural Epidemiology Study (CURES). **Metabolism**, v. 55, n. 9, p. 1232-8, 2006.

DEFRONZO, R. A.; DAVIDSON, J. A.; DEL PRATO, S. The role of the kidneys in glucose homeostasis: a new path towards normalizing glycaemia. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 14, n. 1, p. 5-14, 2012.

DEL RIO, D.; STALMACH, A.; CALANI, L.; CROZIER, A. Bioavailability of coffee chlorogenic acids and green tea flavan-3-ols. **Nutrients**, v. 2, p. 820-833, 2010.

DÉZSI, C. A. The Different Therapeutic Choices with ARBs. Which One to Give? When? Why? **American journal of cardiovascular drugs: drugs, devices, and other interventions**, v. 16, n. 4, p. 255-266, 2016.

DÉZSI, C. A.; SZENTES, V. The Real Role of  $\beta$ -Blockers in Daily Cardiovascular Therapy. **American journal of cardiovascular drugs: drugs, devices, and other interventions**, v. 17, n. 5, p. 361-373, 2017.

DIABETES PREVENTION PROGRAM RESEARCH, G. Effects of withdrawal from metformin on the development of diabetes in the diabetes prevention program. **Diabetes care**, v. 26, n. 4, p. 977-980, 2003.

DING, M.; BHUPATHIRAJU, S. N.; CHEN, M.; VAN DAM, R. M.; HU, F. B. Caffeinated and decaffeinated coffee consumption and risk of type 2 diabetes: a systematic review and a dose-response meta-analysis. **Diabetes Care**, v. 37, n. 2, p. 569-86, 2014.

DROZDOWSKI, L. A.; THOMSON, A. B. Intestinal sugar transport. **World Journal of Gastroenterology**, v. 12, n. 11, p. 1657-70, 2006.



DUGO, P., CACCIOLA, F., DONATO, P., JACQUES, R. A., CARAM, E. B., MONDELLO, L. High efficiency liquid chromatography techniques coupled to mass spectrometry for the characterization of mate extracts. **Journal of Chromatography A**, v. 1216, p. 7213–7221, 2009.

DWYER-LINDGREN, L.; BERTOZZI-VILLA, A.; STUBBS, R. W.; MOROZOFF, C.; KUTZ, M. J.; HUYNH, C.; BARBER, R. M.; SHACKELFORD, K. A.; MACKENBACH, J. P.; VAN LENTHE, F. J.; FLAXMAN, A. D.; NAGHAVI, M.; MOKDAD, A. H.; MURRAY, C. J. US County-Level Trends in Mortality Rates for Major Causes of Death, 1980-2014. **Jama**, v. 316, n. 22, p. 2385-2401, 2016.

EBINA, Y.; ELLIS, L.; JARNAGIN, K.; EDERY, M.; GRAF, L.; CLAUSER, E.; OU, J. H.; MASIARZ, F.; KAN, Y. W.; GOLDFINE, I. D. The human insulin receptor cDNA: the structural basis for hormone-activated transmembrane signalling. **Cell**, v. 40, n. 4, p. 747-58, 1985.

ERVIN, R. B. Prevalence of metabolic syndrome among adults 20 years of age and over, by sex, age, race and ethnicity, and body mass index: United States, 2003-2006. **National Health Statistical Report**, n. 13, p. 1-7, 2009.

EBINA, Y.; ELLIS, L.; JARNAGIN, K.; EDERY, M.; GRAF, L.; CLAUSER, E.; OU, J. H.; MASIARZ, F.; KAN, Y. W.; GOLDFINE, I. D. Caracterização físico-química da erva mate: influência das etapas do processamento industrial. **Food Science and Technology**, v. 22, p. 199-204, 2002.

FARBER, S. J.; BERGER, E. Y.; EARLE, D. P. Effect of diabetes and insulin of the maximum capacity of the renal tubules to reabsorb glucose. **Journal of Clinical Investigation**, v. 30, n. 2, p. 125-9, 1951.

FASSHAUER, M.; KRALISCH, S.; KLIER, M.; LOSSNER, U.; BLUHER, M.; KLEIN, J.; PASCHKE, R. Insulin resistance-inducing cytokines differentially regulate SOCS mRNA expression via growth factor- and Jak/Stat-signaling pathways in 3T3-L1 adipocytes. **Journal of Endocrinology**, v. 181, n. 1, p. 129-38, 2004.

FID. Federação Internacional de Diabetes. **Atlas**, 8th Ed. 2017. Disponível em: <<https://diabetesatlas.org/across-the-globe.html>>.

FERNANDES, E. S.; MACHADO MDE, O.; BECKER, A. M.; DE ANDRADE, F.; MARASCHIN, M.; DA SILVA, E. L. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) enhances the gene modulation and activity of paraoxonase-2: *in vitro* and *in vivo* studies. **Nutrition**, v. 28, n. 11-12, p. 1157-64, 2012.

FILIP, R.; LÓPEZ, P.; GIBERTI, G.; COUSSIO, J.; FERRARO, G. Phenolic compounds in seven South American *Ilex* species. **Fitoterapia**, v. 72, n. 7, p. 774-8, 2001.

FILIP, R., FERRARO, G.E. Researching on new species of “Mate”: *Ilex brevicuspis*: phytochemical and pharmacology study. **European Journal of Nutrition**, v. 42, p. 50–54. 2003.

FRANK, J.; KAMAL-ELDIN, A.; RAZDAN, A.; LUNDH, T.; VESSBY, B. The dietary hydroxycinnamate caffeic acid and its conjugate chlorogenic acid increase vitamin e and cholesterol concentrations in Sprague-Dawley rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 9, p. 2526-31, 2003.

FUHRMAN, B.; VOLKOVA, N.; AVIRAM, M. Paraoxonase 1 (PON1) is present in postprandial chylomicrons. **Atherosclerosis**, v. 180, n. 1, p. 55-61, 2005.

GAO, H.; LONG, Y.; JIANG, X.; LIU, Z.; WANG, D.; ZHAO, Y.; LI, D.; SUN, B. L. Beneficial effects of Yerba Mate tea (*Ilex paraguariensis*) on hyperlipidemia in high-fat-fed hamsters. **Experimental Gerontology**, v. 48, n. 6, p. 572-8, 2013.

GARCEZ, M. R.; PEREIRA, J. L.; FONTANELLI, M. D. M.; MARCHIONI, D. M. L.; FISBERG, R. M. Prevalence of Dyslipidemia According to the Nutritional Status in a Representative Sample of São Paulo. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 103, p. 476-484, 2014.

GEBARA, K. S.; GASPAROTTO-JUNIOR, A.; SANTIAGO, P. G.; CARDOSO, C. A. L.; DE SOUZA, L. M.; MORAND, C.; COSTA, T. A.; CARDOZO-JUNIOR, E. L. Daily Intake of Chlorogenic Acids from Consumption of Maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) Traditional Beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 65, n. 46, p. 10093-10100, 2017.

GEBHARDT, R. Inhibition of cholesterol biosynthesis in HepG2 cells by artichoke extracts is reinforced by glucosidase pretreatment. **Phytotherapy Research**, v. 16, n. 4, p. 368-72, 2002.

GERSTEIN, H. C.; YUSUF, S.; BOSCH, J.; POGUE, J.; SHERIDAN, P.; DINCCAG, N.; HANEFELD, M.; HOOGWERF, B.; LAAKSO, M.; MOHAN, V.; SHAW, J.; ZINMAN, B.; HOLMAN, R. R. Effect of rosiglitazone on the frequency of diabetes in patients with impaired glucose tolerance or impaired fasting glucose: a randomised controlled trial. **Lancet**, v. 368, n. 9541, p. 1096-105, 2006.

GHOSH, D.; SCHEEPENS, A. Vascular action of polyphenols. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, p. 322-331, 2009.

GINSBERG, H. N. Insulin resistance and cardiovascular disease. **Journal of Clinical Investigation**, v. 106, n. 4, p. 453-458, 2000.

GOLDSTEIN, J. L.; HO, Y. K.; BASU, S. K.; BROWN, M. S. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 76, n. 1, p. 333-7, 1979.

GOLDSTEIN, J. L.; BROWN, M. S. Regulation of the mevalonate pathway. **Nature**, v. 343, p. 425, 1990.

GÓMEZ-JUARISTI, M.; MARTÍNEZ-LÓPEZ, S.; SARRIA, B.; BRAVO, L.; MATEOS, R. Absorption and metabolism of yerba mate phenolic compounds in humans. **Food Chemistry**, v. 240, p. 1028-1038, 2018.

GONZALEZ, A. S.; GUERRERO, D. B.; SOTO, M. B.; DIAZ, S. P.; MARTINEZ-OLMOS, M.; VIDAL, O. Metabolic syndrome, insulin resistance and the inflammation markers C-reactive protein and ferritin. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 60, n. 6, p. 802-9, 2006.

GONZALEZ, R., BALLESTER, I., LOPEZ-POSADAS, R., SUAREZ, M.D., ZARZUELO, A., MARTINEZ-AUGUSTIN, O.; SANCHES DE MEDINA, F. Effects of Flavonoids and Other Polyphenols on Inflammation. **Critical Reviews of Food Science Nutrition**, v. 51, p. 331-362, 2011.

GONZALEZ-CHÁVEZ, A.; CHÁVEZ-FERNÁNDEZ, J. A.; ELIZONDO-ARGUETA, S.; GONZÁLEZ-TAPIA, A.; LEÓN-PEDROZA, J. I.; OCHOA, C. Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease: A Health Challenge in Mexico. **Archives of Medicinal Research**, 2018: no prelo.

GOURINE, A. V.; MOLOSH, A. I.; POPUTNIKOV, D.; BULHAK, A.; SJOQUIST, P. O.; PERNOW, J. Endothelin-1 exerts a preconditioning-like cardioprotective effect against ischaemia/reperfusion injury via the ET(A) receptor and the mitochondrial K(ATP) channel in the rat *in vivo*. **Brasilian Journal of Pharmacology**, v. 144, n. 3, p. 331-7, 2005.

GUGLIUCCI, A.; STAHL, A. J. Low density lipoprotein oxidation is inhibited by extracts of *Ilex paraguariensis*. **Biochemistry and Molecular Biology International**, v. 35, n. 1, p. 47-56, Jan 1995. ISSN 1039-9712 (Print) 1039-9712.

GULDIKEN, S.; DEMIR, M.; ARIKAN, E.; TURGUT, B.; AZCAN, S.; GERENLI, M.; TUGRUL, A. The levels of circulating markers of atherosclerosis and inflammation in subjects with different degrees of body mass index: Soluble CD40 ligand and high-sensitivity C-reactive protein. **Thrombosis Research**, v. 119, n. 1, p. 79-84, 2007.

GUO, X.; LI, H.; XU, H.; WOO, S.; DONG, H.; LU, F.; LANGE, A. J.; WU, C. Glycolysis in the control of blood glucose homeostasis. **Acta Pharmaceutica Sinica B**, v. 2, n. 4, p. 358-367, 2012.

HALLIWELL, B. Are polyphenols antioxidants or pro-oxidants? What do we learn from cell culture and *in vivo* studies? **Archives of Biochemical and Biophysics**. v. 476, p. 107-112. epub 2008 Feb 2007, 2008.

Rang, H.P.; Ritter, J.M.; Flower, R.J.; Henderson, G. *Farmacologia*. 8ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2016.

HECK, C. I.; DE MEJIA, E. G. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. **Journal of Food Science**, v. 72, n. 9, p. R138-51, 2007.

HEMMERLE, H.; BURGER, H. J.; BELOW, P.; SCHUBERT, G.; RIPPEL, R.; SCHINDLER, P. W.; PAULUS, E.; HERLING, A. W. Chlorogenic acid and synthetic chlorogenic acid derivatives: novel inhibitors of hepatic glucose-6-phosphate translocase. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 40, n. 2, p. 137-45, 1997.

HOLLMAN, P. C., CASSIDY, A., COMTE, B., HEINONEN, M., RICHELLE, M., RICHLING, E., SERAFINI, M., SCALBERT, A., SIES, H., and VIDRY, S. The biological relevance of direct antioxidant effects of polyphenols for cardiovascular health in humans is not established. **Journal of Nutrition**, v. 141, p. 989S-1009S. Epub Mar 1030, 2011.

HOLLMAN, P.C., GEELLEN, A., and KROMHOUT, D. Dietary Flavonol Intake May Lower Stroke Risk in Men and Women. **Journal of Nutrition**. v. 140, p. 600-604, 2010.

HOLMAN, R. R.; PAUL, S. K.; BETHEL, M. A.; MATTHEWS, D. R.; NEIL, H. A. 10-year follow-up of intensive glucose control in type 2 diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 359, n. 15, p. 1577-89, 2008.

HOOPER, L., KROON, P. A., RIMM, E. B., COHN, J. S., HARVEY, I., LE CORNU, K. A., RYDER, J. J., HALL, W. L., and CASSIDY, A. Flavonoids, flavonoid-rich foods, and cardiovascular risk: a meta-analysis of randomized controlled trials. **American Journal of Clinical Nutrition**. v. 88, p. 38-50, 2008.

HUANG, S.; CZECH, M. P. The GLUT4 glucose transporter. **Cell Metabolism**, v. 5, n. 4, p. 237-52, 2007.

HUNG, T. M.; NA, M.; THUONG P.T.; SU, N.D.; SOK, D.; SONG, K.S.; SEONG, Y.H.; BAE, K. Antioxidant activity of caffeoyl quinic acid derivatives from the roots of *Dipsacus asper* Wall. **Journal of Ethnopharmacology**, 108, p. 188–192, 2006.

HUSSEIN, G. M.; MATSUDA, H.; NAKAMURA, S.; AKIYAMA, T.; TAMURA, K.; YOSHIKAWA, M. Protective and ameliorative effects of maté (*Ilex paraguariensis*) on metabolic syndrome in TSOD mice. **Phytomedicine**, v. 19, n. 1, p. 88-97, 2011.

INDULEKHA, K.; SURENDAR, J.; MOHAN, V. High sensitivity C-reactive protein, tumor necrosis factor-alpha, interleukin-6, and vascular cell adhesion molecule-1 levels in Asian Indians with metabolic syndrome and insulin resistance (CURES-105). **Journal of Diabetes Science and Technology**, v. 5, n. 4, p. 982-8, 2011.

ISRAILI, Z. H.; LYOUSSI, B.; HERNANDEZ-HERNANDEZ, R. Metabolic syndrome: treatment of hypertensive patients. **American Journal of Therapeutics**, v. 14, n. 4, p. 386-402, 2007.

JAISWAL, R.; SOVDAT, T.; VIVAN, F.; KUHNERT, N. Profiling and characterization by LC-MSn of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in mate (*Ilex paraguariensis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 9, p. 5471-5484, 2010.

JAMES, W. P.; ASTRUP, A.; FINER, N.; HILSTED, J.; KOPELMAN, P.; ROSSNER, S.; SARIS, W. H.; VAN GAAL, L. F. Effect of sibutramine on weight maintenance after weight loss: a randomised trial. STORM Study Group. Sibutramine Trial of Obesity Reduction and Maintenance. **Lancet**, v. 356, n. 9248, p. 2119-25, 2000.

JIANG, X.; ZHANG, D.; JIANG, W. Coffee and caffeine intake and incidence of type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of prospective studies. **European Journal of Nutrition**, v. 53, n. 1, p. 25-2014.

JOHNSTON, K. L.; CLIFFORD, M. N.; MORGAN, L. M. Coffee acutely modifies gastrointestinal hormone secretion and glucose tolerance in humans: glycemic effects of chlorogenic acid and caffeine. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 78, n. 4, p. 728-33, 2003.

KAHN, S. E.; COOPER, M. E.; DEL PRATO, S. Pathophysiology and treatment of type 2 diabetes: perspectives on the past, present, and future. **Lancet**, v. 383, n. 9922, p. 1068-1083, 2014.

KAHN, S. E.; HULL, R. L.; UTZSCHNEIDER, K. M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. **Nature**, v. 444, n. 7121, p. 840-6, 2006.

KANG, Y. R.; LEE, H. Y.; KIM, J. H.; MOON, D. I.; SEO, M. Y.; PARK, S. H.; CHOI, K. H.; KIM, C. R.; KIM, S. H.; OH, J. H.; CHO, S. W.; KIM, S. Y.; KIM, M. G.; CHAE, S. W.; KIM, O.; OH, H. G. Anti-obesity and anti-diabetic effects of Yerba Mate (*Ilex paraguariensis*) in C57BL/6J mice fed a high-fat diet. **Laboratory Animal Research**, v. 28, n. 1, p. 23-9, 2012.

KIM, H. J.; KO, J.; STORNI, C.; SONG, H. J.; CHO, Y. G. Effect of green mate in overweight volunteers: A randomized placebo-controlled human study. **Journal of Functional Foods**, v. 4, n. 1, p. 287-293, 2012.

KIMOKOTI, R.W.; MILLEN, B.E. Nutrition for the prevention of chronic diseases. **Medicinal Clinics of North American**, v. 100, p. 1185-1198, 2016.

KLEIN, G. A.; STEFANUTO, A.; BOAVENTURA, B. C.; DE MORAIS, E. C.; CAVALCANTE, L. A. S.; DE ANDRADE, F.; WAZLAWIK, E.; DI PIETRO, P. F.; MARASCHIN, M.; DA SILVA, E. L. Mate tea (*Ilex paraguariensis*) improves glycemic and lipid profiles of type 2 diabetes and pre-diabetes individuals: a pilot study. **The Journal of American College of Nutrition**, v. 30, n. 5, p. 320-32, 2011.

KLOP, B.; ELTE, J. W. F.; CABEZAS, M. C. Dyslipidemia in obesity: mechanisms and potential targets. **Nutrients**, v. 5, n. 4, p. 1218-1240, 2013.

KNOWLER, W.C.; BARRETT-CONNOR, E.; FOWLER, S.E.; HAMMAN, R.F. LACHIN, J.M.; WALKER, E.A.; NATHAN, D.M.; DIABETES PREVENTION PROGRAM RESEARCH GROUP. Reduction in the Incidence of Type 2 Diabetes with Lifestyle Intervention or Metformin. **The New England Journal of Medicine**, v. 346, n. 6, p. 393-403, 2002.

KOLOVOU, G. D.; ANAGNOSTOPOULOU, K. K.; COKKINOS, D. V. Pathophysiology of dyslipidaemia in the metabolic syndrome. **Postgraduate Medical Journal**, v. 81, n. 956, p. 358, 2005.

KOTANI, K.; PERONI, O. D.; MINOKOSHI, Y.; BOSS, O.; KAHN, B. B. GLUT4 glucose transporter deficiency increases hepatic lipid production and peripheral lipid utilization. **Journal of Clinical Investigation**, v. 114, n. 11, p. 1666-75, 2014.

KRIS-ETHERTON, P. M., and KEEN, C. L. Evidence that the antioxidant flavonoids in tea and cocoa are beneficial for cardiovascular health. **Current Opinion in Lipidology**, v. 13, p. 41-49, 2002.

KURIYAMA, S., SHIMAZU, T., OHMORI, K., KIKUCHI, N., NAKAYA, N., NISHINO, Y., TSUBONO, Y., and TSUJI, I. Green Tea Consumption and Mortality Due to Cardiovascular Disease, Cancer, and All Causes in Japan. **JAMA**, v. 296, p. 1255-1265, 2006.

KURTH-KRACZEK, E. J.; HIRSHMAN, M. F.; GOODYEAR, L. J.; WINDER, W. W. 5' AMP-activated protein kinase activation causes GLUT4 translocation in skeletal muscle. **Diabetes**, v. 48, n. 8, p. 1667-71, 1999.

LA, M.; REID, J. J. Endothelin-1 and the regulation of vascular tone. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 22, n. 5, p. 315-23, 1995.

LARROSA, M.; LUCERI, C.; VIVOLI, E.; PAGLIUCA, C.; LODOVICI, M.; MONETI, G.; DOLARA, P. Polyphenol metabolites from colonic microbiota exert anti-inflammatory activity on different inflammation models. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 53, n. 8, p. 1044-54, 2009.

LEWIS, E. J.; HUNSICKER, L. G.; CLARKE, W. R.; BERL, T.; POHL, M. A.; LEWIS, J. B.; RITZ, E.; ATKINS, R. C.; ROHDE, R.; RAZ, I. Renoprotective Effect of the Angiotensin-Receptor Antagonist Irbesartan in Patients with Nephropathy Due to Type 2 Diabetes. **The New England Journal of Medicine**, v. 345, n. 12, p. 851-860, 2001.

LI, S. Y.; CHANG, C. Q.; MA, F. Y.; YU, C. L. Modulating effects of chlorogenic acid on lipids and glucose metabolism and expression of hepatic peroxisome proliferator-activated receptor-alpha in golden hamsters fed on high fat diet. **Biomedical and Environmental Sciences**, v. 22, n. 2, p. 122-9, 2009.

LIMA, E. S.; COUTO, R. D. Estrutura, metabolismo e funções fisiológicas da lipoproteína de alta densidade. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, v. 42, p. 169-178, 2006.

LUNCEFORD, N.; GUGLIUCCI, A. *Ilex paraguariensis* extracts inhibit AGE formation more efficiently than green tea. **Fitoterapia**, v. 76, n. 5, p. 419-27, 2005.

MACCARI JUNIOR, A. **Análise do pré-processamento da erva-mate para chimarrão**. 2005. Tese (Doutorado em Engenharia Agrícola) – Faculdade de Engenharia Agrícola, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, São Paulo.

MACHADO, D. F.; FERREIRA, C. L. F.; COSTA, N. M. B.; OLIVEIRA, T. T. Efeito de probiótico na modulação dos níveis de colesterol sérico e no peso do fígado de ratos alimentados com dieta rica em colesterol e ácido cólico. **Ciência e Tecnologia Alimentar**, v.23, n° 2, p.270-275, 2003.

MACNULTY, E. E.; PLEVIN, R.; WAKELAM, M. J. Stimulation of the hydrolysis of phosphatidylinositol 4,5-bisphosphate and phosphatidylcholine by endothelin, a complete mitogen for Rat-1 fibroblasts. **Biochemical Journal**, v. 272, n. 3, p. 761-766, 1990.

MAGALHÃES, E. C. M. Novas Metas de Colesterol da Diretriz de Dislipidemia da SBC. **International Journal of Cardiovascular Sciences**, v. 30, p. 466-468, 2017.

MANACH, C.; SCALBERT, A.; MORAND, C.; RÉMÉSY, C.; JIMÉNEZ, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 79, n. 5, p. 727-47, 2004.

MARSHALL, A. K.; BARRETT, O. P.; CULLINGFORD, T. E. ERK1/2 signaling dominates over RhoA signaling in regulating early changes in RNA expression induced by endothelin-1 in neonatal rat cardiomyocytes. **PLoS One**, v. 5, n. 4, p. e10027, 2010.

MARTINET, A.; NDJOKO, K.; TERREAUX, C.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K.; SCHUTZ, Y. NMR and LC-MSn characterisation of two minor saponins from *Ilex paraguariensis*. **Phytochemical Analysis**, v. 12, n. 1, p. 48-52, 2001.

MAURAY, A., MILENKOVIC, D., BESSON, C., CACCIA, N., MORAND, C., MICHEL, F., MAZUR, A., SCALBERT, A., and FELGINES, C. Atheroprotective effects of bilberry extracts in apo E-deficient mice. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. v. 57, p. 11106-11111, 2009.

MAZUCHOWSKI, J. Z.; WINGE, H.; DA CROCE, D. M. Diagnóstico e Perspectivas da Erva-mate no Brasil. Chapecó, 1996. 28p.

MCFARLANE, S. I. Role of angiotensin receptor blockers in diabetes: implications of recent clinical trials. **Expert Review of Cardiovascular Therapy**, v. 7, n. 11, p. 1363-71, 2009.

MEINHART, A. D.; BIZZOTTO, C. S.; BALLUS, C. A.; POLONI RYBKA, A. C.; SOBRINHO, M. R. Methylxanthines and phenolics content extracted during the consumption of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) beverages. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 4, p. 2188-93, 2010.

MENDES, R. M. O. **Caracterização e avaliação da erva-mate (*Ilex paraguariensis* St. hil.), beneficiada no estado de santa catarina**. 2005. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química e Engenharia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC.

MENG, S.; CAO, J.; FENG, Q.; PENG, J.; HU, Y. Roles of chlorogenic Acid on regulating glucose and lipids metabolism: a review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 801457, 2013.

MESSERLI, F. H. *et al.* Body weight changes with beta-blocker use: results from GEMINI. **American Journal of Medicine**, v. 120, n. 7, p. 610-5, 2007.

MILENKOVIC, D.; DEVAL, C.; DUBRAY, C. MAZUR, A.; MORAND, C. Hesperidin Displays Relevant Role in the Nutrigenomic Effect of Orange Juice on Blood Leukocytes in Human Volunteers: A Randomized Controlled Cross-Over Study. **PLOS ONE**, v. 6, e26669, 2011.

MILES, J. M.; LEITER, L.; HOLLANDER, P.; WADDEN, T.; ANDERSON, J. W.; DOYLE, M.; FOREYT, J.; ARONNE, L.; KLEIN, S. Effect of orlistat in overweight and obese patients with type 2 diabetes treated with metformin. **Diabetes Care**, v. 25, n. 7, p. 1123-8, 2002.

MINK, P. J., SCRAFFORD, C. G., BARRAJ, L. M., HARNACK, L., HONG, C. P., NETTLETON, J. A., and JACOBS, D. R., Jr. Flavonoid intake and cardiovascular disease mortality: a prospective study in postmenopausal women. **American Journal of Clinical Nutrition**, v. 85, p. 895-909, 2007.

MLADENKA, P., ZATLOUKALOVA, L., FILIPSKY, T., and HRDINA, R. Cardiovascular Effects of Flavonoids Are Not Caused Only by Direct Antioxidant Activity. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 49, p. 963-975, 2010.

MORRISON, J. A.; FRIEDMAN, L. A.; WANG, P.; GLUECK, C. J. Metabolic syndrome in childhood predicts adult metabolic syndrome and type 2 diabetes mellitus 25 to 30 years later. **The Journal of Pediatrics**, v. 152, n. 2, p. 201-6, 2008.

MOSIMANN, A. L. P.; WILHELM-FILHO, D.; SILVA, E. L. DA. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. **BioFactors**, v. 26, p. 59–70, 2006.

NAKAMURA, K. L.; CARDOZO JUNIOR, E. L.; DONADUZZI, C. M.; SCHUSTER, I. Genetic variation of phytochemical compounds in progenies of *Ilex paraguariensis* St. Hil.. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.9, p.116 - 123, 2009.

NAVAB, M.; ANANTHRAMAIAH, G. M.; REDDY, S. T.; VAN LENTEN, B. J.; ANSELL, B. J.; FONAROW, G. C.; VAHABZADEH, K.; HAMA, S.; HOUGH, G.; KAMRANPOUR, N.; BERLINER, J. A.; LUSIS, A. J.; FOGELMAN, A. M. Oral administration of an Apo A-I mimetic Peptide synthesized from D-amino acids dramatically reduces atherosclerosis in mice independent of plasma cholesterol. **Circulation**, v. 105, n. 3, p. 290-2, 2002.

NAVEED, M.; HEJAZI, V.; ABBAS, M.; KAMBOH, A. A.; KHAN, G. J.; SHUMZAID, M.; AHMAD, F.; BABAZADEH, D.; FANGFANG, X.; MODARRESI-GHAZANI, F.; WENHUA, L.; XIAOHUI, Z. Chlorogenic acid (CGA): A pharmacological review and call for further research. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 97, p. 67-74, 2018.



NELSON, D. L.; COX, M. M. Lehninger princípios de bioquímica. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NEUHOUSER, M. L. The importance of healthy dietary patterns in chronic disease prevention. **Nutrition Research**, 2018: no prelo.

NISSEN, S. E.; TSUNODA, T.; TUZCU, E. M.; SCHOENHAGEN, P.; COOPER, C. J.; YASIN, M.; EATON, G. M.; LAUER, M. A.; SHELDON, W. S.; GRINES, C. L.; HALPERN, S.; CROWE, T.; BLANKENSHIP, J. C.; KERENSKY, R. Effect of recombinant ApoA-I Milano on coronary atherosclerosis in patients with acute coronary syndromes: a randomized controlled trial. **JAMA**, v. 290, n. 17, p. 2292-300, 2003.

NORATA, G. D.; TONTI, L.; ROMA, P.; CATAPANO, A. L. Apoptosis and proliferation of endothelial cells in early atherosclerotic lesions: possible role of oxidised LDL. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 12, n. 5, p. 297-305, 2002.

NORATA, G.D., MARCHESI, P., PASSAMONTI, S., PIRILLO, A., VIOLI, F., and CATAPANO, A.L. Anti-Inflammatory and Anti-Atherogenic Effects of Catechin, Caffeic Acid and Trans-Resveratrol in Apolipoprotein E Deficient Mice. **Atherosclerosis**, v. 191, p.265-271, 2007.

NORTON, L.; SHANNON, C. E.; FOURCAUDOT, M.; HU, C.; WANG, N.; REN, W.; SONG, J.; ABDUL-GHANI, M.; DEFRONZO, R. A.; REN, J.; JIA, W. Sodium-glucose co-transporter (SGLT) and glucose transporter (GLUT) expression in the kidney of type 2 diabetic subjects. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 19, n. 9, p. 1322-1326, 2017.

OLTHOF, M. R.; HOLLMAN, P. C.; KATAN, M. B. Chlorogenic acid and caffeic acid are absorbed in humans. **The Journal of Nutrition**, v. 131, n. 1, p. 66-71, 2001.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Doenças crônicas não transmissíveis. Disponível em: <[https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=569:conceito-doencas-cronicas-nao-transmisiveis&Itemid=463](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=569:conceito-doencas-cronicas-nao-transmisiveis&Itemid=463)>.

OMS. Organização Mundial da Saúde. Diabetes Mellitus. Disponível em: <[https://www.paho.org/bra/index.php?option=com\\_content&view=article&id=394:diabetes-mellitus&Itemid=463](https://www.paho.org/bra/index.php?option=com_content&view=article&id=394:diabetes-mellitus&Itemid=463)>.

O'NEILL, S.; O'DRISCOLL, L. Metabolic syndrome: a closer look at the growing epidemic and its associated pathologies. **Obesity Reviews**, v. 16, n. 1, p. 1-12, 2015.

ONG, K. W.; HSU, A.; TAN, B. K. Anti-diabetic and anti-lipidemic effects of chlorogenic acid are mediated by ampk activation. **Biochemical Pharmacology**, v. 85, n. 9, p. 1341-51, 2013.

OPALA, T., RZYMSKI, P., PISCHEL, I., WILCZAK, M., WOZNIAK, J. Efficacy of 12 weeks supplementation of a botanical extract-based weight loss formula on body weight, body composition and blood chemistry in healthy, overweight subjects—a randomised

double-blind placebo-controlled clinical trial. **European Journal of Medical Research**, v. 11, p. 343–350, 2006.

OPARIL, S.; BAKIR, S. E. [Calcium antagonists in cardiovascular disease. Clinical evidence from morbidity and mortality trials. **Drugs**, v. 59 Spec No 2, p. 25-37, 2000.

PANG, J.; CHOI, Y.; PARK, T. *Ilex paraguariensis* extract ameliorates obesity induced by high-fat diet: potential role of AMPK in the visceral adipose tissue. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 476, n. 2, p. 178-85, 2008.

PARVING, H. H.; ANDERSEN, S.; JACOBSEN, P.; CHRISTENSEN, P. K.; ROSSING, K.; HOVIND, P.; ROSSING, P.; TARNOW, L. Angiotensin receptor blockers in diabetic nephropathy: renal and cardiovascular end points. **Seminars in Nephrology**, v. 24, n. 2, p. 147-57, 2004.

PEARSON, T.; WATTIS, J. A. D.; KING, J. R.; MACDONALD, I. A.; MAZZATTI, D. J. The Effects of Insulin Resistance on Individual Tissues: An Application of a Mathematical Model of Metabolism in Humans. **Bulletin of Mathematical Biology**, v. 78, n. 6, p. 1189-1217, 2016.

PEREIRA, D. F.; KAPPEL, V. D.; CAZAROLLI, L. H.; BOLIGON, A. A.; ATHAYDE, M. L.; GUESSER, S. M.; DA SILVA, E. L.; SILVA, F. R. Influence of the traditional Brazilian drink *Ilex paraguariensis* tea on glucose homeostasis. **Phytomedicine**, v. 19, n. 10, p. 868-77, 2012.

PEREIRA, M. A.; PARKER, E. D.; FOLSOM, A. R. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes mellitus: an 11-year prospective study of 28 812 postmenopausal women. **Archives of Internal Medicine**, v. 166, n. 12, p. 1311-6, 2006.

PIAZZON, A.; VRHOVSEK, U.; MASUERO, D.; MATTIVI, F.; MANDOJ, F.; NARDINI, M. Antioxidant activity of phenolic acids and their metabolites: synthesis and antioxidant properties of the sulfate derivatives of ferulic and caffeic acids and of the acyl glucuronide of ferulic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, n. 50, p. 12312-23, 2012.

PIMENTEL, G. D.; LIRA, F. S.; ROSA, J. C.; CARIS, A. V.; PINHEIRO, F.; RIBEIRO, E. B.; OLLER DO NASCIMENTO, C. M.; OYAMA, L. M. Yerba mate extract (*Ilex paraguariensis*) attenuates both central and peripheral inflammatory effects of diet-induced obesity in rats. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 24, n. 5, p. 809-18, 2013.

PRADHAN, A. D.; MANSON, J. E.; RIFAI, N.; BURING, J. E.; RIDKER, P. M. C-reactive protein, interleukin 6, and risk of developing type 2 diabetes mellitus. **JAMA**, v. 286, n. 3, p. 327-34, 2001.

PUANGPRAPHANT, S.; BERHOW, M. A.; VERMILLION, K.; POTTS, G.; GONZALEZ DE MEJIA, E. Dicafeoylquinic acids in Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) inhibit NF-kappaB nucleus translocation in macrophages and induce apoptosis by activating caspases-8 and -3 in human colon cancer cells. **Molecular Nutrition & Food Research**, v. 55, n. 10, p. 1509-22, 2011.

PUANGPRAPHANT, S.; BERHOW, M. A.; DE MEJIA, E. G. Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hilaire) saponins induce caspase-3-dependent apoptosis in human colon cancer cells *in vitro*. **Food Chemistry**, v. 125, n. 4, p. 1171-1178, 2011.

PUANGPRAPHANT, S.; DE MEJIA, E. G. Saponins in yerba mate tea (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil) and quercetin synergistically inhibit iNOS and COX-2 in lipopolysaccharide-induced macrophages through NFkappaB pathways. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 57, n. 19, p. 8873-83, 2009.

RADER, D. J. High-density lipoproteins as an emerging therapeutic target for atherosclerosis. In: (Ed.). **JAMA**, v. 290, p.2322-4, 2003.

RAFFERTY, E. P.; WYLIE, A. R.; ELLIOTT, C. T.; CHEVALLIER, O. P.; GRIEVE, D. J.; GREEN, B. D. *et al.* *In vitro* and *In vivo* Effects of Natural Putative Secretagogues of Glucagon-Like Peptide-1 (GLP-1). **Scientia pharmaceutica**, v. 79, n. 3, p. 615-621, 2011. ISSN 2218-05320036-8709.

RAMESH, G.; SAI, N. V. B.; GURURAJ, P.; BHUPAL, R.; PATEL, N. Association of metabolic syndrome and level of hs-CRP, Lp(a), and serum ferritin in young Asian patients (</=45 years) with acute myocardial infarction. **Interventional Medicine and Applied Science**, v. 10, n. 2, p. 65-69, 2018.

RÄMET, M. E.; RÄMET, M.; LU, Q.; NICKERSON, M.; SAVOLAINEN, M. J.; MALZONE, A.; KARAS, R. H. High-density lipoprotein increases the abundance of eNOS protein in human vascular endothelial cells by increasing its half-life. **Journal of the American College of Cardiology**, v. 41, n. 12, p. 2288-97, 2003.

REAVEN, G. M. Role of Insulin Resistance in Human Disease. **Diabetes**, v. 37, n. 12, p. 1595, 1988.

REDON, J.; CIFKOVA, R.; LAURENT, S.; NILSSON, P.; NARKIEWICZ, K.; ERDINE, S.; MANCIA, G. The metabolic syndrome in hypertension: European society of hypertension position statement. **Journal of Hipertention**, v. 26, n. 10, p. 1891-900, 2008.

REGINATTO, F.H.; ATHADE, M.L.; SCHENKEL, E.P. Methylxanthines accumulation in *Ilex* species - caffeine and theobromine in erva-mate (*Ilex paraguariensis*) and other *Ilex* species. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 10, n. 6, p. 443-446, 1999.

REMALEY, A. T.; THOMAS, F.; STONIK, J. A.; DEMOSKY, S. J.; BARK, S. E.; NEUFELD, E. B.; BOCHAROV, A. V.; VISHNYAKOVA, T. G.; PATTERSON, A. P.; EGGERMAN, T. L.; SANTAMARINA-FOJO, S.; BREWER, H. B. Synthetic amphipathic helical peptides promote lipid efflux from cells by an ABCA1-dependent and an ABCA1-independent pathway. **The Journal of Lipid Research**, v. 44, n. 4, p. 828-36, Apr 2003. ISSN 0022-2275 (Print) 0022-2275.

RESENDE, P.E.; VERZA, S.G.; KAISER, S.; GOMES, L.F.; KUCHARSKI, L.C.; ORTEGA, G.G. The activity of mate saponins (*Ilex paraguariensis*) in intra-abdominal and

epididymal fat, and glucose oxidation in male Wistar rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 144, n. 3, p. 735-40, 2012.

RIDKER, P. M.; BURING, J. E.; COOK, N. R.; RIFAI, N. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. **Circulation**, v. 107, n. 3, p. 391-7, 2003.

RIEUSSET, J.; BOUZAKRI, K.; CHEVILLOTTE, E.; RICARD, N.; JACQUET, D.; BASTARD, J. P.; LAVILLE, M.; VIDAL, H. Suppressor of cytokine signaling 3 expression and insulin resistance in skeletal muscle of obese and type 2 diabetic patients. **Diabetes**, v. 53, n. 9, p. 2232-41, 2004.

ROCHA JÚNIOR, W. F., Análise do agronegócio da erva-mate com o enfoque da nova economia institucional e o uso da matriz estrutural prospectiva. 2001. 133f. Tese (Doutorado Engenharia de Produção) – Centro Tecnológico, Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2001.

RÖDER, P.V.; GEILLINGER, K. E.; ZIETEK, T. S.; THORENS, B.; KOEPESELL, H.; DANIEL, H. The Role of SGLT1 and GLUT2 in Intestinal Glucose Transport and Sensing. **PLOS ONE**, v. 9, n. 2, p. e89977, 2014.

RODRIGUES, K.F.; PIETRANI, N.T.; BOSCO, A.A.; CAMPOS, F.M.F.; SANDRIM, V.C.; GOMES, K.B. IL-6, TNF- $\alpha$ , and IL-10 levels/polymorphisms and their association with type 2 diabetes mellitus and obesity in Brazilian individuals. **Archives of Endocrinology and Metabolism**, São Paulo, v. 61, n. 5, p. 438-446, Sept. 2017.

RODRIGUEZ DE SOTILLO, D. V.; HADLEY, M. Chlorogenic acid modifies plasma and liver concentrations of: cholesterol, triacylglycerol, and minerals in (fa/fa) Zucker rats. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v. 13, n. 12, p. 717-726, 2002.

Rodriguez-Mateos, A.; Vauzour, D.; Krueger, C. G.; Shanmuganayagam, D.; Reed, J.; Calani, L.; Mena, P.; Del Rio, D.; Crozier, A. Bioavailability, bioactivity and impact on health of dietary flavonoids and related compounds: an update. **Archives of Toxicology**, v. 88, n. 10, p. 1803-53, 2014.

ROSS R. Mechanisms of Disease: Atherosclerosis — An Inflammatory Disease. **The New England Journal of Medicine**. v. 340, p.115 – 126, 1999.

RUETTEN, H.; THIEMERMANN, C. Endothelin-1 stimulates the biosynthesis of tumour necrosis factor in macrophages: ET-receptors, signal transduction and inhibition by dexamethasone. **Journal of physiology and pharmacology**, v. 48, n. 4, p. 675-88, 1997.

SAKAI, S.; MIYAUCHI, T.; KOBAYASHI, M.; YAMAGUCHI, I.; GOTO, K.; SUGISHITA, Y. Inhibition of myocardial endothelin pathway improves long-term survival in heart failure. **Nature**, v. 384, n. 6607, p. 353-5, 1996.

SAMSON, S. L.; GARBER, A. J. Metabolic syndrome. **Endocrinology and Metabolism Clinics of North America**, v. 43, n. 1, p. 1-23, 2014.

SANTIAGO, P. G.; GASPAROTTO, F. M.; GEBARA, K. S.; BACHA, F. B.; LÍVERO, F. A. D. R.; STRAPAZON, M. A.; JUNIOR, E. L. C.; KASSUYA, C. A. L.; DE SOUZA, L. M.; GASPAROTTO JUNIOR, A. Mechanisms underlying antiatherosclerotic properties of an enriched fraction obtained from *Ilex paraguariensis* A. St.-Hil. **Phytomedicine**, v. 34, p. 162-170, 2017.

SATO, Y.; Itagaki, S.; Kurokawa, T.; Ogura, J.; Kobayashi, M.; Hirano, T.; Sugawara, M.; Iseki, K. In *vitro* and *in vivo* antioxidant properties of chlorogenic acid and caffeic acid. **International Journal of Pharmaceutics**, 403, p. 136–138, 2011.

SINDIMATE. Sindicato da indústria do mate no estado do Paraná. **Consumo e exportação da erva-mate**. Disponível em: < <http://www.fiepr.org.br/sindicatos/sindimate-old/FreeComponent3525content24302.shtml>>. Acesso em 27 dez. 2018.

SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. I Diretriz Brasileira de Diagnóstico e Tratamento da Síndrome Metabólica. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 84, p. 1-28, 2005. Disponível em: < <http://publicacoes.cardiol.br/consenso/2005/sindromemetabolica.pdf>>.

SBC. Sociedade Brasileira de Cardiologia. Atualização das Diretrizes Brasileiras de Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 109, n. 2 Supl 1, p. 1-76, 2017. Disponível em: < [http://publicacoes.cardiol.br/2014/diretrizes/2017/02\\_DIRETRIZ\\_DE\\_DISLIPIDEMIAS.pdf](http://publicacoes.cardiol.br/2014/diretrizes/2017/02_DIRETRIZ_DE_DISLIPIDEMIAS.pdf)>.

SCHERR, C., MAGALHÃES, C. K.; MAHEIROS, W. Análise do perfil lipídico em Escolares. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.82 (2), p. 73-79, 2007.

SCHINELLA, G.; FANTINELLI, J. C.; TOURNIER, H.; PRIETO, J. M.; SPEGAZZINI, E.; DEBENEDETTI, S.; MOSCA, S. M. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex brasiliensis*: A comparative study with *Ilex paraguariensis* (yerba mate). **Food Research International**, v. 42, n. 10, p. 1403-1409, 2009/12/01/ 2009.

SCHINELLA, G.; FANTINELLI, J. C.; MOSCA, S. M. Cardioprotective effects of *Ilex paraguariensis* extract: evidence for a nitric oxide-dependent mechanism. **Clinical Nutrition**, v. 24, n. 3, p. 360-6, 2005.

SCHINELLA, G.R.; TROIANI, G.; DÁVILA, V.; BUSCHIAZZO, P.P.; TOURNIER, H.A. Antioxidant effects of an Aqueous Extract of *Ilex paraguariensis*. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 269, p.357-360, 2000.

SCHINZARI, F.; TESAURO, M.; CARDILLO, C. Increased endothelin-1-mediated vasoconstrictor tone in human obesity: effects of gut hormones. **Physiological Research**, v. 67, n. Supplementum 1, p. S69-s81, 2018.

SCHNABEL, R. B.; YIN, X.; LARSON, M. G.; YAMAMOTO, J. F.; FONTES, J. D.; KATHIRESAN, S.; RONG, J.; LEVY, D.; KEANEY, J. F., JR.; WANG, T. J.; MURABITO, J. M.; VASAN, R. S.; BENJAMIN, E. J.. Multiple inflammatory biomarkers in relation to

cardiovascular events and mortality in the community. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, v. 33, n. 7, p. 1728-33, 2013.

SCHUMANN, S.-A.; HICKNER, J. When not to use beta-blockers in seniors with hypertension. **The Journal of family practice**, v. 57, n. 1, p. 18-21, 2008.

SEIDAH, N. G.; AWAN, Z.; CHRETIEN, M.; MBIKAY, M. PCSK9: a key modulator of cardiovascular health. **Circulation Research**, v. 114, n. 6, p. 1022-36, 2014.

SHAH, P.; YANO, J.; REYES, O.; CHYU, K. Y.; KAUL, S.; BISGAIER, C. L.; DRAKE, S.; CERCEK, B. High-dose recombinant apolipoprotein A-I(milano) mobilizes tissue cholesterol and rapidly reduces plaque lipid and macrophage content in apolipoprotein e-deficient mice. Potential implications for acute plaque stabilization. **Circulation**, v. 103, n. 25, p. 3047-50, 2001.

SHIMODA, H.; SEKI, E.; AITANI, M. Inhibitory effect of green coffee bean extract on fat accumulation and body weight gain in mice. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v. 6, p. 9, 2006.

SHORR, R. I.; RAY, W. A.; DAUGHERTY, J. R.; GRIFFIN, M. R. Incidence and risk factors for serious hypoglycemia in older persons using insulin or sulfonylureas. **Archives of Internal Medicine**, v. 157, n. 15, p. 1681-6, 1997.

SHUBEITA, H. E.; MCDONOUGH, P. M.; HARRIS, A. N.; KNOWLTON, K. U.; GLEMBOTSKI, C. C.; BROWN, J. H.; CHIEN, K. R. Endothelin induction of inositol phospholipid hydrolysis, sarcomere assembly, and cardiac gene expression in ventricular myocytes. A paracrine mechanism for myocardial cell hypertrophy. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 265, n. 33, p. 20555-62, 1990.

SILVA, E. L.; NEIVA, T. J. C.; SHIRAI, M.; TERAQ, J.; ABDALLA, D.S.P. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. **Food Research International**, v. 41, p. 973-979, 2008.

SILVA, R. D.; BUENO, A. L.; GALLON, C. W.; GOMES, L. F.; KAISER, S.; PAVEI, C.; ORTEGA, G. G.; KUCHARSKI, L. C.; JAHN, M. P. The effect of aqueous extract of gross and commercial yerba mate (*Ilex paraguariensis*) on intra-abdominal and epididymal fat and glucose levels in male Wistar rats. **Fitoterapia**, v. 82, n. 6, p. 818-26, 2011.

SINGH-MANOUX, A.; SHIPLEY, M. J.; BELL, J. A.; CANONICO, M.; ELBAZ, A.; KIVIMÄKI, M. Association between inflammatory biomarkers and all-cause, cardiovascular and cancer-related mortality. **Canadian Medical Association Journal**, v. 189, n. 10, p. E384, 2017.

SKYLER, J. S.; BAKRIS, G. L.; BONIFACIO, E.; DARSOW, T.; ECKEL, R. H.; GROOP, L.; GROOP, P. H.; HANDELSMAN, Y.; INSEL, R. A.; MATHIEU, C.; MCELVAINE, A. T.; PALMER, J. P.; PUGLIESE, A.; SCHATZ, D. A.; SOSENKO, J. M. Differentiation of Diabetes by Pathophysiology, Natural History, and Prognosis. **Diabetes**, v. 66, n. 2, p. 241-255, 2017.

SBD. Sociedade Brasileira de Diabetes, v. 1, p. 383, 2017-2018. Disponível em: < <https://www.diabetes.org.br/profissionais/images/2017/diretrizes/diretrizes-sbd-2017-2018.pdf>>.

SOCERJ. Sociedade de Cardiologia do Estado do Rio de Janeiro. Manual de Prevenção Cardiovascular, v. 1, p. 96, 2017. Disponível em: < [https://socerj.org.br/wp-content/uploads/2017/05/Manual\\_de\\_Prevencao\\_Cardiovascular\\_SOCERJ.pdf](https://socerj.org.br/wp-content/uploads/2017/05/Manual_de_Prevencao_Cardiovascular_SOCERJ.pdf)>.

SOLA, D.; ROSSI, L.; SCHIANCA, G. P. C.; MAFFIOLI, P.; BIGLIOCCA, M.; MELLA, R.; CORLIANÒ, F.; FRA, G. P.; BARTOLI, E.; DEROSA, G. Sulfonylureas and their use in clinical practice. **Archives of Medical Science**, v. 11, n. 4, p. 840-848, 2015.

SOUZA, L.M.; DARTORA, N.; SCOPARO, C.T.; CIPRIANI, T.R.; GORIN, P.A.; IACOMINI, M.; SASSAKI, G.L. Comprehensive analysis of maté (*Ilex paraguariensis*) compounds: Development of chemical strategies for matesaponin analysis by mass spectrometry. **Journal of Chromatography**, v. 1218, p. 7307-7315, 2011.

SOUZA, A.H.P.; CORREA, R.C.G.; BARROS, L.; CALHELHA, R.C.; SANTOS-BUELGA, C.; PERALTA, R.M.; BRACHT, A.; MATSUSHITA, M.; FERREIRA, I.C.F.R. Phytochemicals and bioactive properties of *Ilex paraguariensis*: An in-vitro comparative study between the whole plant, leaves and stems. **Food Research International**, v. 78, p. 286-294, 2015.

SPARG, S. G.; LIGHT, M. E.; VAN STADEN, J. Biological activities and distribution of plant saponins. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 94, n. 2-3, p. 219-43, 2004.

SRIKANTHAN, K.; FEYH, A.; VISWESHWAR, H.; SHAPIRO, J. I.; SODHI, K. Systematic Review of Metabolic Syndrome Biomarkers: A Panel for Early Detection, Management, and Risk Stratification in the West Virginian Population. **International Journal of Medical Sciences**, v. 13, n. 1, p. 25-38, 2016.

STAKOS, D. A.; SCHUSTER, D. P.; SPARKS, E. A.; WOOLEY, C. F.; OSEI, K.; BOUDOULAS, H. Long term cardiovascular effects of oral antidiabetic agents in non-diabetic patients with insulin resistance: double blind, prospective, randomised study. **Heart**, v. 91, n. 5, p. 589, 2005.

STALMACH, A.; MULLEN, W.; BARRON, D.; UCHIDA, K.; YOKOTA, T.; CAVIN, C.; STEILING, H.; WILLIAMSON, G.; CROZIER, A. Metabolite profiling of hydroxycinnamate derivatives in plasma and urine after the ingestion of coffee by humans: Identification of biomarkers of coffee consumption. **Drug Metabolism & Disposition**, v. 37, p. 1749-1758, 2009.

STAMLER, J.; VACCARO, O.; NEATON, J. D.; WENTWORTH, D. Diabetes, Other Risk Factors, and 12-Yr Cardiovascular Mortality for Men Screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. **Diabetes Care**, v. 16, n. 2, p. 434, 1993.

STANCU, C. S.; TOMA, L.; SIMA, A. V. Dual role of lipoproteins in endothelial cell dysfunction in atherosclerosis. **Cell and Tissue Research**, v. 349, n. 2, p. 433-46, 2012.

STANGL, V.; DREGER, H.; STANGL, K.; LORENZ, M. Molecular targets of tea polyphenols in the cardiovascular system. **Cardiovascular Research**, v. 73, 348-358, 2007.

STEYERS, C. M.; MILLER, F. J. Endothelial dysfunction in chronic inflammatory diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 15, n. 7, p. 11324-49, 2014.

STURION, J.A.; CORREA, G.; RESENDE, M.D.V.; CARDOZO JUNIOR, E.L.; DONADUZZI, C.M. **Controle Genético dos Teores de Polifenóis Totais, Taninos e Cafeína em Progenies de Erva-Mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil.) Cultivadas em Três Classes de Solos**. Colombo: Embrapa Florestas, 2004.

SUGIMOTO, S.; NAKAMURA S.; YAMAMOTO, S.; YAMASHITA, C.; ODA, Y.; MATSUDA, H.; YOSHIKAWA, M.. Brazilian natural medicines. III. structures of triterpene oligoglycosides and lipase inhibitors from mate, leaves of *Ilex paraguariensis*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v. 57, n. 3, p. 257-261, 2009.

SURYA, I. I.; AKKERMAN, J. W. The influence of lipoproteins on blood platelets. **American Heart Journal**, v. 125, n. 1, p. 272-5, 1993.

SUZUKI, T.; MIYAUCHI, T. A novel pharmacological action of ET-1 to prevent the cytotoxicity of doxorubicin in cardiomyocytes. **American journal of physiology. Regulatory, integrative and comparative physiology**, v. 280, n. 5, p. R1399-406, 2001.

SYAUQY, A.; HSU, C. Y.; RAU, H. H.; CHAO, J. C. Association of dietary patterns, anthropometric measurements, and metabolic parameters with C-reactive protein and neutrophil-to-lymphocyte ratio in middle-aged and older adults with metabolic syndrome in Taiwan: a cross-sectional study. **Nutrition Journal**, v. 17, n. 1, p. 106, 2018.

SZABO, C. Multiple pathways of peroxynitrite cytotoxicity. **Toxicology Letters**, v. 140-141, p. 105-12, 2003.

TAI, C.; GAN, T.; ZOU, L.; SUN, Y.; ZHANG, Y.; CHEN, W.; LI, J.; ZHANG, J.; XU, Y.; LU, H.; XU, D. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers on cardiovascular events in patients with heart failure: a meta-analysis of randomized controlled trials. **BMC Cardiovascular Disorders**, v. 17, n. 1, p. 257, 2017.

TATEISHI, E.; HAN, L.-K.; OKUDA, H. Effect of a Hot-water Extract from Coffee Beans on the Postprandial Blood Glucose Concentration in Rats. **The Japanese Society for Food Science and Technology**, v. 62, n. 6, p. 323-327, 2004.

THORENS, B. GLUT2, glucose sensing and glucose homeostasis. **Diabetologia**, v. 58, n. 2, p. 221-232, 2015.

TONKIN, A. M. Clinical relevance of statins: their role in secondary prevention. **Atherosclerosis Supplements**, v. 2, n. 1, p. 21-5, 2001.

TONKIN, A.; BYRNES, A. Treatment of dyslipidemia. **Biomedical Review Journals**, v. 6, p. 17-17, 2014.



TSENG, W. C.; LIU, J. S.; HUNG, S. C.; KUO, K. L.; CHEN, Y. H.; TARNG, D. C.; HSU, C. C. Effect of spironolactone on the risks of mortality and hospitalization for heart failure in pre-dialysis advanced chronic kidney disease: A nationwide population-based study.

**International Journal of Cardiology**, v. 238, p. 72-78, 2017.

TUNNICLIFFE, J. M.; ELLER, L. K.; REIMER, R. A.; HITTEL, D. S.; SHEARER, J. Chlorogenic acid differentially affects postprandial glucose and glucose-dependent insulinotropic polypeptide response in rats. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 36, n. 5, p. 650-9, 2011.

TURKMEN, N.; SARI, F.; VELIOGLU, Y. S. Effects of extraction solvents on concentration and antioxidant activity of black and black mate tea polyphenols determined by ferrous tartrate and Folin–Ciocalteu methods. **Food Chemistry**, v. 99, p. 835–841, 2006.

UPADHYAY, R.; MOHAN RAO, J. An outlook on Chlorogenic Acids - Occurrence, Chemistry, Technology, and Biological Activities. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**., v. 53, n. 9, p. 968-984, 2013.

YUSUF, S.; SLEIGHT, P.; POGUE, J.; BOSCH, J.; DAVIES, R.; DAGENAIS, G. Effects of an angiotensin-converting-enzyme inhibitor, ramipril, on cardiovascular events in high-risk patients. **The New England Journal of Medicine**, v. 342, n. 3, p. 145-53, 2000.

VAN DAM, R. M. Coffee consumption and risk of type 2 diabetes, cardiovascular diseases, and cancer. **Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism**, v. 33, n. 6, p. 1269-83, 2008.

VAN DAM, R. M.; PASMANN, W. J.; VERHOEF, P. Effects of coffee consumption on fasting blood glucose and insulin concentrations: randomized controlled trials in healthy volunteers. **Diabetes Care**, v. 27, n. 12, p. 2990-2, 2004.

VAN DOREN, M.; BROIHIER, H. T.; MOORE, L. A.; LEHMANN, R. HMG-CoA reductase guides migrating primordial germ cells. **Nature**, v. 396, n. 6710, p. 466-9, 1998.

VAN HAEFTEN, T. W.; PIMENTA, W.; MITRAKOU, A.; KORYTKOWSKI, M.; JENSSEN, T.; YKI-JARVINEN, H.; GERICH, J. E. Relative contributions of beta-cell function and tissue insulin sensitivity to fasting and postglucose-load glycemia. **Metabolism**, v. 49, n. 10, p. 1318-25, 2000.

VIEIRA, T. **Viabilidade econômica da cultura de erva-mate (*Ilex paraguariensis* A. St. - Hil.) em áreas de reserva legal no Paraná.** 2012. Dissertação (Pós-graduação em Engenharia Florestal) – Departamento de Economia Rural e Extensão, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR.

VLADIMIROVA-KITOVA, L.; DENEVA, T.; ANGELOVA, E.; NIKOLOV, F.; MARINOV, B.; MATEVA, N. Relationship of asymmetric dimethylarginine with flow-mediated dilatation in subjects with newly detected severe hypercholesterolemia. **Clinical Physiology and Functional Imaging**, v. 28, n. 6, p. 417-25, 2008.

WAN, C. W.; WONG, C. N.; PIN, W. K.; WONG, M. H.; KWOK, C. Y.; CHAN, R. Y.; YU, P. H.; CHAN, S. W. Chlorogenic acid exhibits cholesterol lowering and fatty liver attenuating properties by up-regulating the gene expression of PPAR-alpha in hypercholesterolemic rats induced with a high-cholesterol diet. **Phytotherapy Research**, v. 27, n. 4, p. 545-51, Apr 2013. ISSN 0951-418x.

WANG, B.; WANG, F.; ZHANG, Y.; ZHAO, S. H.; ZHAO, W. J.; YAN, S. L.; WANG, Y. G. Effects of RAS inhibitors on diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. **The Lancet Diabetes & Endocrinology**, v. 3, n. 4, p. 263-74, 2015.

WHALEN, K. L.; STEWART, R. D. Pharmacologic management of hypertension in patients with diabetes. **American Family Physician**, v. 78, n. 11, p. 1277-82, 2008.

WRIGHT, E. M.; MARTIN, M. G.; TURK, E. Intestinal absorption in health and disease--sugars. **Best Practice & Research: Clinical Gastroenterology**, v. 17, n. 6, p. 943-56, 2003.

WRIGHT, E. M.; TURK, E. The sodium/glucose cotransport family SLC5. **European Journal of Physiology**, v. 447, n. 5, p. 510-8, 2004.

WU, M-Yu; Li, C-J.; HOU, M-F; CHU, P. Y. New insights into the role of inflammation in the pathogenesis of atherosclerosis. **International Journal of Molecular Sciences.**, v. 18, p. 2-18, 2017.

XIAO, J. B.; HOGGER, P. Dietary polyphenols and type 2 diabetes: current insights and future perspectives. **Current Medicinal Chemistry**, v. 22, n. 1, p. 23-38, 2015.

YANAI, H.; TOMONO, Y.; ITO, K.; FURUTANI, N.; YOSHIDA, H.; TADA, N. The underlying mechanisms for development of hypertension in the metabolic syndrome. **Nutrition Journal**, v. 7, p. 10-10, 2008.

ZANOELO, E.F.; CARDOZO FILHO, L.; CARDOZO JUNIOR, E. L. Superheated Steam-Drying of Mate Leaves and Effect of Drying Conditions on the Phenol Content. **Journal of Food Process Engineering**, v. 29, p. 253 - 268, 2006.

ZHANG, X.; SESSA, W. C.; FERNANDEZ-HERNANDO, C. Endothelial Transcytosis of Lipoproteins in Atherosclerosis. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, v. 5, p. 130, 2018.

ZHANG, Y.; ZANOTTI, I.; REILLY, M. P.; GLICK, J. M.; ROTHBLAT, G. H.; RADER, D. J. Overexpression of apolipoprotein A-I promotes reverse transport of cholesterol from macrophages to feces *in vivo*. **Circulation**, v. 108, n. 6, p. 661-3, 2003.

ZHAO, X. S.; PAN, W.; BEKEREDJIAN, R.; SHOHET, R. V. Endogenous endothelin-1 is required for cardiomyocyte survival *in vivo*. **Circulation**, v. 114, n. 8, p. 830-7, 2006.

ZHENG, J.; WOO, S.-L.; HU, X.; BOTCHLETT, R.; CHEN, L.; HUO, Y.; WU, C. Metformin and metabolic diseases: a focus on hepatic aspects. **Frontiers of medicine**, v. 9, n. 2, p. 173-186, 2015.

ZHENG, Y.; SCOW, J. S.; DUENES, J. A.; SARR, M. G. Mechanisms of glucose uptake in intestinal cell lines: role of GLUT2. **Surgery**, v. 151, n. 1, p. 13-25, 2012.

## **5 APÊNDICES**

## 5.1 Artigo 1: Daily intakes of caffeoylquinic acids in mate (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) traditional beverages consumption.

Artigo publicado na Journal of Agricultural and Food Chemistry (FI 3.154)

### Daily Intake of Chlorogenic Acids from Consumption of Maté (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.) Traditional Beverages

Karimi Sater Gebara,<sup>†</sup> Arquimedes Gasparotto-Junior,<sup>†</sup> Patricia Gonçalves Santiago,<sup>†</sup> Claudia Andrea Lima Cardoso,<sup>‡</sup> Lauro Mera de Souza,<sup>§</sup> Christine Morand,<sup>||</sup> Telma Aparecida Costa,<sup>⊥</sup> and Euclides Lara Cardozo-Junior<sup>\*⊥</sup>

<sup>†</sup>Laboratory of Electrophysiology and Cardiovascular Pharmacology, Health Sciences College, Federal University of Grande Dourados, Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, s/n – J. Aeroporto, 79.804-970 Dourados, MS, Brazil

<sup>‡</sup>Center for Research on Natural Resources, State University of Mato Grosso do Sul, Rodovia Dourados-Itahum, Km 12, s/n – J. Aeroporto, 79.804-970 Dourados, MS, Brazil

<sup>§</sup>Instituto de Pesquisa Pelé Pequeno Príncipe, Faculdades Pequeno Príncipe, 80.250-060 Curitiba, PR, Brazil

<sup>||</sup>INRA, Human Nutrition Unit, UCA, F-63003 Clermont-Ferrand, France

<sup>⊥</sup>Institute of Biological, Medical and Health Sciences, Universidade Paranaense, Av. Parigot de Souza, 3636 J. Prada, 85.903-170 Toledo, PR, Brazil

**ABSTRACT:** The main objective of this study was to investigate the daily intake of chlorogenic acids (CGAs) and methylxanthines by consumers of maté traditional beverages (MTBs), *terere* and *chimarrão* (*Ilex paraguariensis* A.St.-Hil.). In the studied population (450 citizens from Toledo, PR, Brazil), 63% consume the *chimarrão* and 37% *terere*, with weighted mean daily intakes estimated at 648–2160 and 244–746 mL, respectively. For every 100 mL of beverage consumed, the average amount of total phenol compounds extracted was 673.6 mg for *chimarrão* and 1184.9 mg for *terere*. Regarding CGAs composition, caffeoylquinic acids (CQAs) constitute about 38.4% for *chimarrão* and 55.3% for *terere*, and dicaffeoylquinic acids (diCQAs) represent 61.6 and 44.7% of the extracted compounds, respectively. The daily intake of phenolic compounds by MTB consumers was estimated for *chimarrão* (512.5–1708.5 mg/day) and *terere* (583.0–1779.7 mg/day). These results allow us to conclude that MTBs are important dietary sources of CGAs, mainly CQAs and di-CQAs.

**KEYWORDS:** *Ilex paraguariensis*, maté traditional beverages, chlorogenic acids, maté polyphenols intake

#### INTRODUCTION

Diets based on polyphenol-rich products have been associated with the reduction of some chronic diseases in humans, especially cardiovascular diseases (CVDs).<sup>1</sup> Epidemiological studies have shown that the risk of heart disease can be alleviated with a high consumption of polyphenol-rich foods.<sup>2</sup> Most CVDs are caused by complications of atherosclerosis, which is a slow, progressive, inflammatory disease characterized by the development of atherosclerotic plaques on the vascular wall. When associated with arterial hypertension and obesity, dyslipidemias make the development of CVDs even more significant.<sup>3</sup> These cardiovascular risk factors create a pro-oxidant and pro-inflammatory environment favorable for early development of these diseases.

Maté (*Ilex paraguariensis* A. St.-Hil.) has been considered an important source of dietary polyphenols with possible usefulness in the prevention of CVDs, as suggested by results from *in vitro*, animal, and human studies presented in a recent review manuscript.<sup>4</sup> *In vitro* and *in vivo* research has demonstrated that aqueous extracts from *I. paraguariensis* express high antioxidant activity.<sup>5</sup> Moreover, in animal experiments, the consumption of maté has been shown to exert hypocholesterolemic effects<sup>6</sup> and to attenuate the development of atherosclerosis,<sup>7</sup> with possible benefits for the cardiovascular system.<sup>8,9</sup> Some human studies have suggested a potential herbal product in the treatment of obesity.<sup>10,11</sup>

Recently, mechanisms are proving important properties of maté, which involve cardiovascular health as the anti-obesity effect in obese subjects,<sup>12</sup> insulin signaling in rats and in human erythrocytes,<sup>13–15</sup> lymphocyte activation *in vitro*,<sup>16</sup> and anti-inflammatory activity in murine models.<sup>17</sup> Therefore, the importance of these compounds and their biological effects on consumers should not be ruled out, considering the large number of evidence related to the effect of polyphenolic compounds in the prevention of CVDs.

*I. paraguariensis* is rich in phytochemicals, especially triterpene saponins, methylxanthines, and polyphenols.<sup>18</sup> The predominant maté phenolic compounds are hydroxycinnamoyl quinic acid esters, classically referred to as chlorogenic acids (CGAs), notably the caffeoylquinic acids (CQAs) and dicaffeoylquinic acids (diCQAs), and flavonol glycosides, especially rutin.<sup>19</sup> CGAs are a family of compounds comprising the caffeoylquinic, *p*-coumaroylquinic, feruloylquinic, dicaffeoylquinic, and caffeoylferuloylquinic acids, among others.<sup>20,21</sup>

The most common individual CQAs are 3-*O*-caffeoylquinic acid (3-CQA), 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQA), and 4-*O*-caffeoylquinic acid (4-CQA), as well as the diCQAs, 3,4-di-*O*-

Received: September 1, 2017

Revised: October 19, 2017

Accepted: October 22, 2017

Published: October 22, 2017

caffeoylquinic acid (3,4-diCQA), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,5-diCQA), and 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (4,5-diCQA). Different studies have shown that mono- and dicaffeoylquinics are the main compounds of the CGA family found in maté traditional beverages (MTBs).<sup>22,23</sup> The cardiovascular protective activity of maté has been related to its high content of phenolic compounds.<sup>23</sup> However, few studies have evaluated the absorption, distribution, and metabolism of CGAs from MTBs, unlike other products such as coffee.<sup>24</sup>

Maté has been used in South American countries as a tonic and stimulant beverage since the pre-Columbian period. Currently, maté leaves are consumed in a peculiar way by modern and urban populations, despite the originally rural habit.<sup>25</sup> The main maté products, such as *chimarrão*, *tereré*, and maté tea, are obtained from the dried and crushed leaves by different processes that follow the specific regulations of each country. It is estimated that individuals consume more than 1 L of *chimarrão* per day in the Brazilian southern states and Uruguay.<sup>7</sup> *Chimarrão* is a hot water beverage, and *tereré* is a cold water beverage, the two being the most common traditional forms of maté consumption.<sup>26</sup> It is relevant to know the details of their preparation in order to understand the differences in the concentrations of the extracted phytochemical compounds and the contribution in the supply of phenolic compounds. Furthermore, due to the diversity of traditional habits, it remains difficult to determine the average intake of phytochemical compounds from the consumption of MTB.

In this study, we aimed to first evaluate the quantity and frequency of maté consumption in the *chimarrão* and *tereré* forms, and also to assess the impact of socioeconomic factors on maté intake. We also reproduced experimentally the conditions used to prepare *chimarrão* and *tereré* in order to determine the amount of total phenols, mono- and diCQAs, and caffeine extracted and thereby ingested as a result of maté consumption. Finally, we estimated the daily intake of phytochemicals and characterized the profile of specific compounds associated with MTB consumption.

## MATERIALS AND METHODS

**MTB Consumption Profile.** A qualitative and quantitative study was conducted to evaluate the profile of MTB consumers and the average intake of phenolic compounds from MTB. A total of 455 MTB consumers from the city of Toledo, PR, Brazil, were interviewed regarding socioeconomic profile and consumption habits, considering 95% confidence level ( $p = 0.05$ ) and margin of error of 2% ( $z = 2$ ). The consumers were invited to answer a questionnaire, previously validated, on the socioeconomic profile (sex, age, monthly income, schooling) and consumption habits (type of traditional beverage, daily consumption frequency, container size, amount of maté, beverage volume, number of extractions, number of participants in the round). From these parameters, the average intake of phenolic compounds by the consumers was estimated, and the results obtained were expressed in mean (mg/day). The interviews took place between July and August of 2015, and the study was approved by the Research Ethics Committee (CAAE: 22531313.5.0000.0109).

**Content in Polyphenols Extracted from MTB. Samples.** The samples were obtained from commercial products in the city of Toledo, PR, Brazil; three commercial brands of traditional beverages *chimarrão* (70% leaves and 30% stems) and *tereré* (40% leaves and 60% stems) were used for the simulated extractions. The extractions were performed in triplicate.

**Simulated Extraction.** The samples were extracted, simulating the traditional consumption of *chimarrão* and *tereré* (30 extractions  $\times$  3 batches  $\times$  3 replicates = 270), based on the methodology adapted by

Meinhart et al. in 2010.<sup>26</sup> To prepare *chimarrão*, 85.0 g of maté was added in a traditional medium-sized container called *cuia*. The traditional beverage was prepared as indicated on the packaging by the manufacturer: 190 mL of water ( $75 \pm 2$  °C) was added, and after 30 s the liquid was extracted with the aid of a vacuum pump coupled to the tube called *bomba*, and an aliquot was removed for analysis. After 2 min, another 120 mL of hot water was added, and the liquid was extracted again. The *cuia* was supplemented with hot water 30 times (extractions), thus simulating the aqueous extractions performed by the consumers. To prepare *tereré*, 50 g of maté was added in an aluminum cup. In this case, 180 mL of water ( $11 \pm 2$  °C) was added until complete infusion of the maté for 30 s, and an aliquot was removed for analysis. The *tereré* samples were also extracted 30 times (extractions) every 2 min, with addition of 100 mL of cold water at each extraction.

In addition, an experiment was carried out to evaluate the impact of some factors—temperature (5–100 °C), contact time maté/water (0.5–4 min), granulometry (10–60 mesh), and stem/leaf ratio (70/30–30/70 w/w)—on the extraction rate of phenolic compounds from maté consumed in traditional conditions. The procedure used in the extraction process was similar to that described previously for *chimarrão* and *tereré*; however, the extractions were performed in a beaker and followed by simple filtration. Six extractions were performed, and aliquots were collected to determine total phenols. After the extractions, aliquots obtained under each experimental condition were used for determination of total phenolic compounds.

**Phytochemical Analysis. Total Phenolic Content.** The phenolic compounds were evaluated according to Meinhart et al.<sup>26</sup> using Folin reagent. Each 1 mL aliquot was diluted to 50 mL. An external calibration curve with pyrogallol acid (Vetec) at concentrations between 4.0 and 100.0  $\mu\text{g/mL}$  was used ( $r^2 = 0.9998$  for *chimarrão* and  $r^2 = 0.9999$  for *tereré*).

**Caffeoylquinic Acids Identification. UPLC-MS Analysis.** The sample was analyzed by LC-MS in an ultra-performance liquid chromatograph (UPLC) equipped with a binary pump, column oven, and sample delivery system (Waters Co.). The separation was carried out with a C-18 column (HSS-T3, Waters, 100 mm  $\times$  2.1 mm, 1.7  $\mu\text{m}$ ). Detection was provided by high-resolution mass spectrometry (HR-MS) performed in an LTQ-Orbitrap XL instrument (Thermo Scientific), with an electrospray ionization interface (ESI) at atmospheric pressure ionization (API) in the positive and negative ionization modes.

**Reagents and Procedure.** Sample was passed through 0.22  $\mu\text{m}$  nylon filters with an injection volume of 5  $\mu\text{L}$ . The mobile phase was composed of (A) ultrapure water (type 1) and (B) acetonitrile (J.T. Baker), both with 0.1% of formic acid (Tedia) (v/v). The gradient used was 0% (initial) to 20% in 5 min, then to 70% (13 min) and 0% (13.5 min), flow rate of 400  $\mu\text{L/min}$ , and column temperature of 60 °C. For sample desolvation, nitrogen at a flow rate of 40 arbitrary units (au) in the sheath gas, and 10 au in the auxiliary gas were used, along with source temperature of 350 °C. The energies for negative ionization: spray at 3.5 kV, tube lens at  $-200$  V, and capillary at  $-40$  V. The mass resolution was set at 15 000 fwhm (at  $m/z$  400) in LC-MS mode. External calibration is regularly performed, covering  $m/z$  100–2000, and the acquisition occurred in total ion current (TIC). In the negative ionization, the compounds were fragmented by high-energy collision dissociation (HCD) using helium and energy at 55 eV.

**Caffeoylquinic Acids and Caffeine Quantification. HPLC Analysis.** The analysis of the compounds was performed by using a Varian (PRO STAR model 210) high performance liquid chromatograph coupled with diode array detector (HPLC-DAD), a Varian interphase module (Star 800), and an injector (model 410). The chromatographic separation was obtained using a C-18 reversed-phase column (Phenomenex LUNA, 250.0 mm  $\times$  4.6 mm  $\times$  5.0  $\mu\text{m}$ ) with 20  $\mu\text{L}$  injection.

**Reagents and Procedure.** The samples were filtered in 0.45  $\mu\text{m}$  nylon filters. The elution system consisted of (A) acidified water purified by the Milli-Q system (Millipore Milford, MA) with 0.3% acetic acid and (B) methanol (J.T. Baker). The solvents were run at a flow rate of 1.0 mL/min using the gradient 15–20% B for 20 min, 20–

40% B for 25 min, 40–85% B at 50 min, and 85–15% B for 10 min. The column was maintained at 25 °C. Detection was monitored at 265 nm for caffeine and 325 nm for the CQAs (3-CQA, 5-CQA, and 4-CQA) and diCQAs (3,4-diCQA, 3,5-diCQA, and 4,5-diCQA). All samples were run in duplicate and the peaks compared with caffeine ( $y = 803500x + 920$ ;  $r^2 = 0.9996$ ; range from 10.0 to 100.0  $\mu\text{g/mL}$ ) and chlorogenic acid ( $y = 495900x - 1460$ ;  $r^2 = 0.9992$ ; range from 10.0 to 100.0  $\mu\text{g/mL}$ ) standards (Sigma Chemical Co., USA). The detection limit was determined by injecting ( $n = 5$ ) solutions of each standard solution of known concentration (0.01–0.10  $\mu\text{g/mL}$ ) and the decreasing the concentrations of the samples until detection of a peak with a signal/noise ratio of 3. The corresponding concentration was considered the minimal detectable concentration. The quantification limit was determined by performing the same methodology and, thus, the quantification limit was defined as the chromatographic peak having a signal/noise ratio of 10. The LOD and LOQ values were 0.023  $\mu\text{g/mL}$  and 0.076  $\mu\text{g/mL}$  for CGA and 0.018  $\mu\text{g/mL}$  and 0.059  $\mu\text{g/mL}$  for caffeine.

Calibration curve was obtained with the mentioned standards after dilution in the mobile phase and submitted to chromatographic separation. The contents of the caffeoyl derivatives were expressed in CGA absorbance (mg/100 mL) for CQAs and corrected for diCQAs using the peak correlation factor (1.458).<sup>27</sup> The data were expressed as mean of each extraction (3 batches  $\times$  3 replicates).

## RESULTS AND DISCUSSION

**MTB Consumption Profile.** Maté traditional beverage (MTB) is obtained from *I. paraguayensis* leaves, and its use is strongly linked to rural customs of South America countries. The origin of the maté consumption refers to pre-Columbian populations (Guaranis), and the basis of the maté myth of origin invariably refers to a "gift of the gods to assuage the grief and fatigue and the bitter hours of old age". Only a few studies have evaluated the consumption habits and the impact on phytochemical intake by MTB consumers. Previous reports have estimated the daily consumption of maté leaves as 19.5 g/person/day in Uruguay and 14 g/person/day in Argentina.<sup>25</sup> The amounts of methylxanthines and phenolic compounds extracted from the MTB were also calculated on the basis of traditional consumption simulation.<sup>26</sup> However, none of these studies investigated the profile of phenolic compounds ingested by MTB consumers. Therefore, our first objective was to evaluate the profile of phenolic compounds provided by the maté consumption, to quantify the intake of polyphenolic compounds and assess the factors that may influence the level of intake in these consumers.

A significant sampling ( $n = 455$ ) of MTB consumers was interviewed (Table 1), and it was observed that *chimarrão* consumers were predominantly women (62.9%), aged 30 years or more (73.1%), earning less than the equivalent of US \$1069.00 per month (87.5%), with a middle level of schooling (55.2%). This profile was quite similar for *tereré* consumers. Indeed, these latter were predominantly women (68.6%), between 15 and 30 years (81.1%), earning less than the equivalent of US\$1069.00 per month (90.0%), with a middle level of schooling (78.7%). Although consumption originates in the rural environment, the urbanization of these regions has led to adaptations to traditional consumption. We have shown that *chimarrão* (hot water) is a popular consumer product for people over 30 years old, while *tereré* (cold water) is a product consumed by younger people (15–30 years old) with a difference in levels of schooling (55.2 and 78.7%, respectively). This pattern of consumption is representative of the western region of Paraná state (southern Brazil) and may also be indicative of the consumption patterns in other countries. It

**Table 1. Socioeconomic Profile of MTB Consumers ( $n = 455$ ) in Toledo, PR, Brazil, 2015**

variables	<i>chimarrão</i> ( $n = 286$ )		<i>tereré</i> ( $n = 169$ )	
	n	%	n	%
gender				
female	180	62.9	116	68.6
male	106	37.1	53	31.4
age				
15–30 years	77	26.9	137	81.1
>30 years	209	73.1	32	18.9
schooling				
primary school	71	24.8	19	11.2
secondary school	158	55.2	133	78.7
graduate	57	20.0	17	10.1
monthly personal income (b.m.w.) <sup>a</sup>				
1–4	250	87.5	152	90.0
>4	36	12.5	17	10.0
people per consumption group	3.1 $\pm$ 1.2		3.6 $\pm$ 1.5	

<sup>a</sup>Brazilian minimum wage was equal to US\$267.88/month at the time the baseline study was conducted.

was possible to observe that in both cases the consumption of *chimarrão* and *tereré* is a collective habit, wherein *chimarrão* is consumed on average by 3.1  $\pm$  1.2 people and *tereré* by 3.6  $\pm$  1.5 people/group (Table 1).

**Estimation of MTB Daily Intake.** In this work, we determined the average intake of each beverage consumed from results of the survey carried out on consumers. The diversity of consumption habits demonstrated in ours and other studies<sup>26</sup> may involve variations in the recipient size (*cuia*, *guampa*), number of rounds, and social habits related to the consumption. Table 2 shows the traditional consumption habits used to evaluate the amount of MTB consumed. It was possible to observe that most of the interviewees consume *chimarrão* in a medium-sized container (85 g/120 mL), daily, one to two times a day, and they execute about 7.8  $\pm$  4.2 successive extractions. The *tereré* is consumed preferably in a medium-sized containers (50 g/100 mL), one to two times a day, two to four times a week, performing 7.7  $\pm$  3.9 extractions. To estimate *chimarrão* consumption we multiplied volume (120 mL)  $\times$  average times/day (1.5)  $\times$  [average times per week/weekdays] (7/7 = 1.0)  $\times$  minimum or maximum times per rounds (3.6 or 12). In the same way, to estimate *tereré* consumption we multiplied volume (100 mL)  $\times$  average times/day (1.5)  $\times$  [average times per week/weekdays] (3/7 = 0.43)  $\times$  minimum or maximum times per rounds (3.8 or 11.6). The evaluation of the habits of consumers allows estimating a daily consumption from 648 to 2160 mL for *chimarrão* and 244.3 to 745.7 mL for *tereré*.

**Caffeoylquinic Acids Identification.** Maté is an important source of methylxanthines and phenolic compounds, the main compounds extracted in traditional consumption being caffeine and CGA.<sup>28</sup> In order to identify compounds of the caffeoylquinic family, a sample of the extracts obtained in traditional consumption was analyzed by UPLC-MS. The secondary metabolites were observed, namely those from the series of isomeric monocaffeoylquinic and dicaffeoylquinic acids. The monocaffeoylquinic acids compounds were fragmented, producing three deprotonated ions at  $m/z$  353.087 [ $M - H$ ]<sup>-</sup> with fragment ions at  $m/z$  135.044, 173.045, 179.034, and 191.056. Monocaffeoylquinic acids were

Table 2. Habits Profile of Maté Traditional Beverages Consumers (% = Percentage of Consumers Interviewed)

traditional beverage	amount of maté/water per serving (%)	consumption		extractions	average volume of beverage per day <sup>a</sup> (mL)
		times per day (%)	times per week (%)	times/round (n)	
<i>chimarrão</i>	<85 g/120 mL (92.3)	one/two (80.5)	everyday (61.9)	7.8 ± 4.2	648.0
	>85 g/120 mL (7.7)	three/four (19.5)	two to four (25.9)		2160.0
<i>tereré</i>	<50 g/100 mL (97.7)	one/two (94.7)	everyday (19.5)	7.7 ± 3.9	244.3
	>50 g/100 mL (2.3)	three/four (5.4)	two to four (80.5)		745.7

<sup>a</sup>Estimated from calculation: volume × average daily consumption × average weekly consumption × minimum/maximum extractions.

identified as 3-*O*-caffeoylquinic acid (3-CQA), 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQA), and 4-*O*-caffeoylquinic acid (4-CQA). The series of dicaffeoylquinic acids were observed at  $m/z$  515.119 [M - H]<sup>-</sup>, confirmed by fragment ions at  $m/z$  135.044, 173.045, 179.034, 191.056, and 353.087. Dicaffeoylquinic acids were identified as 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,4-diCQA), 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,5-diCQA), and 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (4,5-diCQA). These fragments appeared at different ratios, being characteristic for each isomer, as described in previous work.<sup>18</sup> The identification of the mono- and dicaffeoylquinic isomers was also confirmed by the UV absorption spectra of the samples analyzed in HPLC-DAD (unpublished data) and literature data. The UV spectra showed a maximum at 328–330 nm and a shoulder at 266–272 nm, typical of CQAs. CQAs and diCQAs were reported as major phenolic compounds in different beverages obtained from yerba maté.<sup>23,29–31</sup> The elution sequence of the mono- (3-acyl, 5-acyl, and 4-acyl) and diCQA (3,4-di, 3,5-di, and 4,5-diCQA) was the same in the CQAs identification (UPLC) and quantification experiments (HPLC). The presence of glycosylated flavonoids as well as other hydroxy cinnamoylquinic acids was reported in other studies,<sup>23,25</sup> but the quantification of these compounds was not addressed in the present work.

**Caffeoylquinic Acids and Caffeine Quantification.** The diversity of the consumption habits of MTB is a factor that makes it difficult to quantify the phytochemicals consumed. The consumption is carried out with successive extractions from the same raw material (*matrix*), and different factors can influence this process. Caffeine and mono- and dicaffeoylquinic isomers were quantified by HPLC-DAD (Figure 1). The content of theobromine was evaluated (data not shown), and the concentrations found were very small. The presence of impurities with the same absorption spectrum in some analyzed peaks of the chromatogram, as well as the use of peak correlation factors for quantification of dicaffeoylquinic acids, may be reasons to overestimate the values obtained, but to our point of view they do not compromise the general estimates of the daily intake of the analyzed compounds. The quantities obtained from successive extractions were added (Table 3), where the three first extractions, the sum of eight extractions (Σ8), and the sum of 30 extractions (Σ30) were observed. The Σ8 was selected because it was the average of rounds observed in the interviews (Table 2).

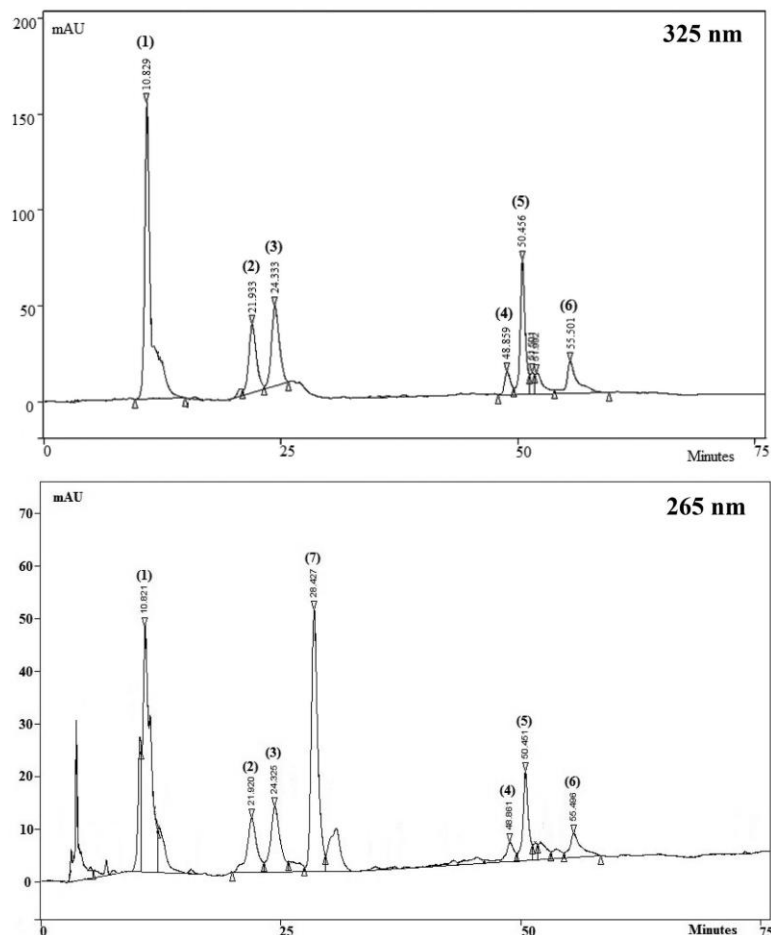
Extraction curves of caffeine (Figure 2A) and phenolic compounds (Figure 2B) were performed using a simulation of the traditional technique. The extraction curves obtained presented a pattern similar to that of other studies.<sup>26,32</sup> The

extraction curves of *chimarrão* presented higher phytochemical contents in the first extraction; later it decreased and remained with small variations until the 30th extraction. *Terere* show an increase in the phytochemical content in the second and third extractions, then it declines abruptly between the seventh and eighth extractions, which coincide with the average number of extractions evaluated by the consumption habits (Table 2) and decays gradually until the 30th extraction. The amount of the 30 extractions (Σ30) performed in the simulation of *chimarrão* yielded 6.3 mg of caffeine and 673.6 mg of total phenolic compounds and for *tereré* yielded 68.3 mg of caffeine and 1184.9 mg of total phenolic compounds (Table 3). The main phenolic compounds present in the extractions were also quantified. The monocaffeoylquinic (3-CQA, 4-CQA and 5-CQA) and dicaffeoylquinic (3,4-diCQA, 3,5-diCQA and 4,5-diCQA) acids identified in the extracts as described above were quantified in HPLC-DAD and expressed as CGA and the results presented in Table 3. The Σ(mono-CQAs) constitute about 38.4% for *chimarrão* and 55.3% for *tereré*, and the Σ(diCQAs) represents about 61.6 and 44.7% of the total phenolic compounds extracted, respectively. The Σ(mono and diCQAs) represented 87% of total phenolic in *tereré* and only 25% in *chimarrão*. We observe that particularities of the *chimarrão* extractive process, that will be discussed, have a high influence in the extractive capacity. These results demonstrated that *tereré* presents a higher extractive capacity than the *chimarrão* for both caffeine (Figure 2A) and phenolic compounds (Figure 2B). A small difference in the profile of phenolic compounds extracted was also observed, with a higher concentration of diCQAs in *chimarrão* and a higher concentration of CQAs in *tereré*.

The amount of the first eight extractions (Σ8) for *chimarrão* yielded 1.9 mg of caffeine and 245.2 mg of total phenolic compounds, respectively 30.5 and 36.4% of the total extractions (Σ30). The first eight extractions of *tereré* obtained 48.7 mg of caffeine and 859.2 mg of total phenolic compounds, respectively 71.3 and 72.5% of total (Table 3). The profile of phenolic compounds extracted in the first eight extractions (Σ8) was similar to the one presented previously, with a higher concentration of diCQAs in *chimarrão* and higher concentration of monoCQAs in *tereré*.

**Factors Influencing the Extracted Content of Phenolic Compounds.** Maté is a rich source of phenolic compounds, and different factors can modulate the qualitative and quantitative content of the extracted compounds.<sup>33</sup> Simulations of MTB preparation were performed to evaluate the influence of some factors involved, including temperature, contact time





**Figure 1.** Representative HPLC-DAD chromatogram of *I. paraguariensis* extracts (MTB), signal at 325 and 265 nm. Chromatographic conditions are specified in Materials and Methods. The indicated compounds are (1) 3-*O*-caffeoylquinic acid (3-CQA), (2) 5-*O*-caffeoylquinic acid (5-CQA), (3) 4-*O*-caffeoylquinic acid (4-CQA), (4) 3,4-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,4-diCQA), (5) 3,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (3,5-diCQA), (6) 4,5-di-*O*-caffeoylquinic acid (4,5-diCQA), and (7) caffeine.

maté/water, granulometry, and stem/leaf ratio in the extraction rate of total phenolic compounds. The results show the sum of six extractions ( $\Sigma 6$ ) in a similar way to the quantity defined in the habits of consumption. The conditions of 75 °C (temperature), 30 s (time), 60 mesh (granulometry), and 30/70 (stem/leaf ratio) for *chimarrão*, and 5 °C (temperature), 30 s (time), 30 mesh (granulometry), and 60/40 (stem/leaf ratio) for *tereré* were used as the standard extraction. The coefficient of correlation with the content of phenolic compounds was elevated for temperature and granulometry in both beverages (Table 4), while the time was of lowest correlation.

The granulometry, within a range of 10–60 mesh, was the factor of greatest impact on the extraction capacity of phenolic

compounds for both beverages, *chimarrão* (6.8–44.6 mg/100 mL) and *tereré* (4.0–21.4 mg/100 mL) when using the procedure of traditional consumption. The temperature was the other factor with the greatest influence on the extraction capacity of total phenolic compounds, *chimarrão* (32.7–54.0 mg/100 mL) and *tereré* (8.0–22.6 mg/100 mL) for a range of 5–100 °C. The extraction time and the stem/leaf ratio had less influence.

#### Daily Intake of Phenolic Compounds from MTBs.

*Chimarrão* and *tereré* are MTBs used as stimulants due to the presence of methylxanthines;<sup>34</sup> furthermore, maté is a source of CQAs and diCQAs which are the major constituents of the phenolic fraction. Other groups that comprise the phenolic

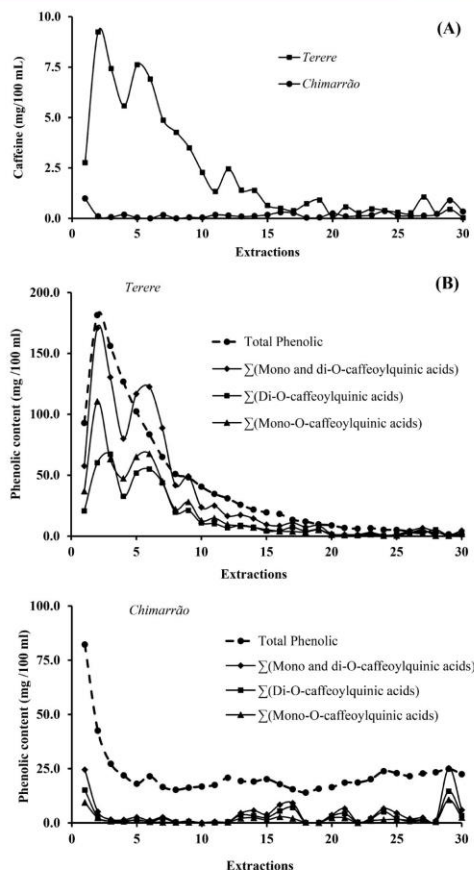
**Table 3. Amount of Caffeine and Phenolic Compounds Extracted from Maté Traditional Beverages**

beverage	compound	extraction (mg/100 mL)				
		1	2	3	$\Sigma 8$	$\Sigma 30$
<i>chimarrão</i>	caffeine	1.2	0.2	0.1	1.9	6.3
	$\Sigma$ (mono-CQAs)	12.1	3.2	0.8	20.6	65.6
	$\Sigma$ (di-CQAs)	18.8	3.9	0.5	29.5	105.3
	$\Sigma$ (mono- and di-CQAs)	30.9	7.1	1.3	50.2	170.9
	total phenolic	82.2	42.5	27.3	245.2	673.6
<i>tereré</i>	caffeine	2.8	9.2	7.4	48.7	68.3
	$\Sigma$ (mono-CQAs)	36.9	110.6	63.2	457.7	575.4
	$\Sigma$ (di-CQAs)	20.7	60.2	67.3	351.0	460.2
	$\Sigma$ (mono- and di-CQAs)	57.5	170.8	130.5	808.7	1,029.1
	total phenolic	92.9	181.4	156.1	859.2	1,184.9

fraction are dimeric caffeic acids, feruloylquinic acids, *p*-coumaroylquinic acids, and flavonoids.<sup>23,28</sup> The main phenolic compounds are mono- (3-CQA, 5-CQA, and 4-CQA) and dicaffeoylquinic acids (3,4-di-CQA, 3,5-di-CQA, and 4,5-diCQA).<sup>30</sup> The daily intake of phenolic compounds was calculated from the quantification of the compounds in the beverages and applying the data on the MTB consumption. The contents extracted from phenolic compounds were considered by other authors,<sup>26</sup> but our objective was to present an estimation of the daily intake of phenolic compounds from MTBs and to determine how these intakes can be influenced by factors related to the preparation of the beverages. The estimated intake of phenolic compounds for *chimarrão* consumers was 512.5–1708.5 mg/day, of which 38.8% refers to monoCQAs and 61.2% to diCQAs, and that for *tereré* consumers was 583.0–1779.7 mg/day, of which 55.3% refers to monoCQAs and 44.7% to di-CQAs. These results were obtained from the multiplication of the average volume per day (Table 2) by the total phenolic content ( $\Sigma 8$ ) (Table 3), and dividing by the number of people per consumption group, considering the collective habit for each beverage (3.1 people/group for *chimarrão* and 3.6 for *tereré*).

The concentrations of caffeine and phenolic compounds in *chimarrão* beverage were lower than those in *tereré*, and also lower than the results presented in previous studies.<sup>26</sup> For the preparation of *chimarrão*, it was observed that the product is not completely moistened with the extraction water. The small particle size of the product forms a barrier that hinders the passage of water and reduces the extraction capacity. Conversely, the *tereré* had larger particle size, and these were completely immersed in water, providing greater contact and consequently greater extractive capacity. The lower contents of total phenolics, CQAs, and diCQAs in *chimarrão* (Table 3) may be a result of this effect.

Although the *tereré* presents greater capacity of phenolic compounds extraction, the daily intake did not present any significant difference considering consumption habits. The average volume consumed per day of *chimarrão* is superior to that of *tereré*, because of the frequency of consumption. From this study it was possible to quantify the daily intake of phenolic compounds by consumers of MTBs, besides identifying which

**Figure 2.** (A) Caffeine content and (B) phenolic contents: total phenolic (●),  $\Sigma$ (mono- and dicaffeoylquinic acids) (◆),  $\Sigma$ (dicaffeoylquinic acids) (■), and  $\Sigma$ (monocaffeoylquinic acids) (▲) in the aqueous extracts of *chimarrão* and *tereré*.**Table 4. Correlation Coefficient of Factors That Influence Total Phenolic Content ( $\Sigma 6$ ) of MTB**

	temperature	time	granulometry	stem/leaf ratio
<i>chimarrão</i>	0.996	0.037	0.950	0.911
<i>tereré</i>	0.974	-0.161	0.952	0.829

compounds are predominant. Our results demonstrate that MTBs are important sources of CGAs, highlighting a small difference in the profile of mono- and dicaffeoylquinic acids between the two beverages.

Other stimulant beverages also contain phenolic compounds. For comparison purposes, the amount of the monoCQAs, diCQAs, and caffeine presents in different coffees varies from 135.1 to 187.2 mg/100 mL, 8.3 to 11 mg/100 mL, and 48.2 to 57.7 mg/100 mL, respectively.<sup>35</sup> Considering that the extracted amount ( $\Sigma 30$ ) of the compounds *chimarrão* can provide 65.6,

105.3, and 6.3 mg/100 mL, and *tereré* 575.4, 460.2, and 68.3 mg/100 mL, significant difference is observed in the phytochemical content between the beverages. From the values obtained from the extractions, and considering the consumption habits, it is possible to infer that the MTBs can provide a higher content of phenolic compounds, with greater importance of the CGAs and specifically higher contribution of diCQAs. *Tereré* beverage presents a higher extraction capacity than *chimarrão* for both phenolic compounds and methylxanthines. As expected, the first extractions are more concentrated than the final ones. It has also been noted that *chimarrão* has a higher concentration of diCQAs and *tereré* has more monoCQAs.

An aspect to be considered is that the experimental approach used here is not conclusive as to the amount of compounds made available to consumers. Intervention studies are indicated to evaluate the bioavailability and bioactivity of the components after drinking beverages. Further research is needed to verify the bioavailability of mono- and dicaffeoylquinic compounds from the raw material used in MTB. The bioavailability has recently been evaluated in animals,<sup>36</sup> but human studies are still necessary to strengthen existing knowledge on the efficiency of these compounds from maté consumption in the maintenance of health, especially in the prevention of CVD. However, after our evaluation, we have a closer estimate of the daily intake of CGAs available to the MTB consumers.

The beneficial biological effects of CGAs have already been reported, and it is therefore relevant to investigate whether the extracted amount of these compounds in MTB contributes to a cardiovascular protective activity in the concentrations normally consumed. Our objective was to evaluate the daily intakes of phenolic compounds; however, it is known that only small amounts of these compounds are absorbed.<sup>37,38</sup> It is also necessary to evaluate the participation of the metabolic processes and the gut flora in the transformation of these compounds before reaching the tissues. The presence of considerable amounts of diCQAs makes the MTBs as single sources, unlike other beverages where CGAs predominate.

#### AUTHOR INFORMATION

##### Corresponding Author

\*Tel./Fax: +55 (45) 3277.8500. E-mail: euclideslc@prof.unipar.br.

##### ORCID

Euclides Lara Cardozo-Junior: 0000-0002-8390-4181

##### Notes

The authors declare no competing financial interest.

#### ACKNOWLEDGMENTS

We are grateful to the Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq-Brazil), Universidade Paranaense (UNIPAR), and Universidade Federal da Grande Dourados (UFGD).

#### ABBREVIATIONS USED

API, atmospheric pressure ionization; b.m.w., Brazilian minimum wage; CQA, caffeoylquinic acid; CGA, chlorogenic acid; CVD, cardiovascular disease; ESI, electrospray ionization interface; HCD, high-energy collision dissociation; HPLC-DAD, high-performance liquid chromatography coupled with diode array detection; HR-MS, high-resolution mass spectrometry; LC-MS, liquid chromatography–mass spectrometry;

MTB, maté traditional beverage; *m/z*, mass-to-charge ratio; TIC, total ion current; UPLC, ultraperformance liquid chromatography; UV, ultraviolet;  $\Sigma$ (mono-CQAs), sum of monocaffeoylquinic acids (3-CQA, 5-CQA, and 4-CQA);  $\Sigma$ (di-CQAs), sum of dicaffeoylquinic acids (3,4-diCQA, 3,5-diCQA, and 4,5-diCQA);  $\Sigma$ (mono- and di-CQAs), sum of mono- and dicaffeoylquinic acids;  $\Sigma_6$ , sum of the first six extractions in laboratory simulation;  $\Sigma_8$ , sum of the first eight extractions in MTB;  $\Sigma_{30}$ , sum of 30 extractions in MTB

#### REFERENCES

- Manach, C.; Scalbert, A.; Morand, C.; Rémésy, C.; Jiménez, L. Polyphenols: food sources and bioavailability. *Am. J. Clin. Nutr.* **2004**, *79* (5), 727–47.
- Quiñones, M.; Miguel, M.; Alexandre, A. Beneficial effects of polyphenols on cardiovascular disease. *Pharmacol. Res.* **2013**, *68* (1), 125–31.
- Navab, M.; Ananthramiah, G. M.; Reddy, S. T.; Van Lenten, B. J.; Ansell, B. J.; Fonarow, G. C.; Vahabzadeh, K.; Hama, S.; Hough, G.; Kamranpour, N.; Berliner, J. A.; Lusis, A. J.; Fogelman, A. M. The oxidation hypothesis of atherogenesis: the role of oxidized phospholipids and HDL. *J. Lipid Res.* **2004**, *45* (6), 993–1007.
- Cardozo Junior, E. L.; Morand, C. Interest of maté (*Ilex paraguariensis* A. St-Hil.) as a new natural functional food to preserve human cardiovascular health – A review. *J. Funct. Foods* **2016**, *21*, 440–454.
- Anesini, C.; Turner, S.; Cogoi, L.; Filip, R. Study of the participation of caffeine and polyphenols on the overall antioxidant activity of maté (*Ilex paraguariensis*). *LWT – Food Sci. Technol.* **2012**, *45*, 299–304.
- Balzan, S.; Hernandez, A.; Reichert, C. L.; Donaduzzi, C. M.; Pires, V. A.; Gasparotto, A., Jr.; Cardozo, E. L., Jr. Lipid-lowering effects of standardized extracts of *Ilex paraguariensis* in high-fat-diet rats. *Fitoterapia* **2013**, *86*, 115–122.
- Mosimann, A. L.; Wilhelm-Filho, D.; da Silva, E. L. Aqueous extract of *Ilex paraguariensis* attenuates the progression of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *BioFactors* **2006**, *26* (1), 59–70.
- da Silva, E. L.; Neiva, T. J. C.; Shirai, M.; Terao, J.; Abdalla, D. S. P. Acute ingestion of yerba mate infusion (*Ilex paraguariensis*) inhibits plasma and lipoprotein oxidation. *Food Res. Int.* **2008**, *41*, 973–979.
- Schinella, G.; Fantinelli, J. C.; Tournier, H.; Prieto, J. M.; Spegazzini, E.; Debenedetti, S.; Mosca, S. M. Antioxidant and cardioprotective effects of *Ilex brasiliensis*: A comparative study with *Ilex paraguariensis* (yerba mate). *Food Res. Int.* **2009**, *42*, 1403–1409.
- Andersen, T.; Fogh, J. Weight loss and delayed gastric emptying following a South American herbal preparation in overweight patients. *J. Hum. Nutr. Diet.* **2001**, *14* (3), 243–50.
- Opala, T.; Rzymyski, P.; Pischel, I.; Wilczak, M.; Wozniak, J. Efficacy of 12 weeks supplementation of a botanical extract-based weight loss formula on body weight, body composition and blood chemistry in healthy, overweight subjects—a randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Eur. J. Med. Res.* **2006**, *11* (8), 343–50.
- Kim, S. Y.; Oh, M. R.; Kim, M. G.; Chae, H. J.; Chae, S. W. Anti-obesity effects of Yerba Mate (*Ilex Paraguariensis*): a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *BMC Complementary Altern. Med.* **2015**, *15*, 338.
- Conceição, E. P.; Kaezer, A. R.; Peixoto-Silva, N.; Felzenszwalb, I.; de Oliveira, E.; Moura, E. G.; Lisboa, P. C. Effects of *Ilex paraguariensis* (yerba mate) on the hypothalamic signalling of insulin and leptin and liver dysfunction in adult rats overfed during lactation. *J. Dev. Origins Health Dis.* **2017**, *8* (1), 123–132.
- González Arbeláez, L. F.; Fantinelli, J. C.; Ciocci Pardo, A.; Caldiz, C. I.; Ríos, J. L.; Schinella, G. R.; Mosca, S. M. Effect of an *Ilex paraguariensis* (yerba mate) extract on infarct size in isolated rat hearts: the mechanisms involved. *Food Funct.* **2016**, *7* (2), 816–24.
- Portela, J. L.; Soares, D.; Rosa, H.; Roos, D. H.; Pinton, S.; Ávila, D. S.; Puntel, R. L. *Ilex paraguariensis* crude extract acts on protection

- and reversion from damage induced by t-butyl hydroperoxide in human erythrocytes: a comparative study with isolated caffeic and/or chlorogenic acids. *J. Sci. Food Agric.* **2017**, *97*, 2007.
- (16) Muñoz-Culla, M.; Sáenz-Cuesta, M.; Guereca-Barandiaran, M. J.; Ribeiro, M. L.; Otaegui, D. Yerba mate (*Ilex paraguariensis*) inhibits lymphocyte activation in vitro. *Food Funct.* **2016**, *7* (11), 4556–4563.
- (17) Luz, A. B.; da Silva, C. H.; Nascimento, M. V.; de Campos Facchin, B. M.; Baratto, B.; Fröde, T. S.; Reginatto, F. H.; Dalmarco, E. M. The anti-inflammatory effect of *Ilex paraguariensis* A. St. Hil (Mate) in a murine model of pleurisy. *Int. Immunopharmacol.* **2016**, *36*, 165–72.
- (18) Dartora, N.; de Souza, L. M.; Santana-Filho, A. P.; Iacomini, M.; Valduga, A. T.; Gorin, P. A. J.; Sasaki, G. L. UPLC-PDA-MS evaluation of bioactive compounds from leaves of *Ilex paraguariensis* with different growth conditions, treatments and ageing. *Food Chem.* **2011**, *129*, 1453–1461.
- (19) de Souza, L. M.; Dartora, N.; Scoparo, C. T.; Cipriani, T. R.; Gorin, P. A. J.; Iacomini, M.; Sasaki, G. L. Comprehensive analysis of mate (*Ilex paraguariensis*) compounds: Development of chemical strategies for matesaponin analysis by mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 7307–7315.
- (20) Clifford, M.; Johnston, K.; Knight, S.; Kuhnert, N. Hierarchical scheme for LC-MS<sup>n</sup> identification of chlorogenic acids. *J. Agric. Food Chem.* **2003**, *51*, 2900–2911.
- (21) Abrankó, L.; Clifford, M. N. An Unambiguous Nomenclature for the Acyl-quinic Acids Commonly Known as Chlorogenic Acids. *J. Agric. Food Chem.* **2017**, *65* (18), 3602–3608.
- (22) Blum-Silva, C. H.; Luz, A. B.; Nascimento, M. V.; de Campos Facchin, B. M.; Baratto, B.; Fröde, T. S.; Sandjo, L. P.; Dalmarco, E. M.; Reginatto, F. H. Qualitative and quantitative analysis data of the major constituents of *Ilex paraguariensis* leaves by UPLC-PDA and QTOF-MS. *Data Brief* **2016**, *8*, 295–9.
- (23) Bravo, L.; Goya, L.; Lecumberri, E. LC/MS characterization of phenolic constituents of mate (*Ilex paraguariensis*, St. Hil.) and its antioxidant activity compared to commonly consumed beverages. *Food Res. Int.* **2007**, *40*, 393–405.
- (24) Stalmach, A.; Williamson, G.; Crozier, A. Impact of dose on the bioavailability of coffee chlorogenic acids in humans. *Food Funct.* **2014**, *5* (8), 1727–37.
- (25) Bracesco, N.; Sanchez, A. G.; Contreras, V.; Menini, T.; Gugliucci, A. Recent advances on *Ilex paraguariensis* research: minireview. *J. Ethnopharmacol.* **2011**, *136* (3), 378–84.
- (26) Meinhart, A. D.; Bizzotto, C. S.; Ballus, C. A.; Poloni Rybka, A. C.; Sobrinho, M. R.; Cerro-Quintana, R. S.; Teixeira-Filho, J.; Godoy, H. T. Methylxanthines and phenolics content extracted during the consumption of mate (*Ilex paraguariensis* St. Hil) beverages. *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58* (4), 2188–93.
- (27) European Pharmacopeia Commission. *European Pharmacopeia*, 7th ed.; Council Of Europe: Strasbourg, 2017; Vol. 1, p 1297.
- (28) da Silveira, T. F. F.; Meinhart, A. D.; de Souza, T. C. L.; Teixeira Filho, J.; Godoy, H. T. Phenolic compounds from yerba mate based beverages – A multivariate optimization. *Food Chem.* **2016**, *190* (0), 1159–1167.
- (29) Dugo, P.; Cacciola, F.; Donato, P.; Jacques, R. A.; Caramão, E. B.; Mondello, L. High efficiency liquid chromatography techniques coupled to mass spectrometry for the characterization of mate extracts. *J. Chromatogr. A* **2009**, *1216*, 7213–7221.
- (30) Souza, L. M. D.; Dartora, N.; Scoparo, C. T.; Cipriani, T. R.; Gorin, P. A. J.; Iacomini, M.; Sasaki, G. L. Comprehensive analysis of mate (*Ilex paraguariensis*) compounds: Development of chemical strategies for matesaponin analysis by mass spectrometry. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 7307–7315.
- (31) Jaiswal, R.; Sovdat, T.; Vivan, F.; Kuhnert, N. Profiling and characterization by LC-MS<sup>n</sup> of the chlorogenic acids and hydroxycinnamoylshikimate esters in mate (*Ilex paraguariensis*). *J. Agric. Food Chem.* **2010**, *58* (9), 5471–5484.
- (32) Colpo, A. C.; Rosa, H.; Lima, M. E.; Pazzini, C. E.; de Camargo, V. B.; Bassante, F. E.; Puntel, R.; Ávila, D. S.; Mendez, A.; Folmer, V. Yerba mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill.)-based beverages: How successive extraction influences the extract composition and its capacity to chelate iron and scavenge free radicals. *Food Chem.* **2016**, *209*, 185–95.
- (33) Lima, J. e. P.; Farah, A.; King, B.; de Paulis, T.; Martin, P. R. Distribution of Major Chlorogenic Acids and Related Compounds in Brazilian Green and Toasted *Ilex paraguariensis* (Maté) Leaves. *J. Agric. Food Chem.* **2016**, *64* (11), 2361–70.
- (34) Heck, C. I.; de Mejia, E. G. Yerba Mate Tea (*Ilex paraguariensis*): a comprehensive review on chemistry, health implications, and technological considerations. *J. Food Sci.* **2007**, *72* (9), R138–51.
- (35) Jeon, J. S.; Kim, H. T.; Jeong, I. H.; Hong, S. R.; Oh, M. S.; Park, K. H.; Shim, J. H.; Abd El-Aty, A. M. Determination of chlorogenic acids and caffeine in homemade brewed coffee prepared under various conditions. *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.* **2017**, *1064*, 115–123.
- (36) de Oliveira, D. M.; Sampaio, G. R.; Pinto, C. B.; Catharino, R. R.; Bastos, D. H. Bioavailability of chlorogenic acids in rats after acute ingestion of maté tea (*Ilex paraguariensis*) or 5-caffeoylquinic acid. *Eur. J. Nutr.* **2016**, DOI: 10.1007/s00394-016-1290-1.
- (37) Monteiro, M.; Farah, A.; Perrone, D.; Trugo, L. C.; Donangelo, C. Chlorogenic acid compounds from coffee are differentially absorbed and metabolized in humans. *J. Nutr.* **2007**, *137* (10), 2196–201.
- (38) Farah, A.; Monteiro, M.; Donangelo, C. M.; Lafay, S. Chlorogenic acids from green coffee extract are highly bioavailable in humans. *J. Nutr.* **2008**, *138* (12), 2309–2315.



A pedido da autora o Apêndice 5.2, a Conclusão e os Anexos foram retirados do pdf.