

FABIANA AMARAL ARAÚJO

**Ação da Morina sobre Coelhos Normais e
Diabéticos: Parâmetros Metabólicos e
Morfologia Pancreática**

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2002

FABIANA AMARAL ARAÚJO

**Ação da Morina sobre Coelhos Normais e
Diabéticos: Parâmetros Metabólicos e
Morfologia Pancreática**

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Agroquímica para obtenção do
título de “Magister Scientiae”.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2002

FABIANA AMARAL ARAÚJO

Ação da Morina sobre Coelhos Normais e Diabéticos: Parâmetros Metabólicos e Morfologia Pancreática

Tese apresentada à
Universidade Federal de Viçosa
como parte das exigências do
Programa de Pós-graduação em
Agroquímica para obtenção do
título de “Magister Scientiae”.

Aprovada: 26 de fevereiro de 2002.

Profº Dr. Tanus Jorge Nagem
(Conselheiro)

Profº Dr. Sérgio Luís P. da Matta
(Conselheiro)

Profº Dr. Luís C. G. de Miranda

Profª Drª . Izabel R. dos S. C. Maldonado

Profª Drª . Tânia Toledo de Oliveira
(Orientadora)

“Sábio é aquele que conhece os limites da própria ignorância.”

Sócrates

Tudo que nos acontece traz experiência ou desenvolve alguma qualidade que nos faltava.

AGRADECIMENTOS

A Deus que ilumina meu caminho e me fortalece a cada etapa da minha vida.

Aos meus pais pelo amor, pelo apoio, pelo carinho, pelo encorajamento, pelo exemplo de vida e pelos ensinamentos passados.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Química pela oportunidade de aprimoramento profissional.

À Fundação de Amparo à Pesquisa de Minas Gerais (FAPEMIG) pela concessão de bolsa de estudo.

À professora Tânia Toledo de Oliveira pela cessão do laboratório e equipamentos e pela disponibilidade em orientar.

Ao professor Tanus Jorge Nagem pelas sugestões, pela cessão de espaço no Laboratório de Biofármacos e pelo fornecimento de reagentes.

Ao professor Sérgio Luís P. da Matta pela dedicação, pela amizade, pela compreensão, pelas sugestões, pelo reconhecimento, pelos ensinamentos na condução do estudo histológico, pela cessão de espaço no Laboratório de Biologia Estrutural e pela contribuição de reagentes.

À professora Izabel Regina dos Santos Costa Maldonado pela disponibilidade, atenção, amizade, reconhecimento e pelas sugestões.

Ao professor Luiz Carlos Guedes de Miranda pela disponibilidade e pelas sugestões.

Aos colegas do Laboratório de Biofármacos Leonardo Ramos Paez de Lima, Selma Coelho Liberato, Renato Matos Lopes, Alexandre Couto Tsiomis, Willian Moreira, Renata Marques Araújo Domingos, Elisabete Bessa dos Santos, Fabiana Carvalho Rodrigues, Luís Roberto Amaral Miragaia, Juliano V. Peixoto, Daniele Cabrini, Luciana Marques Cardoso, Cíntia Maria Chagas do Nascimento, Eliana Carla Gomes de Souza pela colaboração durante o ensaio biológico.

Ao técnico do Laboratório de Biofármacos José Geraldo Pinto pela colaboração nas análises bioquímicas e pela amizade.

À técnica do Laboratório de Biologia Estrutural Cléa Venceslau A. Domingos pela ajuda e pela amizade.

Aos professores e colegas do Laboratório de Biologia Estrutural pela amizade.

Ao Sr. José Francisco da Silva (Juquinha), professor do Setor de Cunicultura da Universidade Federal de Viçosa, pelo fornecimento dos animais experimentais, pela atenção e amizade.

Aos meus irmãos Marcelo Amaral Araújo e Adriana Cristina Araújo, à minha cunhada Margarida Maria Moreira Amaral e minha sobrinha Marcela Cristina Moreira Araújo pelo carinho e companheirismo.

Aos colegas Simone de Fátima Viana, profº Aloísio da Silva Pinto, Frederico Fortunato da Silva, Alexsandro Araújo da Silva, Nair Bizão, Maira Carvalho pelo companheirismo e incentivo nos momentos de estudo e também pela amizade.

Aos colegas Cristiano, Fábio, Luciano, Paulo e Giordani pela amizade e pelos momentos agradáveis durante nossos encontros nas apresentações de seminários.

Ao professor César Reis, coordenador da pós-graduação em Agroquímica, pela dedicação e seriedade com que desempenha suas funções e também pela gentileza com que sempre atendeu aos estudantes.

À Marisa Imaculada Vieira Ferreira, secretária da Agroquímica, pela gentileza, atenção e amizade com que sempre recebe a todos.

Aos amigos de Viçosa pelos momentos de alegria, pelo apoio nos momentos difíceis e pelo carinho.

BIOGRAFIA

FABIANA AMARAL ARAÚJO, filha de Antonio Gomes Araújo e Antonietta Maria Amaral Araújo, nasceu em Barbacena - MG.

Em agosto de 1999 graduou-se em Nutrição pela Universidade Federal de Viçosa e iniciou o curso de Mestrado em Agroquímica na mesma instituição em fevereiro de 2000. Durante este curso atuou como monitora na disciplina Laboratório de Bioquímica.

Em fevereiro de 2002 cumpriu todos os requisitos necessários para obtenção do título de “Magister Scientiae” com a defesa de tese.

ÍNDICE

	Pág.
LISTA DE QUADROS.....	viii
LISTA DE FIGURAS.....	ix
RESUMO.....	x
ABSTRACT.....	xii
1.INTRODUÇÃO.....	01
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	03
2.1 Perfil epidemiológico e repercussão socioeconômica do diabetes mellitus.....	03
2.2 Diabetes mellitus.....	06
2.3 Indução de diabetes mellitus em animais experimentais.....	08
2.4 Opções terapêuticas para o diabetes mellitus.....	09
2.5 Flavonóides.....	14
2.5.1 Fontes de flavonóides.....	16
2.5.2 Absorção e metabolismo de flavonóides.....	18
2.5.3 Atividades biológicas e propriedades farmacológicas dos flavonóides.....	20
2.6 Histologia do pâncreas.....	30
2.7 Síntese de insulina.....	33
2.8 Secreção de insulina.....	34
2.9 Ação da insulina.....	35
2.10 Metabolismo de carboidratos.....	36
2.11 Degradação de insulina.....	38
2.12 Regulação metabólica.....	39
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
3.1 Origem e manutenção dos animais.....	42
3.2 Modelo experimental do ensaio biológico.....	43
3.3 Dosagens dos parâmetros bioquímicos.....	44
3.3.1 Glicose.....	44
3.3.2 Colesterol.....	45
3.3.3 Triglicerídeos.....	45
3.3.4 Albumina.....	46
3.3.5 Creatinina.....	46
3.4 Análises histológicas.....	47
4. RESULTADOS BIOQUÍMICOS.....	48

4.1 Glicose.....	48
4.2 Colesterol.....	51
4.3 Triglicerídeos.....	54
4.4 Albumina.....	57
4.5 Creatinina.....	60
4.6 Peso.....	63
5. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS BIOQUÍMICOS.....	64
5.1 Glicose.....	64
5.2 Colesterol.....	67
5.3 Triglicerídeos.....	71
5.4 Albumina.....	73
5.5 Creatinina.....	75
5.6 Peso.....	77
6. RESULTADOS HISTOLÓGICOS.....	78
7.CONCLUSÕES.....	80
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	81

Lista de Quadros

	Pág.
01.Classificação, exemplos e ocorrência de flavonóides	15
02.Glicose (mg/dL) de coelhos, normais ou diabéticos, tratados com morina durante 30 dias.....	49
03.Glicose (mg/dL) de coelhas, normais ou diabéticas, tratadas com morina durante 30 dias.....	50
04.Colesterol (mg/dL) de coelhos, normais ou diabéticos, tratados com morina durante 30 dias.....	52
05.Colesterol (mg/dL) de coelhas, normais ou diabéticas, tratadas com morina durante 30 dias.....	53
06.Triglicerídeos (mg/dL) de coelhos, normais ou diabéticos, tratados com morina durante 30 dias.....	55
07.Triglicerídeos (mg/dL) de coelhas, normais ou diabéticas, tratadas com morina durante 30 dias.....	56
08.Albumina (mg/dL) de coelhos, normais ou diabéticos, tratados com morina durante 30 dias.....	58
09.Albumina (mg/dL) de coelhas, normais ou diabéticas, tratadas com morina durante 30 dias.....	59
10.Creatinina (mg/dL) de coelhos, normais ou diabéticos, tratados com morina durante 30 dias.....	61
11.Creatinina (mg/dL) de coelhas, normais ou diabéticas, tratadas com morina durante 30 dias.....	62

Lista de Figuras

	Pág.
01.Estrutura básica dos flavonóides.....	15
02.Estrutura básica da morina.....	17
03.Variação de glicemia em coelhos normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias.....	49
04.Variação de glicemia em coelhas normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias.....	51
05.Variação do nível sérico de colesterol de coelhos normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias.....	52
06.Variação do nível sérico de colesterol de coelhas normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias.....	54
07.Variação do nível sérico de triglicerídeos de coelhos normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias.....	55
08.Variação do nível sérico de triglicerídeos coelhas normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias.....	57
09.Variação do nível sérico de albumina de coelhos normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias.....	58
10.Variação do nível sérico de albumina de coelhas normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias.....	60
11.Variação do nível sérico de creatinina de coelhos normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias.....	
12.Variação do nível sérico de creatinina de coelhas normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias.....	62
13.Peso de coelhos submetidos a diferentes dietas, em função do tempo.....	63

RESUMO

ARAÚJO, Fabiana Amaral, MS, Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2002. **Ação da morina sobre coelhos normais e diabéticos: parâmetros metabólicos e morfologia pancreática.** Orientadora: Prof^a Tânia Toledo Oliveira. Conselheiros: Prof^o Sérgio Luís P. da Matta e Prof^o Tanus Jorge Nagem.

O efeito do flavonóide morina foi testado sobre o peso corporal e os constituintes sangüíneos de coelhos normais e diabéticos durante o período de 30 dias. Foram utilizados 24 coelhos da raça Nova Zelândia, sendo 12 animais de cada sexo, distribuídos de forma casualizada em seis grupos experimentais (grupo controle T0, grupo controle diabético T0, grupo controle T30, grupo normal tratado T30, grupo controle diabético T30 e grupo diabético tratado T30). O diabetes mellitus foi induzido nos animais experimentais através de injeção intravenosa de aloxano na dose de 100 mg/kg de peso corporal. Para se evitar a hipoglicemia, decorrente do rompimento das células β e liberação de insulina, foram feitas aplicações de 10mL de solução de glicose 50% p/v, via intraperitonal, após 4, 8 e 12 horas do início da indução. Após a indução de diabetes mellitus aguardou-se um período de seis dias para o desenvolvimento da doença. Amostras de sangue foram coletadas através da incisão no plexo venoso retro orbital do olho utilizando-se a extremidade aguda de um tubo capilar. As determinações do peso e dos níveis séricos de glicose, colesterol total, triglicerídeos, albumina e creatinina foram feitas após 30 dias de tratamento. Os animais que tiveram glicemia acima de 180 mg/dL foram considerados diabéticos. Animais dos grupos controle tratado e diabético tratado receberam, diariamente uma cápsula de 5mg do flavonóide morina. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos aplicados nem para os animais normais nem para os diabéticos. Ao final do ensaio

biológico os animais foram sacrificados e foi coletado o pâncreas de dois espécimes de cada grupo com objetivo de verificar o efeito diabetogênico do aloxano e o efeito regenerador da morina sobre as células β pancreáticas através de estudo histológico. Não foram observadas diferenças significativas entre os tratamentos aplicados aos coelhos normais nem aos diabéticos. Pela análise histológica foi comprovada a eficácia do aloxano na indução do diabetes mellitus, pela ausência de células β nas ilhotas pancreáticas de animais tratados e não tratados e que a morina não teve efeito regenerador sobre essas células pancreáticas na dose e no tempo empregados no experimento.

ABSTRACT

ARAÚJO, Fabiana Amaral, MS, Universidade Federal de Viçosa, February of 2002. **Action of morin on normal and diabetic rabbits: metabolic parameters and pancreatic morphology.** Adviser: Tânia Toledo Oliveira. Committee members: Sérgio Luís P. da Matta e Tanus Jorge Nagem.

The effect of the morin flavonoid on the body weight and blood constituents of normal and diabetic rabbits was tested for the period of thirty days. Twenty-four rabbits of the New Zealand breed were used; there were twelve males and twelve females, randomly distributed into six experimental groups (control group T0, diabetic control group T0, control group T30, diabetic control group T30, healthy treated group, and diabetic treated group). The diabetes mellitus was induced to the experiment animals through an alloxan intravenous injection, with the dosage of 100 mg/kg of body weight. In order to avoid hypoglycemia resulting from the breaking of the β -cells and liberation of insulin, dosages of 10mL of glucose solution 50% p/v were applied intraperitoneal, 4, 8 and 12 hours after the beginning of the diabetes mellitus induction. After the induction of the diabetes mellitus, it was necessary to wait for six days, until the disease developed. Blood samples were collected through the incision in the eye venous plexus retro orbital, using the sharp edge of a capillary tube. The measurements of body weight and plasma levels of glucose, total cholesterol, triacylglycerol, albumin and creatinin occurred after 30 days of treatment. The animals that presented a glycaemia level higher than 180mg/dL were considered diabetics. The animals in the treated control and treated diabetic groups received a 5 mg capsule of flavonoid morin every day. Significant differences were not observed among the treatments applied, neither

for the normal animals nor for the diabetic animals. At the end of the biological experiment, the animals were sacrificed and the pancreas of two animals of each group were collected in order to observe the diabetogenic effect of the alloxano and the regeneration effect of the morin on the pancreatic β -cells, through a morphological study. Significant differences were not observed between the treatments applied to the normal rabbits and to the diabetic rabbits. Through the histological analysis, the efficiency of the alloxano in induction of the diabetes mellitus was verified, through the absence of β -cells in the pancreatic islets. It was also noticed that the morin had no regeneration effect on those pancreatic cells if the dose and the time applied in the experiment are used.

1 – INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus é uma síndrome conhecida desde a antigüidade quando já se observavam e registravam os principais sintomas clínicos (LIMA e SABAA-SRUR, 1999). Nos países em desenvolvimento, particularmente nos industrializados, há evidências de que o diabetes está adquirindo características epidêmicas e deverá constituir-se em um dos problemas de saúde pública de maior prevalência no século XXI (FRANCO, 1998, ARAÚJO, 1999).

O aumento do número de casos da doença é decorrente de fatores como maiores taxas de urbanização, industrialização, sedentarismo, aumento de peso e à maior sobrevida dos diabéticos (FRANCO, 1998). Em 1997, a OMS (Organização Mundial de Saúde) registrou 142,5 milhões de casos de diabetes no mundo (PAZ et al., 2000). A Federação Internacional de Diabetes avalia que atualmente a doença atinge 150 milhões de pessoas no mundo (ZACHÉ, 2001).

De acordo com DALL'AGNOL et al. (2000), diabetes mellitus é uma desordem metabólica crônica freqüente que envolve o metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas e caracteriza-se por hiperglicemia e glicosúria. A diminuição na produção de insulina ou da sensibilidade das células-alvo a este hormônio provoca o diabetes mellitus (BARRANCO, 1998).

Vários estudos têm demonstrado a utilização de plantas medicinais no controle do diabetes mellitus em diversos países. As propriedades antidiabéticas, empiricamente atribuídas a diversas plantas, têm incentivado o desenvolvimento de estudos destinados ao isolamento, purificação, identificação e pesquisas dos mecanismos de ação das substâncias responsáveis pela atividade hipoglicemiante (RAMOS et al., 1995). Mais de 400 espécies vegetais têm sido citadas devido ao seu efeito terapêutico sobre o diabetes (GRAY e FLATT, 1999).

Dentre os princípios ativos com propriedades antidiabéticas encontramos os glicosídeos, polissacarídeos, peptídeos e aminoácidos, proteínas, óleos, esteróides, terpenóides, alcalóides, flavonóides, triterpenos, vitaminas e saponinas (IVORRA et al., 1989). A administração de 3mg/12 horas de miricetina a ratos diabéticos causou uma redução de 50% da glicemia (KIAN e KHOO, 2000).

Este trabalho teve como objetivo principal avaliar o efeito do flavonóide morina, um hidroxiflavonol, sobre o metabolismo de coelhos normais e diabéticos induzidos na tentativa de encontrar uma ação terapêutica deste flavonol na prevenção e controle do diabetes mellitus. Adicionalmente, este estudo teve como objetivo verificar o efeito diabetogênico do aloxano e o efeito regenerador da morina sobre as células β do pâncreas.

2 - REVISÃO DE LITERATURA

2.1 - Perfil Epidemiológico e Repercussão Socioeconômica do Diabetes Mellitus

O processo de transição de uma sociedade tradicional para uma sociedade moderna, caracterizada pela evolução da medicina e pelo advento da antibioticoterapia, foi acompanhado de uma redução na morbidade e mortalidade por doenças infecciosas, passando a predominar doenças crônicas não transmissíveis como o diabetes mellitus, a hipertensão e doenças cardiovasculares (MONTEIRO, 1990).

A transição demográfica e epidemiológica que tem ocorrido nas últimas décadas no Brasil, coloca o cuidado a pacientes com doenças crônicas em grau de prioridade, ao lado da atenção materno-infantil (ARAÚJO, 1999).

No contexto contemporâneo, os determinantes destas modificações nos padrões de morbimortalidade nas sociedades menos desenvolvidas, estão relacionados à incorporação de novas tecnologias (MONTEIRO, 1990). A etiologia das doenças crônicas não transmissíveis está diretamente ligada a fatores inerentes ao processo de industrialização e modernização, bem como ao estilo de vida do homem que o conduz a fatores de riscos característicos dessas doenças como o tabagismo, o alcoolismo, o estresse, o sedentarismo, o uso de contraceptivos e dieta inadequada, dentre outros (MONTEIRO et al, 1995). Estes fatores têm um efeito não apenas aditivo mas potencializador entre si (NEUMANN, 2000).

A incidência e a prevalência do diabetes mellitus vêm aumentando em várias populações, tendo se tornado uma das doenças crônicas mais relevantes em todo mundo (ARAÚJO, 1999) atingindo grande número de pessoas de condição social variada (ASSUNÇÃO, 2001). Sua importância vem crescendo em decorrência de vários fatores como maiores taxas de urbanização, industrialização, sedentarismo, aumento de peso e à maior sobrevivência dos diabéticos (FRANCO, 1998). Em 1997, a OMS (Organização Mundial de Saúde) registrou 142,5 milhões de casos de diabetes no mundo (PAZ et al., 2000). A Federação Internacional de Diabetes avalia que atualmente a doença atinge 150 milhões de pessoas no mundo (ZACHÉ, 2001).

Estima-se que no Brasil existam mais de 5 milhões de diabéticos, dos quais metade desconhece o diagnóstico (CONSENSO, 1997). No Brasil, estudo multi-cêntrico ("Censo" de Diabetes, realizado em 1988 em nove capitais) encontrou uma prevalência de diabetes mellitus de 7,6% entre pessoas de 30 a 69 anos de idade, magnitude semelhante à de países desenvolvidos (CONSENSO, 1997, ARAÚJO, 1999). A doença acomete igualmente homens e mulheres e aumenta de modo considerável com a idade (CONSENSO, 1997). LUCÍRIO e WUSTHOF (2000) estimam que acima dos 60 anos de idade, cerca de 17% da população se torna diabética.

O diabetes mellitus implica em altos índices de morbidade e mortalidade. No Brasil ocorrem 24.000 mortes/ano em decorrência desta doença (ALFENAS et al., 2000) sendo a quarta causa de morte no país. No estado de São Paulo, na população acima de 40 anos, a frequência da menção de diabetes mellitus nos atestados de óbito entre as mulheres é superada apenas pelas doenças cardiovasculares e, entre os homens, pelas doenças cardiovasculares e mortes violentas. Diabetes mellitus é a segunda doença crônica mais comum na infância e adolescência. (CONSENSO, 1997).

Juntamente com as doenças cardiovasculares, neoplasias malignas e causas externas, o diabetes está entre os quatro mais importantes problemas de saúde, em termos de número de pessoas afetadas, pela considerável morbidade associada à sua presença, pelos custos envolvidos em seu controle e no tratamento de suas complicações, pelas incapacitações que produz e pelo número de anos de vida perdidos em decorrência de mortalidade prematura (FRANCO, 1998). Além do período de vida ser encurtado, a qualidade de vida das pessoas com diabetes mellitus e a de suas famílias sofre profundo impacto. ALMEIDA (1997) cita que é grande o absenteísmo entre os diabéticos. Esta atitude poderia ser evitada com o maior controle do diabetes mellitus.

De acordo com a Declaração das Américas sobre Diabetes – IDF/OPAS/OMS, o diabetes mellitus, especialmente quando mal controlado, representa um considerável encargo econômico para o indivíduo e a sociedade. A maior parte dos custos diretos do tratamento do diabetes mellitus relaciona-se com suas complicações, que muitas vezes podem ser reduzidas, retardadas ou evitadas. Dependendo do país, as estimativas disponíveis indicam que o diabetes mellitus pode representar de 5% a 14% dos gastos com o setor de saúde (CONSENSO, 1997). Segundo LUCÍRIO e WUSTHOF (2000), no Brasil os custos econômicos diretos e indiretos de gastos com a doença representam entre 5 e 14% da verba destinada à saúde. Segundo ZACHÉ (2001), um estudo feito no Hospital Universitário da Universidade Federal do Rio de Janeiro revelou que cuidar do diabetes é três vezes mais caro que tratar doenças cardiovasculares e respiratórias devido às complicações decorrentes da doença que exigem um tempo maior de permanência dos pacientes no hospital.

A nefropatia diabética acomete cerca de 40% dos pacientes diabéticos e é a principal causa de insuficiência renal em pacientes

que ingressam em programas de diálise. A mortalidade dos pacientes diabéticos em programas de hemodiálise é maior do que a dos não-diabéticos. Cerca de 40% dos pacientes morrem durante o primeiro ano de tratamento, principalmente por doenças cardiovasculares. O custo do tratamento da insuficiência renal crônica é elevado. De acordo com os dados obtidos junto à Secretaria de Saúde do Meio Ambiente do Estado do Rio Grande do Sul, o custo direto de um paciente em hemodiálise por ano é de R\$ 13.902,00 sem contar o acesso vascular, as medicações (R\$ 4.000,00), as eventuais hospitalizações e as consultas. Esse tipo de tratamento consome cerca de 7% do total de renda disponível para a assistência médica deste Estado. A Retinopatia Diabética (RD) acomete cerca de 40% dos pacientes diabéticos e é a principal causa de cegueira em indivíduos entre 25 e 74 anos. A maioria dos casos de cegueira (90%) é relacionada à RD e pode ser evitada através de medidas adequadas que incluem, além do controle da glicemia e da pressão arterial, a realização do diagnóstico em uma fase inicial ainda passível de intervenção. Dados epidemiológicos brasileiros indicam que as amputações de membros inferiores ocorrem com frequência 100 vezes maior em portadores de diabetes mellitus. Pacientes diabéticos com lesões graves nos pés constituem 51% dos internados em enfermarias dos Serviços de Endocrinologia nos Hospitais Universitários, com duração que pode chegar a 90 dias. Calculou-se que no Hospital das Clínicas de Porto Alegre uma internação de 21 dias para tratamento de úlcera nos pés de um paciente diabético custa cerca de R\$ 7.000,00. Em nível ambulatorial, o custo trimestral, incluindo apenas a distribuição de antibióticos orais e de antimicóticos orais e tópicos, atingiu R\$ 31.400,00 no Centro do Pé Diabético da Fundação Hospitalar do Distrito Federal (GROSS, 1999).

2.2 - Diabetes Mellitus

De acordo com DALL'AGNOL et al. (2000), diabetes mellitus é uma desordem metabólica crônica freqüente que envolve o metabolismo de carboidratos, gorduras e proteínas e é caracterizada por hiperglicemia e glicosúria. A diminuição na produção de insulina ou da sensibilidade das células-alvo a este hormônio provoca o diabetes mellitus (BARRANCO, 1998). Segundo a Academia Americana de Diabetes (1997) citada por DAMIANI (2000), a patologia é classificada como diabetes tipo I e II. O diabetes tipo I geralmente se manifesta em crianças e adultos jovens (DALL'AGNOL et al., 2000), ocorre antes dos 25 anos de idade (BARRANCO, 1998) e caracteriza-se por destruição das células β das ilhotas de Langerhans mediada por um processo auto-imune (DAMIANI, 2000) ou pode ser causada por vírus como o *Coxsackie B₄* ou caxumba (DALL'AGNOL et al., 2000).

A administração oral de auto-antígeno específico para tecido pancreático pode prevenir o diabetes auto-imune (ARAKAWA et al., 1998). Esta doença se deve à deficiência na síntese e secreção de insulina pelas células β nas ilhotas de Langerhans presentes no pâncreas. O organismo é dependente de insulina exógena para prevenir cetoacidose e morte. No paciente diabético não tratado há risco de cetose proeminente, sudorese, poliúria, polifagia, polidipsia e acidose (DALL'AGNOL et al., 2000).

O diabetes tipo II usualmente acomete pessoas mais velhas ou com sobrepeso. É causada por deficiência relativa ou diminuição da efetividade da insulina e é muito mais comum que o tipo I (DALL'AGNOL et al., 2000). Assim como o diabetes mellitus, há fortes evidências de que a prevalência de obesidade continua aumentando. A obesidade desempenha papel importante no desenvolvimento do diabetes diminuindo o número de receptores insulínicos nas células-alvo por todo o corpo, tornando assim a quantidade de insulina

disponível menos eficaz nos seus efeitos metabólicos usuais (SHIMABUKURO et al., 1998). As consequências da obesidade são bem conhecidas. Particularmente, o diabetes mellitus tipo II é uma consequência da obesidade em indivíduos susceptíveis (BJORNTORP, 1997). A obesidade leva a resistência à insulina e a normoglicemia é mantida por hiperinsulinemia até que as células β tornam-se incapazes de atender à demanda de insulina, iniciando-se o diabetes.

A maioria das características patológicas do diabetes mellitus pode ser atribuída a um dos seguintes efeitos principais da falta de insulina: utilização diminuída de glicose pelas células, aumento da glicemia que pode alcançar valores de até 300 a 1.200 mg/dL, mobilização acentuadamente aumentada das gorduras a partir das do tecido adiposo causando o metabolismo lipídico anormal bem como a deposição de colesterol nas paredes arteriais e, conseqüentemente, causando aterosclerose e depleção de proteínas nos tecidos corporais (GUYTON, 1997).

2.3 - Indução de Diabetes em Animais Experimentais

Dois agentes tóxicos para célula β viabilizaram o estabelecimento de instrumentos experimentais, visto que permitem instalar modelos experimentais para estudo do diabetes. Estes dois agentes são o aloxano (2,4,5,6-tetraoxoexaidropirimidina monoidratada) e a estreptozotocina. Estas substâncias causam danos às células β das ilhotas pancreáticas alterando a produção de insulina e, conseqüentemente, o metabolismo de glicose (HATCHELL et al., 1986). Estudos morfológicos evidenciam que na indução de diabetes por aloxano, as células β do pâncreas são destruídas o que resulta, após um período de cerca de cinco dias, em severa e persistente redução da insulina sérica, redução do número de células

β e perda de peso corporal (GORRAY et al., 1986). O aloxano destrói as células β agindo na membrana plasmática. Essa droga pode causar acúmulo de H_2O_2 suficiente para induzir fragmentação de DNA em ilhotas pancreáticas isoladas (KIM et al., 1994).

A glicose pode anular o efeito do aloxano protegendo as células β das ilhotas (GORRAY et al., 1983). Glicose e aloxano agem no mesmo sítio, ou em sítios adjacentes, na membrana plasmática das células β (DIXIT e KAUNG, 1985).

2.4 - Opções Terapêuticas para o Diabetes Mellitus

A importância de se conhecer a doença e a forma de preveni-la são essenciais, uma vez que a descoberta precoce e a conscientização do paciente muda o seu curso (ALFENAS et al., 2000). Ensaios clínicos aleatórios, têm demonstrado que pacientes diabéticos mantidos em condições de controle clínico e metabólico apresentam retardo no aparecimento e/ou na progressão de complicações crônicas (ASSUNÇÃO, 2001).

O tratamento compreende dois conjuntos de medidas. As medidas não medicamentosas e as medicamentosas. O primeiro conjunto é representado por um plano alimentar, um plano de atividade física e um plano de educação com informações sobre saúde e diabetes. Todos devem ser individualizados. Quando após estas medidas, o controle adequado do diabetes não for obtido, estão indicadas as medidas medicamentosas como os comprimidos orais e a insulina. Os portadores de diabetes tipo I, já no início, devem usar insulina juntamente com as medidas não medicamentosas (GROSS et

al., 2000). O tratamento deste tipo de diabetes é feito obrigatoriamente com insulina e dieta (DALL'AGNOL et al. 2000).

O tratamento do diabetes tipo II busca regularizar a glicemia através da administração de agentes hipoglicemiantes, inibidores da α -glicosidase, dieta restrita em açúcar e consumo de preparações dietéticas com carboidratos complexos e fibras (DALL'AGNOL et al., 2000).

A dieta de diabéticos tanto do tipo I quanto do tipo II deve manter a glicose plasmática o mais próximo possível do nível fisiológico normal, com a meta de prevenir ou retardar as complicações diabéticas. Ela também deve contribuir para controle de peso corporal e de dislipidemias. A diabetes representa fator de risco importante de doença arterial coronária (DAC), principalmente em mulheres. A dietoterapia nas hiperlipidemias tem por objetivo reduzir a morbidade e mortalidade por DAC por meio da redução dos níveis de colesterol total (CT), LDL (lipoproteína de baixa densidade) e TG (triacilglicerol), podendo haver aumento simultâneo do HDL (lipoproteína de alta densidade). Estudos epidemiológicos demonstraram que a ingestão de ácidos graxos saturados eleva o CT e, em especial, o LDL. O precursor dos poliinsaturados ômega-3 é o ácido α -linolênico cujas fontes são o tecido verde de plantas (não disponível para organismo humano) e a gordura de algumas espécies de peixes (ácido eicosapentaenóico e docosahexaenóico). Indivíduos que ingerem peixe regularmente têm níveis menores de CT e TG. Estes ácidos graxos poliinsaturados podem, às vezes, aumentar o HDL, o que é um efeito desejável (CONSENSO, 1996).

Os carboidratos constituem mais da metade do valor energético total da alimentação. Cereais constituem a maior fonte deste nutriente representando cerca de 50% dos carboidratos consumidos tanto nos países desenvolvidos como naqueles em desenvolvimento. Outras fontes importantes são os mono e dissacarídeos, frutas,

vegetais e o leite (lactose) (FAO/WHO, 1998). Os diferentes carboidratos alimentares, embora, em porções que contenham o mesmo teor de carboidratos, produzem diferentes respostas glicêmicas (CARUSO, 2000).

O uso de alimentos que causam menor aumento da glicemia é aconselhado (ALFENAS et al., 2000). Para auxiliar na seleção destes alimentos, foi criado o índice glicêmico (IG) que visa classificar os alimentos com base no potencial aumento da glicose sangüínea em relação a um alimento padrão (pão branco segundo WOLEVER et al., 1991). Vários fatores podem afetar o índice glicêmico apresentado por determinado alimento. Entre eles, pode-se citar o tipo químico do carboidrato, a quantidade de fibra presente no alimento, a forma como o alimento é apresentado (integral ou moído, cru ou cozido) e as interações entre os carboidratos e demais nutrientes encontrados na mesma refeição (ALFENAS et al., 2000).

Estudos mostram que as fibras solúveis no organismo desempenham melhor controle glicêmico, reduzem o colesterol sérico, retardam o esvaziamento gástrico podendo também ser metabolizadas no intestino, gerando energia (LIMA e SABAA-SRUR, 1999).

A necessidade de proteína é determinada da mesma forma estabelecida para a pessoa não diabética e, em caso de nefropatia, a recomendação é de 0,6 a 0,8 g/kg/dia (MANCINI, 1999).

O exercício físico pode ser um importante adjunto no tratamento tanto do diabetes mellitus não insulino dependente quanto do diabetes mellitus insulino dependente. Semelhante a insulina, apenas um turno de exercícios aumenta a taxa de glicose para dentro dos músculos esqueléticos que estão em contração, um processo que é regulado pela translocação do GLUT4 (transportador de glicose para a membrana plasmática e túbulos transversos). Exercícios e insulina utilizam diferentes rotas sinalizadoras e ambas conduzem a ativação

do transporte de glicose, o qual talvez explique porque humanos com resistência a insulina são capazes de aumentar o transporte de glicose para o interior do músculo em resposta a um período agudo de exercícios. Estudos com humanos mostram que a prática constante de exercício físico resulta em numerosos benefícios de adaptação para os músculos esqueléticos incluindo um aumento da expressão do GLUT4. O aumento de GLUT4 nos músculos de indivíduos treinados contribui para um aumento na resposta da glicose contida no músculo à elevação de insulina embora nem todos os estudos mostrem que o treinamento físico em pacientes diabéticos melhore o controle global de glicose. Entretanto, atualmente há grande evidência epidemiológica demonstrando que, a longo termo, o exercício físico regular pode reduzir significativamente o risco de desenvolvimento de diabetes mellitus não insulino dependente (GOODYEAR, 1998).

A atividade física aumenta os níveis de HDL (FETT, 2000). A prática regular de exercício físico aeróbico aumenta o HDL-c (lipoproteína de alta densidade-colesterol) e a sensibilidade à insulina, reduz a pressão arterial, colabora no controle do peso corporal, além de reduzir os triacilgliceróis. O planejamento do exercício físico requer avaliação cardiológica (CONSENSO, 1996).

A terapia medicamentosa para o diabetes tipo I consiste na múltipla injeção diária de insulina adequada ao plano alimentar e atividade física. O tratamento medicamentoso para o diabetes tipo II inclui hipoglicemiantes orais. Entre eles estão as sulfoniluréias, biguanidinas, tiazolinedionas, inibidores da absorção de carboidrato, glinidas e análogos da insulina (PALUMBO, 1999, SHINKAI, 1999).

As sulfoniluréias são medicamentos de uso freqüente no controle do diabetes tipo 2 (PALUMBO, 1998) pois aumentam a função da célula β . Entretanto, como elas não eliminam a resistência

a insulina, geram estresse nas células β e conseqüente redução de sua função (HOLLANDER et al., 2000).

O mecanismo de ação das biguanidinas no controle glicêmico consiste em reduzir a absorção intestinal da glicose de modo semelhante ao dos inibidores da α -glicosidase. Elas também atuam estimulando a glicólise anaeróbica e inibindo a neoglicogênese. A Metiformina é uma biguanidina com ação anti-hiperglicêmica que causa aumento da ação da insulina nos tecidos periféricos e redução do débito hepático de glicose devido à inibição da neoglicogênese (DAVIS e GRANNER, 1996). A desvantagem do uso deste fármaco é que ele tem pouca influência na redução da glicemia no período pós-prandial (PALUMBO, 1998).

As tiazolidinedionas ou glitazonas constituem uma classe de agentes sensibilizadores de insulina que agem via ativação do receptor do núcleo e subseqüente alteração na expressão gênica envolvida no metabolismo dos lipídeos e carboidratos (MATTHEWS, 1999). Esta classe de medicamentos diminui a resistência à insulina, sensibiliza as células dos tecidos periféricos para melhorar a ação dos mesmos (FRAIGE FILHO, 2000a). As glitazonas parecem aumentar a ação da insulina em animais insulino-resistentes devido ao aumento do número de transportadores de glicose (DAVIS e GRANNER, 1996). Elas reduzem a glicemia nos períodos de jejum e pós-prandial afetando a glicose hepática em jejum e a sensibilidade periférica à insulina (SHINKAI, 1999). A Troglitazona, a pedido do FDA (Food and Drugs Administration), foi retirada do mercado devido aos efeitos tóxicos graves sobre o fígado (PALUMBO, 1998).

O grupo das glinidas inclui as repaglinidas e nateglinidas cujo mecanismo de liberação de insulina que mimetiza os picos pós-prandiais desse hormônio (FRAIGE FILHO, 2000a). A Repaglidina, que já foi aprovada pelo FDA, tem início da ação mais rápido e tempo de ação mais curto do que os agentes estimulantes convencionais

das células β . Causa episódios hipoglicêmicos menos severos que as sulfoniluréias (SHINKAI, 1999).

A acarbose, um inibidor de α -glicosidases, enzimas responsáveis pela absorção de carboidratos e localizadas na borda em escova dos enterócitos do intestino delgado, assemelha-se a um carboidrato substituindo os substratos naturais das α -glicosidases. Apresenta potente efeito inibidor sobre estas enzimas pois sua afinidade por elas é 1500 vezes maior que da sacarose, exercendo desta forma ação competitiva (FRAIGE FILHO, 2000a).

Além dos recursos já convencionais de controle do diabetes mellitus, as plantas medicinais apresentam-se como importante fonte de princípios ativos com potencial terapêutico (COX e BALICK, 1994).

Diversos estudos têm demonstrado a utilização de plantas medicinais no controle do diabetes mellitus em muitos países. Esse fato tem causado um aumento no número de pesquisas direcionadas para a validação das propriedades antidiabéticas, as quais são empiricamente atribuídas a essas plantas. Com isso, pesquisas para isolamento, purificação, identificação e estudos dos mecanismos de ação das substâncias responsáveis pela atividade hipoglicemiante estão sendo realizados. Algumas das plantas utilizadas pela população como “remédios antidiabéticos” já fazem parte do seu hábito alimentar, unindo assim dois fatores básicos no controle do diabetes mellitus: alimentação e medicamentos (RAMOS et al., 1995).

Dentre os princípios ativos antidiabéticos podem ser citados os polissacarídeos, glicosídeos, aminoácidos, peptídeos, proteínas, esteróides, óleos, vitaminas, terpenóides, triterpenos, alcalóides, flavonóides e saponinas (IVORRA et al., 1989).

2.5 - Flavonóides

São conhecidos mais de 4.200 flavonóides, sendo que o número de novas estruturas identificadas praticamente dobrou nos últimos vinte anos (SIMÕES, 2000).

Flavonóides são polifenóis bioativos, de baixo peso molecular, derivados biossinteticamente do metabolismo secundário de vegetais (HOLLMAN, 1997, AHERNE, 2002).

Variações no anel heterocíclico C dão origem a flavonóis, flavonas, catequinas, flavanonas, antocianinas e isoflavonóides (HOLLMAN, 1997). Flavonóides são metabólitos derivados de subunidades originadas pela via do acetato e chiquimato cuja estrutura é composta por três anéis (A, B e C), com um esqueleto difenil propano (FORMICA e REGELSON, 1995, AHERNE, 2002). A fenilalanina é transformada em ácido cinâmico e este, por sua vez, é hidrolizado a ácido p-coumárico (C₉). O C₉ condensa com três unidades malonil-CoA (C₂) para formar uma chalcona (C-15). O fechamento do anel e a hidratação dão origem a compostos tais como catequinas e flavonóis (AHERNE, 2002). Flavonóides podem ser monoméricos, diméricos ou oligoméricos (COOK e SAMMAN, 1996). Ocorrem como agliconas, glicosídeos e derivados metilados (HAVSTEEN, 1983). Muitos flavonóides ocorrem como derivados glicosilados. Como exemplo dos mais comuns utilizados na dieta pode-se citar a quercitrina, rutina e robinina que são hidrolizados pela flora bacteriana produzindo açúcar livre e flavonóides biologicamente ativos (HERTOG et al., 1995). A ligação glicosídica está normalmente localizada nas posições 3 ou 7 e o carboidrato pode ser L-raminose, D-glucose, glucoraminose, galactose ou arabinose (HAVSTEEN, 1983). A atividade bioquímica dos flavonóides e de seus metabólitos, assim como sua classificação, depende da estrutura química (COOK e SAMMAN, 1996).

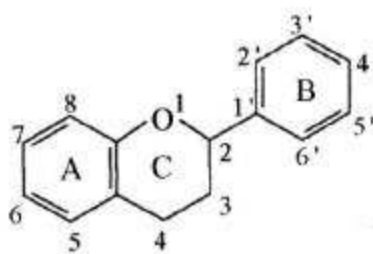


FIGURA 1 – Estrutura básica dos flavonóides

QUADRO 1 – Classificação, exemplos e ocorrência de flavonóides

Classes	Exemplos	Ocorrência
Flavanonas	Naringina e Naringenina	Frutas cítricas
Flavonas	Diosmetina, luteolina	Cereais, frutas e ervas
Flavonóis	Quercetina, kaempferol	Vegetais e frutas
Isoflavonóis	Daidzeína, genisteína	Leguminosas
Antocianinas	Delfinidina	Frutas e flores
Flavans: mono, bi e triflavanas,	Catequinas, epicatequinas e teaflavina	Frutas e chás
Dihidroflavonóis	6-C-dihidroquercetina	Casca de árvore
Chalconas	Triangularina e auretiacina	Folhas de <i>Myrica gale</i>

* Fonte: PETERSON e DWYER (1998).

Os flavonóides são responsáveis pela cor de flores, frutos, e às vezes de folhas. Flavonóides também estão presentes na cutícula de folhas e nas células da epiderme onde eles asseguram proteção aos tecidos contra os efeitos nocivos da radiação ultravioleta (BRUNETON, 1999). Exercem funções de proteção contra patógenos e injúria celular oxidativa e estimulação da polinização por insetos (LIBERATO, 2001).

No princípio do século XX, o desenvolvimento da química e o descobrimento de complexos processos de síntese orgânica possibilitaram a indústria farmacêutica desenvolver produção em grande escala de medicamentos mais sofisticados. O uso de produtos naturais na síntese de substâncias bioativas é uma estratégia que tem sido amplamente empregada para produção de fármacos (SIMÕES, 2000).

Muitos medicamentos testados contra o câncer levaram anos e consumiram alguns milhões de dólares em pesquisas, para que se pudesse encontrar algo que fosse eficaz contra a doença. A relação de acerto das pesquisas contra o câncer é de 1/100.000, enquanto as pesquisas com plantas têm apresentado uma correlação bem mais próxima, sendo de 1/5.000 de acerto/pesquisas, tornando os tratamentos medicinais muito mais baratos e acessíveis (FETT, 2000). Este é um fator determinante para que as plantas sejam vistas como alternativa viável para o tratamento das doenças com aumento da chance de acerto.

O interesse econômico dos flavonóides é decorrente de suas propriedades que lhe conferem importância na indústria de alimentos, devido à sua contribuição em nutrição e sabor dos alimentos, e importância farmacológica resultante de propriedades como anticarcinogênica, antiinflamatória, antialérgica, antiulcerogênica, antivirais entre outras (SIMÕES, 2000). Neste sentido, tem-se desenvolvido trabalhos sobre a ação dos flavonóides na biologia de plantas, bioquímica ecológica, quimiotaxonomia, tecnologia de alimentos e farmacologia (CARVALHO et al., 1999).

2.5.1 - Fontes de Flavonóides

Exceto pelas glândulas sudoríparas do castor e as asas e corpos das borboletas, bioflavonóides não são produzidos por animais. Estes obtêm bioflavonóides através de sua dieta pois eles não têm capacidade de sintetizar estas substâncias (ONG, 2000). Os flavonóides integram um grupo de antioxidantes polifenólicos que compõem a dieta humana (KUROWSKA, 2000) sendo que, a rutina e a robinina são os flavonóides glicosilados mais comuns presentes na mesma. Outras fontes de flavonóides são o chá, a cebola, a maçã, o vinho tinto, os frutos cítricos, as verduras, os legumes, as nozes,

sementes, hastes, flores, raízes, cascas de árvores, o café, a seiva lenhosa, o centro da massa da madeira e o pólen (MIDDLETON, 1992, KUROWSKA, 2000, ONG, 2000, LIBERATO, 2001).

Flavanonas ocorrem predominantemente em frutas cítricas, flavonas em ervas, isoflavonóides em legumes, antocianinas e catequinas em frutas e flavonóis em todas as frutas e legumes (PETERSON, 1998). Os 2'-hidroxiflavonóis são raros, ocorrendo somente em algumas plantas, sendo um exemplo a morina, presente em troncos de madeira de *Morus tinctoria* (RICARDO, 1999).



FIGURA 2 – Estrutura básica da morina

Segundo BRUNETON (1999); praticamente todas as frutas e legumes contêm flavonóides, mas em diferentes quantidades: menor quantidade (< 10mg/Kg) encontrada na couve, repolho e palmito, cenoura, ervilha, espinafre, e pêssago; média quantidade (<50mg/Kg) encontrada na alface, tomate, morango, maçã e uva e grande quantidade (>50mg/Kg) encontrada na cebola, feijão verde, brócolis e aipo.

Sucos de frutas, vinhos (especialmente tintos), e chás também contribuem para a ingestão de flavonóides (BRUNETON 1999). ASGARY (1999) relata que, durante a década de 90, verificou-se através de estudo que a média de consumo de flavonas e flavonóis é de 15-34 mg/dia em três países da União Européia, e 68 mg/dia no Japão. Em média, a dieta ocidental diária contém aproximadamente 1 g de uma combinação de flavonóides, uma quantidade que poderia

prover uma concentração farmacologicamente significativa para os fluidos corporais e tecidos. Flavonóides tem demonstrado afetar a atividade de uma grande variedade de enzimas, de seqüestrar radicais livres agindo como antioxidantes, de quelar certos cátions metálicos, de aumentar a resistência da lipoproteína LDL à oxidação, de proteger a biomembrana contra o dano peroxidativo e de afetar a fosforilação protéica.

VINSON (1998) relata que o consumo aumentado de frutas, verduras e legumes estão associados a um menor risco de doenças degenerativas que surgem com o envelhecimento tais como câncer, doenças cardiovasculares, cataratas, disfunção cerebral e imunológica.

2.5.2 - Absorção e Metabolismo de Flavonóides

Qualquer importância fisiológica dos flavonóides depende de sua disponibilidade para absorção. Em geral, flavonóides glicosilados são resistentes ao processamento, cozimento e digestão (GEE, 1998).

Em cebolas aproximadamente 90% da quercetina está localizada na primeira e segunda camada. As etapas de descascamento e limpeza de cebola provocam uma perda de 39% de quercetina e 64% de kaempferol. Os processamentos de cozimento e aquecimento de cebola, feijões verdes e ervilhas pouco afetam o conteúdo de flavonóides (EWALD et al., 1999).

Os efeitos dos flavonóides “in vivo” dependem em grande extensão da farmacocinética de absorção, metabolismo, distribuição e excreção (LEAKE, 2001). Solubilização é um pré-requisito para uma efetiva absorção no intestino delgado a qual é limitada pela hidrólise (LIBERATO, 2001).

Hollman et al. citado por GEE (1998) fez experimento onde estudou a absorção de flavonóides em humanos e obteve evidência de que no intestino delgado ocorreu absorção de quercetina glicosilada intacta extraída de cebolas fritas. A explicação proposta pelos autores para estas conclusões é que o transportador intestinal de glicose (SGLTI) é capaz de transportar a quercetina glicosilada através do intestino delgado de mamíferos.

A microflora intestinal produz glicosidases capazes de liberar a aglicona de seu açúcar (FORMICA, 1995). Além disto, esta microflora é capaz de clivar o anel C produzindo ácido fenilacético e fenilpropionico e outros derivados. A maioria dos flavonóides absorvidos no intestino é transportada pela veia porta para o fígado onde eles são decompostos (HAVSTEEN, 1983). Após a absorção, grupos hidroxilas se ligam com ácido glicurônico e sulfatos no fígado (HOLLMAN, 1997) e em menor extensão no rim (PETERSON, 1998). Além disto, O-metilação pode ocorrer (HOLLMAN, 1997). As moléculas conjugadas são então excretadas na bile e urina. Com relação aos flavonóides não absorvidos e os conjugados que são excretados na bile, pode ocorrer clivagem por bactérias e os ácidos fenólicos resultantes serem absorvidos na forma conjugada e então excretados novamente na bile e urina (PETERSON e DWYER, 1998). Devido à baixa polaridade de muitas agliconas, especialmente as fortemente metiladas, elas provavelmente são transportadas ligadas à albumina (HAVSTEEN, 1983).

Um estudo holandês feito com humanos demonstrou que após 48 h da ingestão de 215 g de cebolas fritas que forneciam 64,2 mg de quercetina esta foi detectada no plasma. Um estudo dinamarquês, também feito com humanos, revelou que após a ingestão diária de 500 g de brócolis, que fornece 12,5 mg de kaempferol, durante 12 dias, foram detectados 52-57 ng/mL de kaempferol na urina (VINSON, 1998).

Nenhum resíduo de flavonóides se acumula no corpo (HAVSTEEN, 1983). Reações adversas dos flavonóides têm sido relatadas após administração de doses farmacológicas crônicas que excedem a ingestão dietética estimada de 23 a 170 mg/dia. Efeitos tóxicos têm sido documentados com doses de 1 a 1,5 g/dia de flavonóides como o cianidanol e inclui falência renal aguda, anemia hemolítica, trombocitopenia, hepatite, febre e reações cutâneas (COOK e SAMMAN, 1996).

2.5.3 - Atividades Biológicas e Propriedades Farmacológicas dos Flavonóides

O uso de flavonóides no tratamento e prevenção de alergia, asma e inflamação estão entre as aplicações mais bem documentadas. Efeitos benéficos dos flavonóides em doenças como o câncer, as doenças cardiovasculares, cirrose e a catarata causada por diabetes também têm sido relatados (ONG, 2000).

Dentre os produtos apícolas como mel, geléia real e o pólen, a própolis vem se destacando tanto pelas suas propriedades terapêuticas, como atividade antimicrobiana, antiinflamatória, cicatrizante, anestésica e anticariogênica, quanto pela possibilidade de aplicação nas indústrias farmacêutica e alimentícia, na forma de alimentos funcionais. Os efeitos terapêuticos têm sido atribuídos aos diversos compostos fenólicos que compõe a própolis. Destes, os flavonóides podem ser considerados os principais compostos, encontrando-se ainda alguns ácidos fenólicos e seus ésteres, aldeídos fenólicos, álcoois e cetonas (PARK et al., 1998).

A quercetina, presente na cebola, estimulou a liberação de insulina e aumentou a captação de cálcio de células de ilhotas isoladas (FORMICA e REGELSON, 1995). Extrato de folhas de

Bridelia ferruginea contendo rutina reduziu a glicemia de coelhos normais em 40% (ONUNKWO, 1996).

A secreção de insulina depende da concentração intracelular de Ca^{2+} (GOODMAN e GILMAN, 1996). O cálcio atua como sinalizador intracelular ativando uma série de reações cujo efeito final é a secreção de insulina pelas células β . A $\text{Ca}^{++}\text{ATPase}$, presente na membrana e no retículo endoplasmático, bombeia ativamente o Ca^{++} para meio extracelular (ALBERTS et al., 1997). A atividade da $\text{Ca}^{++}\text{ATPase}$, presente na membrana cerebral, foi inibida pelos flavonóides quercetina e, em menor intensidade, pela floretina (GROSMAN, 1998).

O aumento da concentração de cálcio no citoplasma ativa a proteína quinase C. Presumivelmente, esta proteína atua ativando uma cascata de fosforilações que induzem a ativação de proteínas reguladoras que aumentariam a transcrição de genes codificadores da insulina (MARZZOCO e TORRES, 1999).

Informações recentes sugeriram que dietas compostas por determinados flavonóides, tais como os contidos na soja (contém principalmente a isoflavona genisteína), são capazes de reduzir hipercolesterolemia (KUROWSKA, 2000). Estudos epidemiológicos demonstraram que a ingestão diária de flavonóides é inversamente associada à mortalidade por doenças cardiovasculares e incidência de infarto (SHIMOI et al., 1998).

Em autópsias, mostrou-se que as estrias gordurosas surgem na aorta desde a infância em várias populações. Na puberdade, este acúmulo na íntima arterial começa a aparecer nas coronarianas e progressivamente surgem placas fibrosas nos adultos jovens. Não se pode ignorar que as estrias de gordura na aorta, ao final da puberdade, estão nitidamente relacionadas a níveis de colesterol e LDL-colesterol plasmáticos na infância. (QUINTÃO, 1992).

As doenças cardiovasculares representam a primeira causa de óbito em todos os países desenvolvidos e em muitos países em desenvolvimento, incluindo o Brasil, onde determinam um terço de todas as mortes (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 1994).

As conseqüências da obesidade são bem conhecidas. Assim como o diabetes mellitus, a prevalência da obesidade continua aumentando; as doenças cardiovasculares e o diabetes mellitus tipo II estão entre as suas principais conseqüências (BJORNTORP, 1997).

O diabetes mellitus e a aterosclerose têm uma relação recíproca porquanto o diabetes é um dos principais fatores de risco para o desenvolvimento de aterosclerose, a qual é a principal causa de mortalidade nesse grupo de indivíduos (BAYERL, 2000). Está bem estabelecido que aterosclerose é mais severa no diabetes mellitus cujos portadores apresentam lipoproteínas glicosiladas. Foi demonstrado que a glicosilação aumenta significativamente a aterogenicidade da lipoproteína (OREKHOV, 1997).

Fatores como fumo, infecções (*Herpes simplex* e *Clamídia*), nutrição (a concentração de LDL circulante é modulada particularmente pelos hábitos alimentares) e hipercolesterolemia genética desempenham um importante papel na formação da aterosclerose (GOLDBERG, 1999). Estes fatores de risco são aterogênicos pois estão, direta ou indiretamente, relacionados à formação de radicais livres. FETT (2000) cita como fatores produtores de radicais livres a ingestão excessiva de gordura, açúcar, álcool, combinação incorreta de alimentos; o sedentarismo, o estresse, a fumaça do cigarro, entre outros. Radicais livres são espécies extremamente reativas. Algumas substâncias são especialmente sensíveis à sua ação como por exemplo lipídeos e proteínas. Radicais livres podem iniciar reações em cadeia que levam à formação de novos radicais, amplificando sua capacidade de produzir lesões (BRASILEIRO, 1993).

A disfunção endotelial é de primordial importância para a patogênese da aterosclerose. Uma combinação dos conhecidos fatores de risco (fumo, diabetes, hipertensão e dislipidemia) e características hemorreológicas locais (distúrbios no padrão do fluxo sanguíneo em segmentos tortuosos ou próximos a bifurcações), através de efeitos bioquímicos e hemodinâmicos crônicos, poderiam contribuir para a perda da integridade vascular e o desencadeamento do processo de aterosclerose. Assim, um endotélio funcionalmente anormal facilita a entrada de lipídios plasmáticos e de monócitos circulantes na parede arterial (VERRI, 1997).

Existem evidências de que as LDLs plasmáticas, em sua relação normal com a parede arterial, adentram as células endoteliais através de mecanismos de endocitose. O aumento na concentração de LDL oxidada no interior da célula endotelial induziria a acentuada produção de radicais livres (FLAVANHAN, 1992).

VERRI, 1997 esclarece o mecanismo de entrada de lipídios nas células desvendando o papel dos receptores para a proteína (apo B) das partículas de LDL. A expressão destes receptores de LDL na superfície celular é reduzida à medida que a célula acumula lipídio, de maneira que a célula não fique repleta. Os macrófagos acumulam muito pouco LDL, a menos que este seja, de alguma forma, alterado para uma condição chamada LDL modificado (levemente oxidado); os principais tipos de células encontradas na parede vascular são capazes de oxidar LDL, mas a célula endotelial é provavelmente a mais importante neste estágio muito precoce de aterogênese (VERRI, 1997).

A modificação oxidativa da LDL parece ocorrer em dois estágios. O 1º, antes que os monócitos sejam ativados, resulta na oxidação dos lípidos da LDL, com pequena alteração na apoB (LDL minimamente oxidada). O 2º começa quando os monócitos são ativados e convertidos em macrófagos, que contribuem com sua

grande capacidade oxidativa. Nesse estágio, os lípides da LDL são adicionalmente oxidados e a fração protéica (apo B) também o é (BATLOUNI, 1997).

Nos estágios iniciais da aterosclerose, a LDL-ox se acumula na lesão que está presente na íntima da parede arterial onde é captada e fagocitada pelos macrófagos formando as células espumosas.

A LDL oxidada (não a nativa) é um potente fator quimiotático positivo para monócitos e, ao mesmo tempo, é um inibidor da mobilidade do macrófago. Em ambos os casos, o componente ativo está localizado na fração lipídica da LDL oxidada. Na parede arterial, os monócitos sofrem modificações fenotípicas que os transformam em macrófagos, e, por ação quimiotática das LDLs oxidadas, são impedidos de retornar ao plasma. Uma vez que os próprios macrófagos podem modificar oxidativamente as LDLs, a velocidade com que estas são produzidas aumenta geometricamente com o número de macrófagos no espaço subendotelial (QUINTÃO et al., 1992).

As LDLs altamente oxidadas podem também inibir a migração de células endoteliais e comprometer a reparação de placas ulceradas em lesões ateroscleróticas avançadas. Demonstrou-se ainda que LDLs-ox são tóxicas para macrófagos e, como consequência, podem contribuir à amplificação do processo inflamatório e à formação do núcleo necrótico encontrado nas lesões avançadas. As LDLs-ox são também imunogênicas; anticorpos a determinados epítomos (determinantes antigênicos) de LDL-ox são encontrados no plasma e em lesões associadas a imuno-complexos. Assim, pois, há tanto uma resposta humoral como imunológica, mediada por células, típica de lesão inflamatória

Muitos flavonóides, no sentido amplo, e muitos outros fenóis (especialmente tocoferol) reagem com radicais livres para prevenir a degradação ligada à sua intensa reatividade. Parece que a

capacidade antioxidante dos flavonóides depende de sua afinidade pelos radicais livres, conseqüentemente isto depende de sua estrutura ("in vitro", flavonóis são mais ativos que flavonóis, os quais, por sua vez, são mais ativos que flavanonas, etc) (BRUNETON, 1999). Considera-se que os elevados números de substituintes OH nos flavonóides resultam em uma alta atividade antioxidante (HEIJNEN, 2001). Atividade ótima parece requerer uma dupla ligação entre C-2 e C-3 do anel C para permitir a movimentação do elétron através da molécula, um grupo hidroxil no C-3 do anel C e dois grupos hidroxil no anel B em um arranjo ortodifenólico. Os substituintes devem ser tomados dentro do cômputo: kampferol (monohidroxilado no anel B) é menos antioxidante do que taxifolin, uma flavanona dihidroxilada no C-3' e C-4' (DREOSTI, 2000).

Devido à ocorrência contínua das lesões, o depósito de colesterol juntamente com a proliferação celular, pode tornar-se muito elevado a ponto da placa projetar-se profundamente na luz arterial reduzindo acentuadamente o fluxo sangüíneo e, algumas vezes, obstruindo o vaso por completo. Mesmo sem oclusão, os fibroblastos da placa eventualmente depositam quantidades tão extensas de tecido conjuntivo denso que a esclerose (fibrose) torna-se muito pronunciada, com conseqüente rigidez das artérias. Posteriormente, é comum haver precipitação de sais cálcio com o colesterol e outros lipídeos das placas, resultando em calcificações duras como o osso, que transformam as artérias em tubos rígidos (GUYTON, 1997). Também pode ocorrer hemorragia e fissura e, como conseqüência, trombose local, aparecimento de isquemia e posterior necrose do tecido irrigado por tais artérias (BELLIZI et al., 1994).

A cascata do ácido araquidônico (CAA) (BARREIRO, 2000a, BARREIRO, 2000b) é responsável pela bioformação de importantes mediadores celulares como os eicosanóides (BARREIRO, 1979). Existem três classes de eicosanóides: as prostaglandinas (PG), os

tromboxanos e os leucotrienos. Estas substâncias são produzidas pela maioria das células, exceto hemácias, e atuam em concentrações tão baixas quanto os hormônios (MARZZOCO e TORRES, 1999). Os tromboxanos são produzidos pelas plaquetas e agem na formação dos trombos sangüíneos e na redução do fluxo do sangue para o sítio do coágulo (GUYTON, 1997).

As plaquetas possuem características funcionais, no seu citoplasma estão vários fatores ativos. Entre eles, estão os sistemas enzimáticos que atuam na síntese de prostaglandinas, tromboxanos A_2 , ADP e ATP, íons cálcio e ainda um fator de crescimento que promove o crescimento e multiplicação de células endoteliais, células musculares lisas vasculares, fibroblastos sendo, deste modo, responsável pela proliferação celular que ajuda no reparo das paredes celulares lesadas.

A inibição seletiva de enzimas da cascata biossintética do ácido araquidônico talvez seja o principal sítio de intervenção terapêutica para o tratamento de doenças inflamatórias crônicas sabendo-se, atualmente, que a ação dos antiinflamatórios não esteróides (NSAI) e do ácido acetilsalicílico (AAS) se faz por inibição da ação da enzima cicloxigenase (COX), primeiro complexo enzimático envolvido na bioformação das prostaglandinas (PG) (FREITAS e BARREIRO, 2000).

Flavonóis e flavonas podem inibir a cicloxigenase levando a uma diminuição da agregação de plaquetas com conseqüente redução da tendência trombocítica (Lackeman et al., 1986 citado por LIMA, 2001). Para que o flavonóide iniba a ação plaquetária em humanos, o mesmo deve apresentar uma dupla ligação entre o C-2 e o C-3, um grupo hidroxila C-3 e um grupo e um grupo carbonila no C-4. O efeito inibitório dos flavonóides na função plaquetária está dimensionado por glicosilação no C-3, e poliidroilação (COOK e SAMMAM, 1996).

A hidroxilação do grupo flavona parece aumentar a atividade anti-peroxidativa dos flavonóides (GALVEZ et al., 1995), o que pode explicar o fato das flavonas aglicona poliidroxiladas como a quercetina, morina, hipolentina, fisetina, gossipetina e galangina serem potentes inibidores da oxidação de LDL (COOK e SAMMAM, 1996).

Flavonóides são essencialmente usados para tratamento de desordens capilares e venosas. Isolado ou em combinação com outras drogas, eles são ingredientes comuns de agentes protetores vasculares, tônicos venosos e agentes tópicos usados no estudo de veias (BRUNETON, 1999).

Radicais livres contendo oxigênio têm sido implícitos na mediação de vários processos patológicos tais como isquemia, doenças inflamatórias, diabetes e aterosclerose (WEI et al., 1998).

Há uma geração aumentada de radicais livres no plasma e nos tecidos de indivíduos diabéticos. Os níveis de vitamina C mais baixos e níveis alterados dos sistemas antioxidantes de defesa estão presentes no plasma de humanos diabéticos em comparação com um grupo controle. Nível elevado de lipídeo plasmático induz mudanças na oxidação lipídica. Peróxidos de lipídeos estão elevados e antecipam o sinal de ativação do oxigênio (GONZÁLEZ et al., 2000). Células da parede arterial, incluindo células endoteliais, células do músculo liso e macrófagos, podem oxidar LDL “in vitro” na presença de quantidades catalíticas de íons de metais de transição (AVIRAM et al., 1998). A ligação do ferro e do cobre às partículas de LDL pode catalisar a oxidação da LDL e esta oxidação é diminuída pelos flavonóides (LEAKE, 2001). É bem conhecida a propriedade de agente quelante da morina (RICARDO, 1999). Além disto, flavonóides protegem o α -tocoferol (principal antioxidante endógeno da LDL) de ser consumido durante oxidação da LDL e pode converter o radical α -

tocoferil em α -tocoferol (LEAKE, 2001), doando-lhe um átomo de H (COOK e SAMMAM, 1996).

A oxidação de LDL mediada por macrófago não depende apenas das oxigenases celulares mas também de antioxidantes celulares como o sistema glutathione (GSH). Flavonóides são capazes de aumentar o conteúdo celular de GSH transferase e assim podem contribuir para inibição da oxidação de LDL mediada por macrófago. Além disto, flavonóides foram capazes de inibir enzimas celulares que estão envolvidas na oxidação da LDL mediada por célula, tais como fosfolipase A_2 , ciclooxigenase, lipoxigenase, GSH redutase, xantina oxidase e NADPH-oxidase. Foi analisado o efeito de macrófagos enriquecidos com flavonóides sobre a sua capacidade em oxidar a LDL. A pré-incubação de macrófagos com catequina, quercetina ou glabridina resultou em uma redução de 45, 98 ou 70% de inibição, respectivamente, na oxidação da LDL mediada por células, em comparação com células controle (AVIRAM et al., 1998).

Segundo GOLDBERG (1999), dentre as características de estilo de vida que podem reduzir o risco de aterosclerose pode-se citar exercícios físicos, redução de peso corporal, abstinência de fumo e moderado consumo de álcool como os fatores mais eficientes. Os flavonóides presentes em bebidas alcoólicas, especialmente vinho tinto, exercem efeitos protetores e profiláticos que estão envolvidos na inibição das reações oxidativas da aterogênese e derrame. Por suprimir essas e outras reações, os componentes antioxidantes podem reduzir muitos eventos oxidativos, retardando o progresso da aterosclerose e reduzindo a tendência trombocítica (KINSELLA et al., 1993).

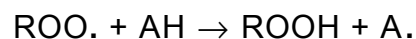
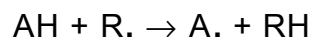
Em estudo realizado por AVIRAM et al. (1998), LDL de humanos e de macacos, deficientes na apo E, foram incubadas "in vitro" com vinho tinto ou com seus principais polifenóis, catequina (flavanol) ou

quercetina (flavonol), e observaram uma redução substancial da susceptibilidade da lipoproteína à oxidação.

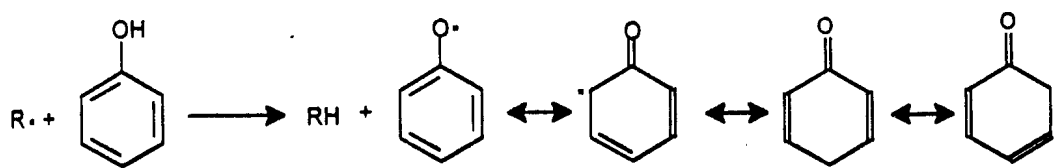
Estudos realizados com os flavonóides quercetina, morina, miricetina, kaempferol, ácido elágico e ácido tânico comprovaram que eles possuem pronunciada atividade antioxidante (RICARDO, 1999).

A associação entre alto consumo de flavonóides e redução do risco de doenças cardiovasculares têm sido proposta como sendo parcialmente relacionada à inibição da oxidação da LDL e agregação plaquetária. O mecanismo proposto para o efeito antioxidante dos flavonóides se desenvolve através da interação com radicais livres diminuindo a oxidação da LDL e conseqüentemente reduzindo sua aterogenicidade. Os dados que justificam estas conclusões estão baseados em estudos epidemiológicos, que quando agrupados, incluem centenas de participantes de países industrializados, predominantemente da Europa e América do Norte (PUDDEY, 1999). Os flavonóides com capacidade antioxidante removem os radicais superóxido, oxigênio simpleto e os peróxidos lipídicos, diminuindo a oxidação das LDLs e seus efeitos citotóxicos (BATLOUNI, 1997).

A atividade antioxidante, seja natural ou artificial, é exatamente igual, ou seja, o antioxidante (AH) remove os radicais livres (R. ou ROO.) tão logo eles sejam formados (ARAÚJO, 1995).



Na reação dos antioxidantes fenólicos com os radicais livres ocorre a formação de um radical livre que se estabiliza por ressonância, conforme a reação:



A atividade antioxidante dos compostos fenólicos depende, basicamente, da possibilidade de deslocamento do elétron isolado que aparece após a reação com o radical livre. Quanto mais estáveis as formas de ressonância, maior será a atividade antioxidante do composto fenólico (GOMES, 1998).

Uma alta concentração de glicose parece ser indutora da glicosilação do grupo amino de resíduos de lisina nas proteínas. A adição de um agente redutor parece não apenas prevenir essa reação mas também pode revertê-la (ASGARY et al., 1999).

O sorbitol é produzido a partir da glicose pela ação da aldose redutase pela rota do poliol (OKADA et al., 1995). A aldose redutase é uma enzima que catalisa a redução de glicose e galactose produzindo sorbitol e dulcitol respectivamente, usando como cofator o NADH (OLIVEIRA, 1997).

Em pessoas diabéticas, o acúmulo exagerado de sorbitol nas células causa dano celular como glicosilação de proteínas do cristalino, das membranas de células vermelhas, da albumina, do colágeno e das proteínas mielínicas de nervos (ASGARY et al., 1999). Esta glicosilação está associada ao desenvolvimento de algumas complicações crônicas do diabetes como catarata, neuropatia e retinopatia (OKADA et al., 1995).

A diminuição da glicosilação de hemoglobina na presença de diferentes concentrações dos flavonóides quercetina, rutina e kaempferol foi pesquisada. O efeito preventivo contra a glicosilação de proteínas em concentrações de 0,5; 5 e 10 g/ml foi estimado assim: rutina (11%,27%,42%), quercetina (3%,37%,52%), kaempferol (10%, 12%,15%) respectivamente (ASGARY et al., 1999).

OLIVEIRA et al.(1997) verificaram a alta ação de inibição da enzima aldose redutase de *Escherichia coli* por parte dos flavonóides

morina e quercitrina a uma concentração de 10^{-4} M destes flavonóides.

2.6 – Histologia do Pâncreas

O pâncreas é uma glândula anexa ao sistema digestivo dividido em cabeça, corpo e cauda. O órgão é envolto por uma fina cápsula de tecido conjuntivo que forma septos dividindo a glândula em lóbulos. (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

O pâncreas é constituído por dois tipos principais de componentes: os ácinos e as ilhotas de Langerhans. A porção exócrina é composta por ácinos que formam uma glândula serosa que sintetiza e secreta sucos digestivos cuja composição inclui enzimas digestivas e solução de bicarbonato de sódio (ROSS et al., 1995, GUYTON, 1997). Esta secreção pancreática flui por pequenos dútulos para dutos maiores que se originam dos ácinos e pelo ducto pancreático que se une ao ducto hepático, imediatamente antes de chegar no duodeno (GUYTON, 1997). As células dos ácinos repousam sobre uma lâmina basal envolta por fibras reticulares e uma rede de capilares sangüíneos (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999). O ácino pancreático é uma estrutura arredondada, geralmente, constituída por células epiteliais piramidais, tem seu ducto intercalar penetrando na luz do ácino onde se apresentam como células claras de formato arredondado, as células centroacinosas contêm o núcleo e uma grande região de retículo endoplasmático rugoso, razão pela qual o citoplasma basal apresenta uma boa coloração pela hematoxilina ou corantes básicos e incluídos em parafina. Sua porção apical cora-se pela eosina devido à presença de numerosos grânulos de zimogênio. As células centroacinosas coram-se fracamente pela eosina (ROSS et al., 1995).

As ilhotas de Langerhans, que correspondem à porção endócrina, sintetizam e secretam seus hormônios diretamente no sangue. O número de ilhotas no pâncreas humano é variável sendo este valor próximo a 1.000.000. As ilhotas de Langerhans são dispersas em toda extensão do órgão e representam cerca de 1,5% do volume do pâncreas. Cada ilhota é constituída por células poligonais ou arredondadas por entre as quais existe uma rica rede de capilares sangüíneos com células endoteliais fenestradas. Envolvendo a ilhota e separando-a do pâncreas exócrino, há uma fina camada de tecido conjuntivo (JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

Os três principais elementos que formam as ilhotas de Langerhans são as células α , β , δ que se distinguem por suas características morfológicas e tintoriais (GUYTON, 1997) e por seu conteúdo hormonal (KUMAR, 1995). As células β secretam insulina, constituem cerca de 60% de todas as células e dispõem-se na posição central na ilhota (GUYTON, 1997). Geralmente coram-se em azul utilizando-se a técnica da Hematoxilina Crômica de Gomori. Ao microscópio eletrônico elas são pequenas e contêm no seu citoplasma numerosos grânulos secretórios, de formato irregular, com diâmetro de cerca de 300-nm, o núcleo é denso e a matriz pálida (ROSS et al., 1995, JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1995). As células α e δ , que sintetizam glucagon e somatostatina, correspondem a 25% e 10% do total de células respectivamente e estão dispostas ao redor das células β (GUYTON, 1997). As células α são maiores que as β e se coram em vermelho pela técnica da Hematoxilina Crômica de Gomori. Estas células contêm grânulos secretórios com diâmetro de cerca de 250-nm, formato esférico e regular e mais densamente compactados no citoplasma do que os grânulos das células β . Os grânulos secretórios das células δ são maiores que os das células α e β (300-350 nm) (ROSS et al., 1995, JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

As ilhotas da espécie humana são divididas em unidades por grandes canais vasculares. A membrana plasmática das células das ilhotas contém dois tipos de junções. As junções de oclusão, regiões lineares de fusão do folheto externo da membrana plasmática de duas células adjacentes, parecem ter a função de formar compartimentos de secreções polipeptídicas impedindo sua difusão. As junções do tipo gap ou nexo são canais de ligação entre o citoplasma de duas células adjacentes formados por hexâmeros protéicos, cada um com um poro hidrofílico protéico central de 1,5 nm. Cada hexâmero se alinha com o da célula adjacente e forma um canal hidrofílico entre as duas células. Estes sistemas de comunicação permitem a troca de íons e de moléculas informacionais como hormônios, AMP cíclico, GMP e etc. (ROSS et al., 1995, JUNQUEIRA e CARNEIRO, 1999).

Arteríolas penetram nas ilhotas e ramificam-se para o interior da massa de células β como uma rede capilar semelhante a glomerular. Os capilares então atravessam a borda da ilhota e coalescem em vênulas coletoras. O sangue flui na ilhota da célula β para as células α e δ . Assim, a célula β é o sensor primário de glicose para a ilhota, sendo os outros tipos celulares presumivelmente expostos a concentrações particularmente elevadas de insulina (GOODMAN e GILMAN, 1996).

2.7 - Síntese de Insulina

A insulina é uma proteína formada por 51 aminoácidos organizados em duas cadeias polipeptídicas (MARZZOCO e TORRES, 1999). A molécula de insulina é sintetizada primeiramente como uma

cadeia única que é a pré-pro-insulina (SWENSON e REECE, 1996) na qual as cadeias A e B estão unidas pelo peptídeo C. Após a entrada desta no retículo endoplasmático rugoso, a mesma é rapidamente clivada formando a pró-insulina. Logo em seguida, ocorre dobramento desta molécula e a formação das pontes dissulfeto (GOODMAN e GILMAN, 1996).

A pró-insulina é então transportada em pequenas vesículas para o complexo de Golgi onde são armazenadas dentro de grânulos secretores juntamente com as enzimas responsáveis pela sua conversão em insulina. A conversão da pró-insulina em insulina inicia no complexo de Golgi, continua nos grânulos secretores e está quase completa no momento da secreção. Quantidades equimolares de insulina e peptídeo C são liberados na circulação. O peptídeo C não tem função biológica conhecida mas pode ser útil na avaliação do índice de secreção de insulina (GOODMAN e GILMAN, 1996).

Em solução, a insulina pode existir como monômero, dímero ou hexâmero. Duas moléculas de zinco $^{2+}$ são coordenadas no hexâmero, sendo esta forma de insulina presumivelmente armazenada nos grânulos das células β . Acredita-se que o zinco tenha uma participação funcional na formação de cristais e que este processo facilite a conversão de pró-insulina em insulina, bem como o armazenamento do hormônio (GOODMAN e GILMAN, 1996).

2.8 - Secreção de Insulina

A secreção da insulina é estimulada pelos hormônios gastrina, secretina, colecistocinina, peptídeo intestinal vasoativo, peptídeo liberador de gastrina e enteroglucagon (GOODMAN e GILMAN, 1996).

Esta estimulação também é exercida por substratos energéticos metabolizáveis pela célula β pancreática. Entre eles estão D-glicose, L-aminoácidos, ácidos graxos, corpos cetônicos sendo a glicose o secretagogo mais importante.

As ilhotas de Langerhans são altamente inervadas por terminações adrenérgicas e colinérgicas. A estimulação de receptores α -adrenérgicos inibe a secreção de insulina enquanto que a estimulação dos agonistas do receptor β -adrenérgicos e do nervo vago aumenta a sua liberação (GOODMAN e GILMAN, 1996). A secreção de insulina depende da concentração intracelular de Ca^{2+} . Duas endopeptidases Ca^{2+} -dependentes (PC2 e PC3), presentes nos grânulos das células das ilhotas, são responsáveis pela conversão da pró-insulina em insulina.

A glicose é transportada para o interior da célula β por uma proteína de membrana denominada GLUT2. Esta proteína permite que o transporte de glicose aumente rapidamente quando a glicemia se eleva (HABER et al., 2001). Imediatamente após entrar na célula β , a glicose é fosforilada pela glicoquinase causando uma modificação na proporção ATP/ADP (GOODMAN e GILMAN, 1996). O aumento intracelular de ATP estimula o fechamento de canais de K^+ sensíveis ao ATP e despolarização da célula seguida pela ativação de um canal de Ca^{2+} sensível à diferença de potencial. O aumento de Ca^{2+} no interior da célula β desencadeia a secreção de insulina (KATZUNG, 1998). A estimulação de células β pela glicose leva à ativação da fosfolipase C promovendo a hidrólise de fosfolipídeos de membrana e gerando o inositol 1-4-5 trifosfato (IP3) diacilglicerol (DAG). O IP3 também ativa canais de cálcio localizados na membrana do retículo endoplasmático com a saída de cálcio da organela e aumento de sua concentração no citossol. O DAG, por sua vez, aumenta a concentração intracelular de cálcio através da ativação de canais de cálcio sensíveis à diferença de potencial que se localizam na

membrana plasmática permitindo o influxo de cálcio. O DAG também ativa a proteína quinase C que ativa proteínas dos grânulos secretórios de insulina que, juntamente com o Ca^{2+} , promovem a ativação do sistema de microtúbulos e microfilamentos, responsável pela translocação desses grânulos para as proximidades da membrana plasmática e conseqüente exocitose.

Outra função proposta para a proteína quinase C é ativação da adenilato ciclase que resulta em aumento do conteúdo intracelular de AMPc. A indução da produção de AMPc ativa a proteína quinase A que parece agir nos processos de síntese protéica da célula. Esta pode ainda estimular a secreção de insulina de dois modos: fosforilando canais de cálcio sensíveis à diferença de potencial permitindo o influxo do íon na célula e também pela fosforilação de alguns componentes da maquinaria secretória garantindo sua eficiência (HABER et al., 2001). A secreção de insulina estimulada pela glicose é feita em duas etapas. A primeira destas alcança um pico após 1 a 2 minutos e tem curta duração enquanto a segunda fase apresenta um início lento mas tem uma duração maior (GOODMAN e GILMAN, 1996).

2.9 - Ação da Insulina

A ação da insulina na célula inicia-se pela sua ligação ao receptor de membrana plasmática. Este receptor está presente em praticamente todos os tecidos dos mamíferos mas suas concentrações variam desde 40 receptores nos eritrócitos circulantes até mais de 200.000 nas células adiposas e hepáticas. O receptor de insulina é uma glicoproteína heterotetramétrica constituída por duas subunidades α e duas subunidades β unidas por ligações dissulfeto. As subunidades α situam-se na face externa da membrana e contém o sítio de ligação da insulina. A subunidade β é uma proteína

transmembrana responsável pela transmissão do sinal e possui atividade tirosina quinase. O ATP age como doador de fosfatos e a fosforilação ocorre em resíduos de tirosina. A insulina induz a fosforilação do receptor aumentando sua capacidade de fosforilar um ou mais substratos protéicos intracelulares (HABER et al., 2001).

Após a ligação à insulina, os receptores agregam-se e são rapidamente internalizados (GOODMAN e GILMAN, 1996). A ligação insulina-receptor estimula a atividade de proteína quinase intrínseca ao próprio receptor, específica para resíduos de tirosina. A autofosforilação do receptor desencadeia a fosforilação em cascata de uma série de proteínas quinases que por sua vez fosforilam outras proteínas amplificando o sinal hormonal. Desta forma, o hormônio passa a interferir na regulação do metabolismo, no transporte dos metabólitos e na transcrição gênica (MARZZOCO e TORRES, 1999).

2.10 - Metabolismo de Carboidratos

Na dieta humana normal, as principais fontes de carboidratos são o amido seguido da sacarose e lactose (GUYTON, 1997, MARZZOCO e TORRES, 1999). O amido, por ação sucessiva da α -amilase salivar e da α -amilase pancreática é degradado até maltose e pequenos polímeros de glicose. Os enterócitos contêm as enzimas lactase, sacarase, maltase e α -dextrinase que desdobram os dissacarídeos lactose, sacarose, maltose e outros pequenos polímeros de glicose nos monossacarídeos galactose, glicose e frutose que são absorvidos no intestino delgado e transportados ao fígado pelo sistema porta. No fígado a frutose e galactose após fosforilação e ação enzimática são convertidas em glicose-6-fosfato (GUYTON, 1997).

O transporte de glicose através da membrana plasmática na maioria das células é um processo passivo, mediado por um grupo de

permeases, denominadas GLUT (transportador de glicose) que são distribuídas de forma diferenciada nos tecidos e apenas alguns são sensíveis à insulina (MARZZOCO e TORRES, 1999). O GLUT4 é inserido nas membranas das células musculares e adiposas a partir de vesículas de armazenamento intracelulares sob ação da insulina (KATZUNG, 1998).

A carência de insulina não afeta a captação de glicose pelo cérebro, eritrócitos, rins, ilhotas de Langerhans e células hepáticas (MARZZOCO e TORRES, 1999). Logo após sua entrada na célula, a glicose é fosforilada pela glicoquinase no fígado e hexoquinase nos outros tecidos para impedir sua saída da célula. Esta reação pode ser revertida por ação da fosfatase nas células hepáticas, células epiteliais intestinais e células do epitélio tubular renal (GUYTON, 1997).

O fígado é capaz de captar cerca de $\frac{2}{3}$ do total de glicose que chega a ele. O excedente de glicose é mantido em circulação causando aumento da glicemia e conseqüentemente estimula a liberação de insulina e inibe a liberação de glicogênio. No fígado, a glicose-6-fosfato (G6P) pode ser incorporada ao glicogênio cuja deposição é promovida pela insulina que ativa a glicogênio sintetase e inibe a fosfatase, enzimas limitantes nos processos de síntese e degradação de glicogênio (MARZZOCO e TORRES, 1999). A insulina também atua no fígado reajustando processos catabólicos do período pós-absortivo diminuindo a glicogenólise, a cetogênese e gliconeogênese. Além disto, a insulina aumenta a captação hepática de potássio e fosfato (KATZUNG, 1998).

A enzima G6P pode entrar na via glicolítica e levar à produção de ATP (GOODMAN e GILMAN, 1996). A insulina promove a utilização de glicose pelos tecidos periféricos através da ativação ou inibição enzimática. Nos músculos, a insulina promove a deposição de glicogênio. Além disto, promove a síntese de proteínas

aumentando o transporte de aminoácidos e estimulando a atividade ribossômica. No tecido adiposo ela estimula o consumo de glicose para síntese de ácidos graxos e de glicerol-3-fosfato sendo este empregado na esterificação dos ácidos graxos (MARZZOCO e TORRES, 1999). Ainda sobre sua atuação em adipócitos, a insulina induz a lipoproteína lipase que hidrolisa ativamente triglicerídeos a partir de lipoproteínas circulantes e reduz a lipólise intracelular dos triglicerídeos armazenados via inibição direta da lipase intracelular (KATZUNG, 1998). Adicionalmente, a insulina favorece a entrada de aminoácidos nos tecidos e a síntese de proteínas garantindo que somente o excesso destes nutrientes seja oxidado e convertido a intermediários do ciclo de Krebs (MARZZOCO e TORRES, 1999).

2.11 - Degradação da Insulina

A insulina circula no sangue como um monômero livre e tem uma meia-vida plasmática de aproximadamente cinco a seis minutos em indivíduos saudáveis e em indivíduos com diabetes mellitus tipo II metabolicamente descontrolado (GOODMAN e GILMAN, 1996).

O fígado e o rim são os principais órgãos responsáveis pela degradação da insulina., presumivelmente por hidrólise das ligações dissulfeto que unem as cadeias A e B, feita pela insulinase. Após esta clivagem ocorre degradação posterior por proteólise. Em condições normais, o fígado depura cerca de 60% da insulina do sangue liberada pelo pâncreas, devido à sua localização no sítio terminal do fluxo da veia porta, enquanto que os rins removem 35 a 40% do hormônio endógeno. Entretanto, em indivíduos que recebem insulina por via cutânea esta relação é invertida de modo que, 60% da insulina exógena são depurados pelo rim e apenas 30 a 40% desta são removidos pelo fígado (KATZUNG, 1998). O comprometimento grave da função renal parece afetar a taxa de remoção da insulina

circulante em maior extensão do que a doença hepática. A degradação hepática da insulina opera em sua capacidade máxima e não pode compensar a diminuição da clivagem renal do hormônio (GOODMAN e GILMAN, 1996).

2.12 - Regulação Metabólica

Nos organismos superiores, a regulação metabólica ocorre de forma global e integrada. A coordenação das respostas dos diferentes órgãos e tecidos, ao mesmo sinal, é obtida pela ação de hormônios (MARZZOCO e TORRES, 1999). A insulina, glucagon, cortisol, hormônio do crescimento, adrenalina, e somatostatina têm papel fundamental nesse processo.

O transporte de glicose através da membrana plasmática é um processo mediado por um grupo de permeases, denominadas GLUT (glucose transporter), que têm distribuição diferencial pelos tecidos sendo susceptíveis ou não à ação da insulina. Entre os tecidos que têm GLUT insensíveis a este hormônio, estão o cérebro, as ilhotas pancreáticas, as hemácias e o fígado. Assim, o fornecimento de glicose para o cérebro é garantido mesmo quando há redução da glicemia para as ilhotas de Langerhans, que através da entrada de glicose proporcional à glicemia, respondem com a liberação de insulina e glucagon e para as hemácias que obtêm energia exclusivamente através da glicose. O fígado é permeável à glicose sem a intervenção da insulina mas depende desta para que a glicoquinase seja sintetizada e esta, por sua vez, atua na glicogênese. Os GLUTs que atuam nos músculos e adipócitos são sensíveis à insulina (MARZZOCO e TORRES, 1999).

Após uma refeição, os nutrientes absorvidos no intestino são transportados até o fígado. Cerca de 2/3 da glicose que atinge o órgão são captados e armazenados como glicogênio. O excedente de glicose aumenta o nível glicêmico e, conseqüentemente, estimula a

liberação de insulina e inibe a de glucagon. A atuação da insulina e o consumo de glicose por células insensíveis a este hormônio causam redução gradativa da glicemia até níveis basais de 80 mg/100 mL, cerca de três a quatro horas após a refeição (MARZZOCO e TORRES, 1999). Inicia-se, então, o período pós-absortivo, com duração de cerca de 12 horas, durante o qual a glicemia é mantida pela glicogenólise hepática e, em menor extensão, pela neoglicogênese. Durante este tempo, o decréscimo da relação insulina/glucagon resulta na restrição do consumo de glicose pelos tecidos insulino-independentes e no estímulo da adenilato ciclase nas células-alvo que irá culminar com a amplificação do efeito do glucagon.

O efeito da glicose é perdido no diabético insulino-dependente não tratado. Devido à sua função de estimular glicogenólise e gliconeogênese, o glucagon exacerba a hiperglicemia do diabetes. Esta anormalidade da secreção de glucagon é corrigida à medida que se controla a doença (GOODMAN e GILMAN, 1996).

No jejum prolongado, o glucagon atua em conjunto com a adrenalina, o cortisol e com o hormônio do crescimento (GH). Este atua desacelerando o uso de glicose pela maioria das células. O mecanismo preciso de ação do GH não foi esclarecido mas parece decorrer da maior mobilização e utilização de ácidos graxos para fins energéticos em detrimento ao consumo de glicose disponível. O cortisol regula a glicemia através da atividade de gliconeogênese e desaceleração do consumo de glicose. Porém, o mecanismo de ação que resulta neste último efeito não foi detectado. Situações de estresse de quase todos os tipos, seja físico ou neurogênico, estimula secreção pronunciada de cortisol dentro de poucos minutos. Por fim, a hipoglicemia exerce efeito direto sobre o hipotálamo estimulando o sistema nervoso simpático a secretar adrenalina e esta, por sua vez, estimula a glicogenólise e neoglicogênese

hepáticas. Os efeitos deste hormônio também são acionados em situações de alerta e de dor intensa (GUYTON, 1996).

Se o jejum prolongar-se por mais de 24 horas a gliconeogênese será a única via capaz de manter a glicemia. Inclusive, há um aumento no percentual da gliconeogênese do córtex renal. Nesta situação, a produção de corpos cetônicos pelo fígado é muito mais pronunciada que nas etapas anteriores a esta. Estes metabólitos, apesar de seus efeitos tóxicos, passam a ser consumidos pelo cérebro como fonte alternativa de energia.

Quando o diabetes mellitus insulino dependente está descontrolado, o organismo apresenta um quadro metabólico semelhante ao do jejum prolongado. Apesar da elevada taxa de glicose sangüínea, a maioria das células fica impedida de consumir esta fonte energética simulando um estado de jejum prolongado onde prevalece o metabolismo degradativo, isto é, são intensificados e acelerados os processos de lipólise, proteólise, gliconeogênese. Em decorrência disto, há elevada produção de corpos cetônicos e de uréia que irão, por sua vez, causar acidez plasmática e balanço nitrogenado negativo, além de efeitos tóxicos. A excreção dos elevados níveis séricos de uréia, corpos cetônicos e de glicose, via renal, acarretam sobrecarga do órgão e depleção de líquidos e eletrólitos. Logo após o fornecimento de nutrientes e reposição de insulina, no caso dos diabéticos, o organismo atua revertendo este quadro e restabelecendo a homeostase.

A somatostatina é um hormônio produzido e secretado pelas células δ localizadas nas ilhotas pancreáticas. Ela atua como neuro-hormônio regulando a função hipofisária. No intestino, atua como agente parácrino estimulando a função de células adjacentes. No pâncreas ela tem ação sobre a porção exócrina e endócrina. O fluxo sangüíneo atinge as células α e β antes da célula δ . Assim, a somatostatina pode regular a secreção de insulina e glucagon apenas

via corrente sistêmica (GOODMAN e GILMAN, 1996). Quase todos os fatores relacionados à ingestão de alimentos estimulam a secreção de insulina. Os fisiologistas sugerem que o principal papel da somatostatina é ampliar o período de assimilação dos nutrientes no sangue. Além disto, ela deprime a secreção de insulina e glucagon diminuindo a utilização dos nutrientes absorvidos pelos tecidos e tornando-os disponíveis por mais tempo (GUYTON, 1996).

3 - Materiais e Métodos

Os ensaios biológicos e as dosagens bioquímicas foram realizados no Laboratório de Pesquisa em Produtos Naturais com Atividades Biológicas (Biofármacos) que está situado na Vila Gianetti, casa 26 e é vinculado ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa-M.G.

As análises histológicas do pâncreas dos animais experimentais foram realizadas no Laboratório de Biologia Estrutural do Departamento de Biologia Geral da Universidade Federal de Viçosa.

3.1 - Origem e Manutenção dos Animais

Foram utilizados 24 coelhos da raça Nova Zelândia, de ambos os sexos, pesando em média 1064 g, idade média de 7 semanas, fornecidos pelo Setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa. No período de adaptação (três dias) e durante todo o ensaio biológico, os animais foram mantidos em gaiolas individuais, à temperatura ambiente, recebendo água à vontade e 125 g/dia de ração comercial para coelhos da marca Guabi Indústria e Comércio Ltda. As temperaturas médias diárias do ar (°C) nos dias de coleta de sangue foram iguais a 23; 22,2 e 23,2 de acordo com informações cedidas pelo Departamento de Engenharia Agrícola da Universidade Federal de Viçosa.

3.2 - Modelo Experimental do Ensaio Biológico

Após 24 horas de jejum, os animais foram pesados e, em seguida, metade dos animais foi submetida à indução de diabetes mellitus através da injeção de solução de Aloxano (Alloxan Sigma) na proporção de 100mg/Kg de peso na veia marginal da orelha, utilizando-se seringas descartáveis de 5 mL com agulhas hipodérmicas (LIBERATO, 2001). Para favorecer o procedimento citado, os animais foram contidos com uso de um imobilizador de madeira. Para essa aplicação o aloxano foi dissolvido em água destilada (ABDEL-HASSAN et al., 2000; RIBEIRO, 2001), numa concentração de 100mg/mL e aplicado poucos minutos após sua preparação. Nos animais controle normal injetou-se apenas água destilada pura.

Devido à ação do aloxano, ocorre rompimento das células β e liberação de todo o seu conteúdo de insulina. Para se evitar a hipoglicemia decorrente, que se manifesta algumas horas após a indução, foram feitas aplicações de 10 mL de solução de glicose Sigma 50% (p/v), via intraperitoneal, após 4, 8 e 12 horas do início da indução.

Após a injeção de aloxano, aguardou-se seis dias para o desenvolvimento do diabetes. Então, foram determinados os níveis sanguíneos de glicose, triacilgliceróis, colesterol, creatinina e albumina de todos os animais. Amostras de sangue de aproximadamente 5 mL/animal foram coletadas através de incisão plexo venoso retro orbital do olho utilizando-se a extremidade cortante de um tubo capilar. Em seguida, foram centrifugadas a 7100 x g, durante 15 minutos, para obtenção do soro. As dosagens sorológicas foram efetuadas no analisador bioquímico multiparamétrico automático (Alizé). Foram dosadas as

concentrações séricas de colesterol total (mg/dL), triacilgliceróis (mg/dL), creatinina (mg/dL), glicose (mg/dL) e albumina (mg/dL).

Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicemia igual ou superior a 180 mg/dL (LIBERATO, 2001). Estes animais foram distribuídos, ao acaso, em seis grupos experimentais com seis animais (três machos, três fêmeas). Antes de iniciar o tratamento, todos os animais normais integraram o grupo 1 e todos os animais diabéticos integraram o grupo 2. Após a primeira análise sangüínea, o grupo 1 foi dividido em duas partes que passaram a representar os grupos 3 e 4. O grupo 2 também foi dividido em duas partes as quais formaram os grupos 5 e 6. Os grupos 1, 2, 3 e 5 receberam apenas ração e os grupos 4 e 6 receberam além da ração, cápsulas do flavonol morina (5 mg/dia) durante 30 dias conforme o esquema: grupo 1 – controle normal (ração) (machos e fêmeas) T0, grupo 2 – controle diabético (ração) (machos e fêmeas) T0, grupo 3 – controle normal (ração) (machos e fêmeas) T30, grupo 4 – normal tratado (ração + morina) (machos e fêmeas) T30, grupo 5 – controle diabético (ração) (machos e fêmeas) T30, grupo 6 – diabético tratado (ração + morina) (machos e fêmeas) T30.

Os pesos dos animais e os níveis sangüíneos de triacilgliceróis, colesterol total, glicose, creatinina e albumina foram monitorados após 30 dias do início dos tratamentos. Estes procedimentos foram efetuados às oito horas.

Os dados referentes ao peso corporal e parâmetros bioquímicos foram submetidos à análise de variância através da aplicação do teste multiparamétrico de comparação de médias de Newman-Keuls.

3.3 - Dosagens dos Parâmetros Bioquímicos

3.3.1 – Glicose

A glicemia foi determinada pelo método enzimático de glicose oxidase. Uma solução contendo as enzimas hidratadas em solução tampão e os soros a serem analisados foram colocados separadamente no Alizé.

Após a programação do equipamento, este promoveu a mistura da solução mencionada acima com os determinados soros que foram analisados em um comprimento de onda de 505 nm.

3.3.2 - Colesterol

Análise colorimétrica do colesterol baseia-se na transformação do colesterol esterificado em colesterol e ácidos graxos, mediada pela enzima colesterol esterase. O colesterol formado é oxidado pela enzima colesterol oxidase em colesteno-4-on-3, liberando água oxigenada, que juntamente com o fenol e amino-4-antipirina, pela ação da peroxidase, são transformados em substância cromógena e água.

Foi colocada no equipamento uma solução tampão fosfato, pH 7,00 a 0,01 mol/L, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente os soros a serem analisados.

Após a programação do equipamento, este promoveu a mistura da solução mencionada acima com os determinados soros que foram incubados por um tempo determinado à 37°C e analisados no comprimento de onda de 500 nm.

3.3.3 – Triacilgliceróis

A dosagem dos triacilgliceróis séricos foi feita por via inteiramente enzimática. A lipase degrada os triacilgliceróis em

glicerol mais ácidos graxos. O glicerol obtido reage com ATP, em presença da glicerolquinase, obtendo glicerol-3-fosfato e ADP. O glicerol-3-fosfato é oxidado a dihidroxiacetona-fosfato, pela glicerol-3-fosfato oxidase, liberando água oxigenada. A água oxigenada, juntamente com paraclorofenol e amino-4-antipirina, em presença da peroxidase, transforma-se no cromogênio (que absorve em 505 nm), liberando água.

Foi colocada no equipamento uma solução tampão, contendo as respectivas enzimas solubilizadas e separadamente os soros a serem analisados.

Após a programação do equipamento, este promoveu a mistura da solução mencionada acima com os determinados soros que foram analisados em um comprimento de onda de 505 nm.

3.3.4 - Albumina

A albumina sérica foi dosada colorimetricamente com verde de bromo cresol como indicador de pH igual a 4,2.

Foi colocada no equipamento uma solução contendo o verde de bromo cresol a 0,14g/L, tampão succinato a 75 mmol/L, Brij 35 a 7ml/L e mertiolate de sódio a 0,01% e separadamente os soros dos animais a serem analisados.

Após a programação do equipamento, este promoveu a mistura da solução mencionada acima com os determinados soros que foram analisados em um comprimento de onda de 628 nm.

3.3.5 - Creatinina

A determinação cinética da creatinina sem a desproteinização, consiste em medir o composto formado durante um minuto da reação entre a creatinina e o ácido pícrico, em meio alcalino. O composto

formado por esta reação absorve em um comprimento de onda de 492 nm.

Foi colocada no equipamento uma solução alcalina contendo 0,4 mol/L de hidróxido de sódio com 50 mmol/L de fosfato de sódio, misturado com igual volume a uma solução 8,8 mmol/L de ácido pícrico e separadamente os soros a serem analisados.

Após a programação do equipamento, este promoveu a mistura da solução mencionada acima com os determinados soros que foram incubados por um tempo determinado à 37⁰C e analisados em um comprimento de onda de 492 nm.

3.4 - Análises Histológicas

Ao final do ensaio biológico, foram sacrificados dois animais de cada grupo, escolhidos de forma casualizada, para que fosse coletado o pâncreas. Imediatamente após a coleta, os órgãos foram fixados em solução de Bouin, desidratados, diafanizados e incluídos em Paraplast Sigma.

A desidratação dos órgãos foi realizada em série crescente de álcoois, ficando por quinze minutos em cada substância e a diafanização foi obtida utilizando-se xilol. Os cortes seriados de 5µm, obtidos em micrótomo (Reichert-Jung 2045) com lâmina de aço, foram coletados individualmente em uma lâmina e corados pelo método da Hematoxilina Crômica de Gomori. As preparações histológicas foram montadas em Entellan (Merck) e analisadas em microscópio Olympus BX50.

As micrografias foram feitas com aumento de 435X em Fotomicroscópio Olympus AX-70, utilizando filme Kodacolor Gold 100 Asa.

4 - RESULTADOS BIOQUÍMICOS

4.1 - Glicose

As médias das concentrações de glicose sangüínea de coelhos, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 2.

Verifica-se que as médias de glicemia dos grupos 2 e 6 tiveram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) em relação aos demais grupos. Os níveis séricos de glicose dos grupos 2 e 6, quando comparados ao do grupo 1, tiveram um aumento de 101% e 151%, respectivamente. A concentração sangüínea de glicose do grupo 4 teve uma redução não significativa ($p > 0,05$) de 9% em relação ao grupo 1. O nível plasmático de glicose do grupo 5 não diferiu estatisticamente ($p > 0,05$) do grupo 1 e teve um percentual de aumento de 15%.

O nível plasmático de glicose do grupo 5, quando comparado ao grupo 2, teve uma redução ($p < 0,05$) igual a 43%. Apesar de haver um aumento de 24% da glicemia do grupo 6 em relação ao grupo 2, este aumento não foi estatisticamente significativo ($p > 0,05$).

O nível sérico de glicose do grupo 4 teve um aumento de 0,77% em relação ao grupo 3 ($p > 0,05$).

A glicemia do grupo 6, quando comparada ao grupo 5, teve um aumento estatisticamente significativo equivalente a 117% ($p < 0,05$).

QUADRO 2 – Glicose em mg/dL de coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante período experimental de 30 dias

Grupos	Tratamentos	Glicemia (mg/dL)
1	Controle – T0	147,02 ^a
2	Diabéticos – T0	296,18 ^b
3	Controle – T30	132,83 ^a
4	Controle morina – T30	133,86 ^a
5	Diabéticos – T30	169,50 ^c
6	Diabéticos morina – T30	368,88 ^b

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

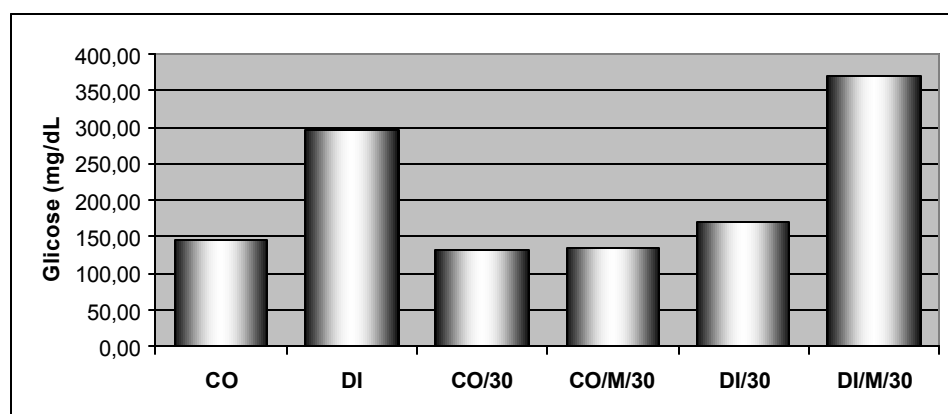


FIGURA 3 – Variação da glicemia em coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias. Co= controle, di= diabéticos, co/30= controle aos 30 dias, co/m/30= controle + morina aos 30 dias, di/30= diabéticos aos 30 dias, di/m/30= diabéticos + morina aos 30 dias

As médias das concentrações de glicose sangüíneas de coelhas, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 3.

Pela observação do quadro citado verifica-se que houve um aumento estatisticamente significativo ($p < 0,05$) da glicemia dos grupos 2 e 5 em comparação ao grupo 1. O percentual de variação para os grupos 2 e 5 foram equivalentes a 156% e 191%, respectivamente. O grupo 4 em comparação ao grupo 1 teve uma redução de 13% ($p > 0,05$). Apesar da glicemia obtida para o grupo 6 ter um valor 107% mais elevado que do grupo 1, esta diferença não foi estatisticamente significativa.

Os níveis sangüíneos de glicose dos grupos 5 e 6 não diferiram estatisticamente ($p > 0,05$) do grupo 2. Enquanto o grupo 5 teve um aumento de 113%, o grupo 6 teve uma redução de 19%. Apesar de ter ocorrido uma redução da glicemia do grupo 6 em relação ao grupo 2, esta não foi estatisticamente significativa.

O grupo 4 teve seu nível sérico de glicose reduzido em 0,96% em relação ao grupo 3 não havendo diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os valores comparados.

Pela observação dos dados verifica-se que o grupo 6 teve uma diminuição de 29% em relação ao grupo 5. Entretanto, esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$) e a redução observada não foi suficiente para atingir a faixa de normalidade de glicemia que para coelhos corresponde a valores < 180 mg/dL.

QUADRO 3 - Glicose em mg/dL de coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante período experimental de 30 dias

Grupos	Tratamentos	Glicemia (mg/dL)
1	Controle – T0	150,10 ^a
2	Diabéticos – T0	384,20 ^b
3	Controle – T30	131,60 ^a
4	Controle morina – T30	130,33 ^a
5	Diabéticos – T30	436,50 ^b
6	Diabéticos morina – T30	311,00 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

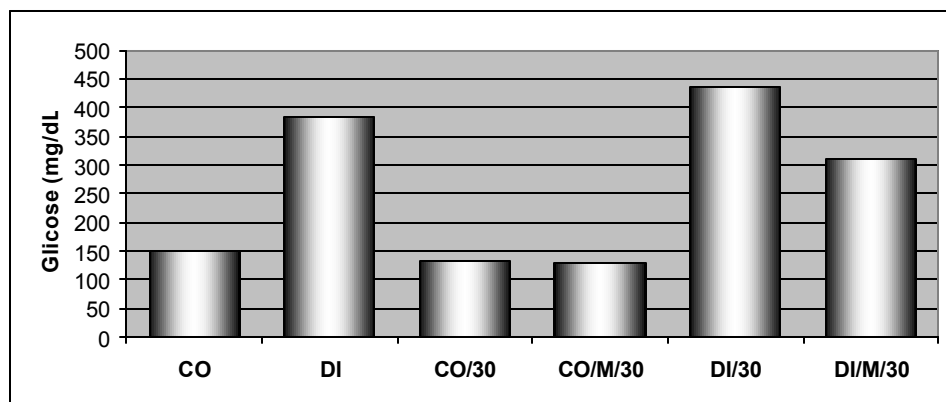


FIGURA 4 – Variação da glicemia em coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias. Co=controle, di= diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

4.2 - Colesterol

As médias das concentrações de colesterol sangüíneo de coelhos, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 4.

Não houve diferença estatisticamente significativa entre os níveis séricos de colesterol do grupo 1 e dos demais grupos. As porcentagens de variação dos grupos 2, 4, 5 e 6 em relação ao grupo 1 foram iguais a 12%, 13%, 32% e 31% respectivamente. Apenas o percentual referente ao grupo 2 não foi de redução.

Apesar de haver uma redução da concentração plasmática de colesterol dos grupos 5 e 6 em comparação ao grupo 2, estas não foram

estatisticamente significativas ($p > 0,05$). Os percentuais destas reduções foram equivalentes a 40% para o grupo 5 e 39% para o grupo 6.

O nível sérico de colesterol do grupo 4 em comparação ao do grupo 3 teve um aumento não significativo ($p > 0,05$) de 17%.

O nível sangüíneo de colesterol do grupo 6 reduziu somente 1,42% em relação ao grupo 5 não havendo diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$) entre os valores citados.

QUADRO 4 – Colesterol em mg/dL de coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante período experimental de 30 dias

Grupos	Tratamentos	Colesterol (mg/dL)
1	Controle – T0	120,63 ^a
2	Diabéticos – T0	135,73 ^a
3	Controle – T30	89,60 ^a
4	Controle morina – T30	105,08 ^a
5	Diabéticos – T30	81,93 ^a
6	Diabéticos morina – T30	83,1 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

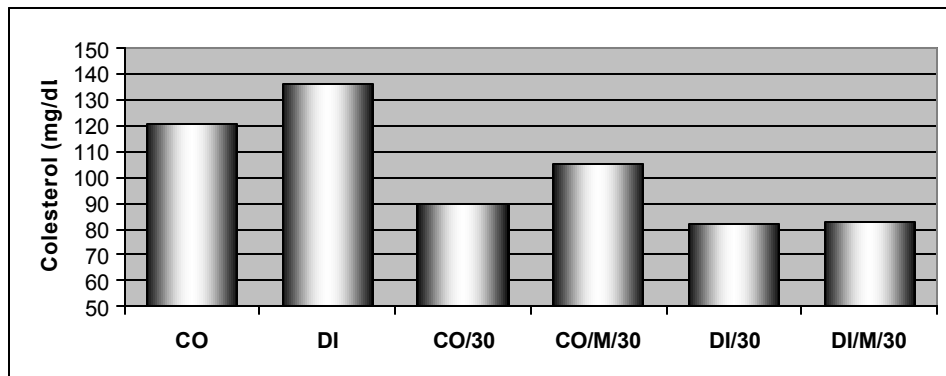


FIGURA 5 – Variação do nível sérico de colesterol em coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias. Co= controle, di= diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30=diabéticos + morina aos 30 dias

As médias das concentrações de colesterol sangüíneo de coelhas, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 5.

Apenas a concentração sangüínea de colesterol do grupo 2 diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) do valor correspondente ao grupo 1. O valor deste parâmetro para o grupo 2 foi de 304% superior a do grupo 1.

Os grupos 5 e 6 tiveram seus níveis séricos de colesterol reduzidos em comparação ao do grupo 2. As variações foram estatisticamente significativas ($p < 0,05$) e os percentuais de redução correspondentes aos grupos 5 e 6 foram iguais a 79% e 73%, respectivamente.

A concentração sangüínea de colesterol do grupo 4 reduziu apenas 1,88% em relação ao grupo 3 não havendo diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre os valores do parâmetro citado para os grupos em comparação.

Embora tenha ocorrido um aumento de 33% do nível sérico de colesterol do grupo 6 em relação ao grupo 5, esta variação não foi estatisticamente significativa ($p < 0,05$).

QUADRO 5 – Colesterol em mg/dL de coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante período experimental de 30 dias

Grupo s	Tratamentos	Colesterol (mg/dL)
1	Controle – T0	92,73 ^a
2	Diabéticos – T0	375,15 ^b
3	Controle – T30	91,11 ^a
4	Controle morina – T30	89,40 ^a
5	Diabéticos – T30	77,20 ^a
6	Diabéticos morina – T30	102,81 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

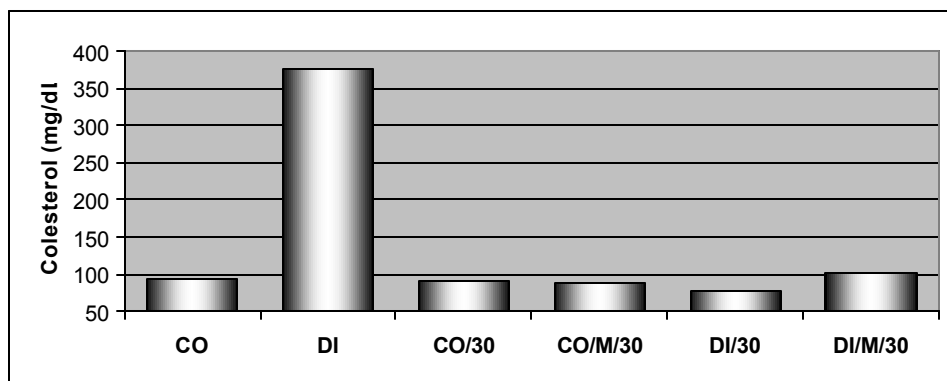


FIGURA 6 – Variação do nível sérico de colesterol em coelhas normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias. Co= controle, di= diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

4.3 - Triglicerídeos

As médias das concentrações de triglicerídeos de coelhos, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 6.

As médias dos níveis plasmáticos de triglicerídeos de todos os grupos experimentais não tiveram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Os níveis séricos de triglicerídeos dos grupos 2, 4, 5 e 6 foram reduzidos em relação ao grupo 1. Os percentuais de redução para os grupos 2, 4, 5 e 6 em relação ao grupo 1 foram os seguintes: 1,8%, 39%, 65% e 61%, respectivamente.

Os grupos 5 e 6, quando comparados ao grupo 2, tiveram seus níveis sanguíneos de triglicerídeos diminuídos em 65% e 60%, respectivamente.

O grupo 4 teve sua concentração sanguínea de triglicerídeos aumentada em 6% em relação ao grupo 3.

O nível sérico de triglicerídeo do grupo 6 aumentou 13% em comparação ao grupo 5.

QUADRO 6 – Triglicerídeos em mg/dL de coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante período experimental de 30 dias

Grupos	Tratamentos	Triglicerídeos (mg/dL))
1	Controle – T0	247,08 ^a
2	Diabéticos – T0	242,55 ^a
3	Controle – T30	140,45 ^a
4	Controle morina – T30	149,33 ^a
5	Diabéticos – T30	85,16 ^a
6	Diabéticos morina – T30	96,63 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

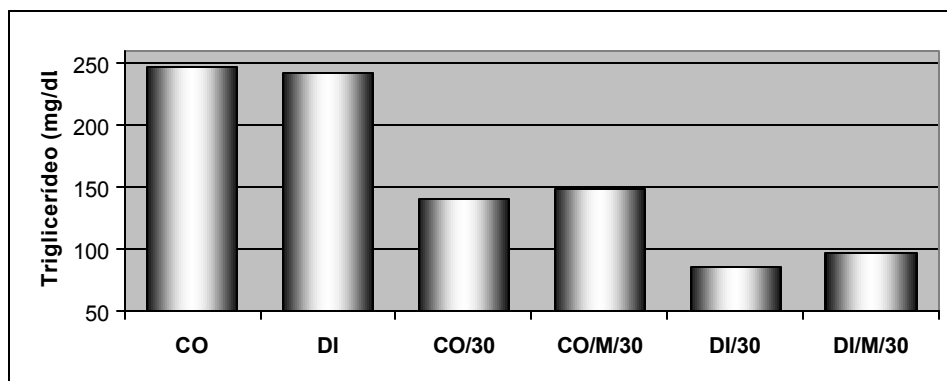


FIGURA 7 – Variação do nível sérico de triglicerídeos em coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias. Co= controle, di= diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

As médias das concentrações de triglicerídeos de coelhas, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 7.

Observa-se que somente a concentração plasmática de triglicerídeos do grupo 2 teve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparada à do grupo 1. O valor deste parâmetro referente ao grupo 2 foi 1637% superior ao do grupo 1.

Os grupos 5 e 6 tiveram seus níveis séricos de triglicerídeo reduzidos em relação ao grupo 2. Estas variações foram estatisticamente significativas ($p <$

0,05) e as porcentagens de redução do parâmetro citado para os grupos 5 e 6 correspondem a 96% e 93% respectivamente.

Pela comparação entre os níveis sangüíneos de triglicerídeos referentes aos grupos 3 e 4 pode-se observar que este diminuiu apenas 5% em relação àquele e que esta diferença não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

Houve um aumento de 77% da concentração plasmática de triglicerídeo do grupo 6 em relação ao grupo 5. Entretanto, esta variação não foi estatisticamente significativa ($p>0,05$).

QUADRO 7 – Triglicerídeos em mg/dL de coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante período experimental de 30 dias

Grupos	Tratamentos	Triglicerídeo (mg/Dl)
1	Controle – T0	136,08 ^a
2	Diabéticos – T0	2363,70 ^b
3	Controle – T30	97,53 ^a
4	Controle morina – T30	92,90 ^a
5	Diabéticos – T30	98,41 ^a
6	Diabéticos morina – T30	174,06 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p<0,05$)

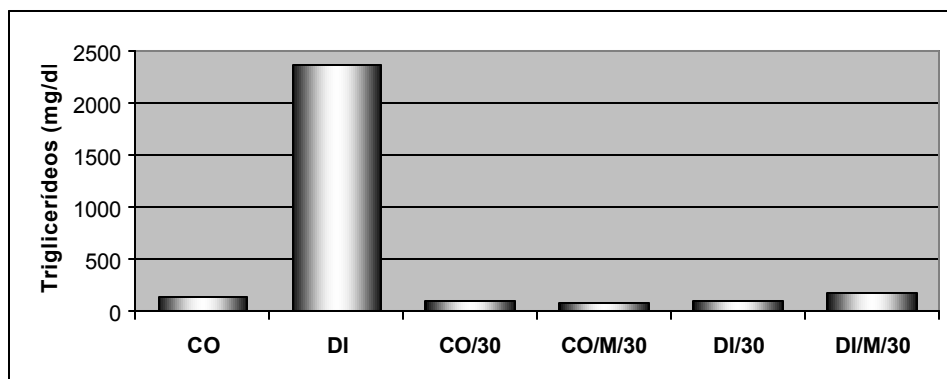


FIGURA 8 – Variação do nível sérico de triglicerídeos em coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias. Co= controle, di= diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

4.4 - Albumina

As concentrações médias de albumina de coelhos, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 8.

Não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre as concentrações sangüíneas de albumina do grupo 1 e dos demais grupos. As porcentagens de variação de albuminemia dos grupos 2, 4, 5 e 6 em relação ao grupo 1 foram iguais a 5%, 7%, 4% e 4% respectivamente sendo que para o

grupo 2 houve redução do parâmetro em análise e para os grupos 4, 5 e 6 houve aumento.

Os níveis séricos de albumina dos grupos 5 e 6 tiveram um aumento estatisticamente não significativo ($p>0,05$) de 4% em relação ao grupo 2.

A concentração plasmática de albumina do grupo 4 teve uma redução estatisticamente não significativa ($p>0,05$) de 2,5% em comparação ao grupo 3.

Os níveis séricos de albumina dos grupos 5 e 6 tiveram uma variação de apenas 0,03%.

QUADRO 8 – Albumina em mg/dL de coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante período experimental de 30 dias

Grupos	Tratamentos	Albumina (mg/dL)
1	Controle – T0	4,51 ^a
2	Diabéticos – T0	4,29 ^a
3	Controle – T30	4,98 ^a
4	Controle morina – T30	4,85 ^a
5	Diabéticos – T30	4,69 ^a
6	Diabéticos morina – T30	4,69 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p<0,05$)

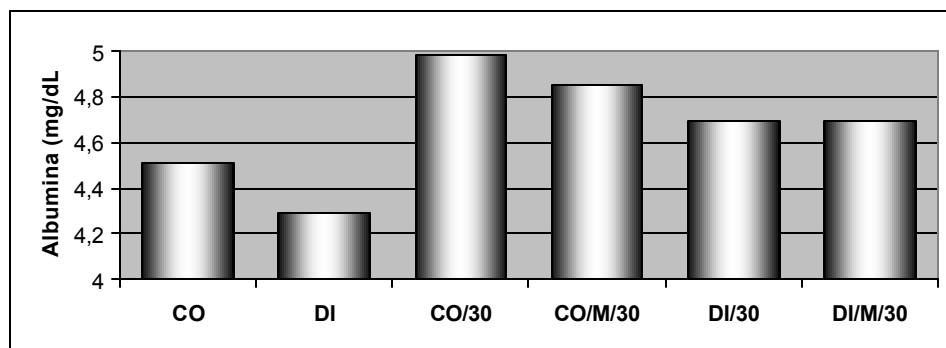


FIGURA 9 – Variação do nível sérico de albumina em coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias. Co=controle, di=diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

As concentrações médias de albumina de coelhas, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 9.

Assim como os machos, as fêmeas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os valores de albuminemia do grupo 1 e dos demais grupos. As variações dos níveis sanguíneos de albumina dos grupos 2, 4, 5 e 6 em relação ao grupo 1 não foram estatisticamente significativas ($p > 0,05$) sendo que para os grupos 2, 5 e 6 houve uma redução de 9%, 5% e 0,6% respectivamente e para o grupo 4 ocorreu um aumento de 5%.

Da mesma forma que para os machos, não se observa diferença estatisticamente significativa ($p <$

0,05) quando os valores de albuminemia dos grupos 5 e 6 são comparados ao do grupo 2 nem mesmo quando estes valores são comparados entre si. Os grupos 5 e 6 tiveram aumentos de 5% e 10% nos níveis séricos de albumina em relação ao grupo 2. O parâmetro citado teve um aumento de 5% no valor referente ao grupo 6 em relação ao grupo 5.

O nível plasmático de albumina do grupo 4 teve uma redução estatisticamente não significativa ($p > 0,05$) de 9% em relação ao grupo 3.

QUADRO 9 – Albumina em mg/dL de coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante período experimental de 30 dias

Grupo s	Tratamentos	Albumina (mg/dL)
1	Controle – T0	4,79 ^a
2	Diabéticos – T0	4,34 ^a
3	Controle – T30	5,20 ^a
4	Controle morina – T30	5,02 ^a
5	Diabéticos – T30	4,55 ^a
6	Diabéticos morina – T30	4,76 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

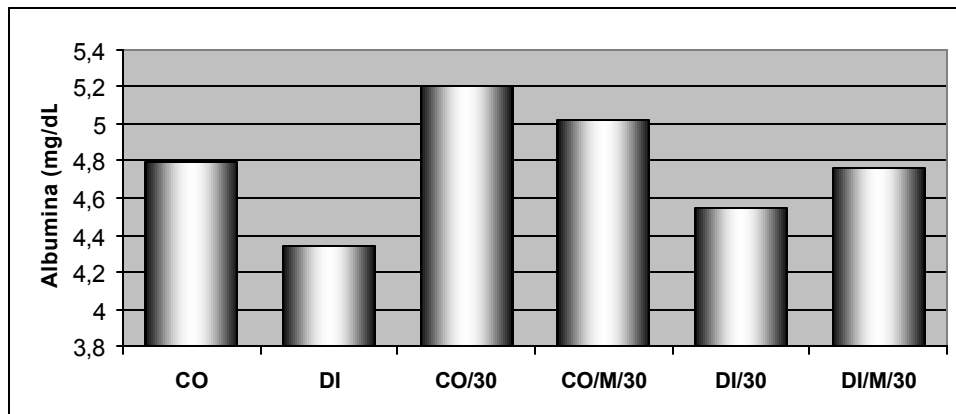


FIGURA 10 – Variação do nível sérico de albumina em coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias. Co= controle, di= diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias. di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

4.5 - Creatinina

As concentrações médias de creatinina de coelhos machos, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 10.

Os níveis séricos de creatinina de todos os grupos experimentais não tiveram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) quando comparados entre si. As concentrações séricas de creatinina dos grupos 2, 4, 5 e 6 foram 17%, 20%, 13% e 7% menores que o valor referente ao grupo 1.

Os grupos 5 e 6 tiveram seus níveis sanguíneos de creatinina aumentados em 4% e 12% em relação ao grupo 2.

Houve uma redução de 24% no nível sérico de creatinina do grupo 4 em comparação ao grupo 3.

Pode-se observar um aumento de 8% da concentração plasmática de creatinina do grupo 6 em relação ao grupo 5.

QUADRO 10 – Creatinina em mg/dL de coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante período experimental de 30 dias

Grupos	Tratamentos	Creatinina (mg/dL)
1	Controle – T0	1,20 ^a
2	Diabéticos – T0	1,00 ^a
3	Controle – T30	1,26 ^a
4	Controle morina – T30	0,96 ^a
5	Diabéticos – T30	1,04 ^a
6	Diabéticos morina – T30	1,12 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

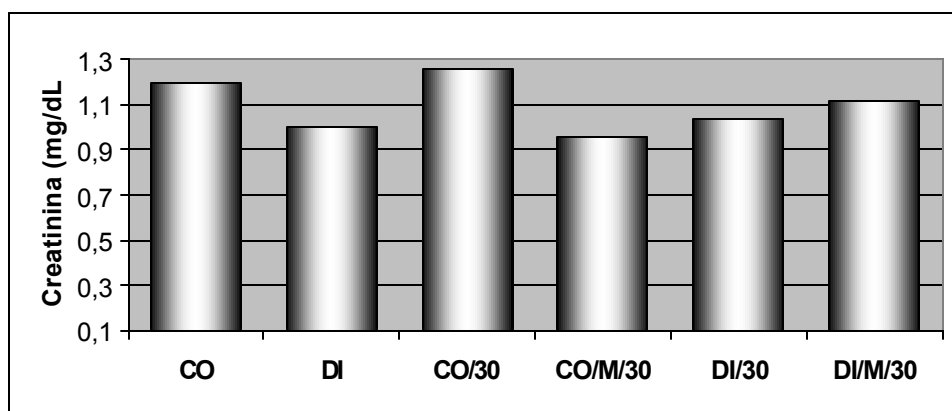


FIGURA 11 – Variação do nível sérico de creatinina em coelhos, normais e diabéticos, tratados com morina durante o período experimental de 30 dias. Co=controle, di=diabéticos, co/T30= controle aos 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

As concentrações médias de creatinina de coelhas, obtidas durante o período experimental de 30 dias, estão dispostas no quadro 11.

Assim como os machos, as fêmeas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os níveis séricos de creatinina de todos os grupos experimentais quando estes foram comparados entre si. As concentrações séricas de creatinina dos grupos 2, 4, 5 e 6 foram 20%, 12%, 10% e 11% menores que o valor referente ao grupo 1.

Pode-se observar que os níveis séricos de creatinina dos grupos 5 e 6 tiveram aumentos de 13%

e 12% respectivamente quando comparados ao do grupo 2.

O grupo 4 em comparação ao grupo 3 teve seu nível sangüíneo de creatinina aumentado em 10%.

A variação entre o valor de creatinina sérica do grupo 6 em relação ao grupo 5 corresponde a uma redução de apenas 0,8%.

QUADRO 11 – Creatinina em mg/dL de coelhas, normais e diabéticas, tratadas com morina durante período experimental de 30 dias

Grupo s	Tratamentos	Creatinina (mg/dL)
1	Controle – T0	1,27 ^a
2	Diabéticos – T0	1,01 ^a
3	Controle – T30	1,02 ^a
4	Controle morina – T30	1,12 ^a
5	Diabéticos – T30	1,14 ^a
6	Diabéticos morina – T30	1,13 ^a

Letras diferentes na coluna representam valores estatisticamente significativos pelo teste de Newman-Keuls ($p < 0,05$)

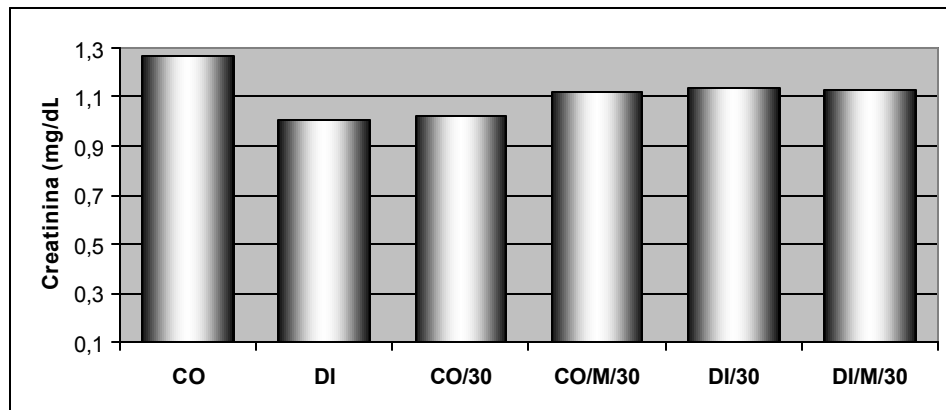


FIGURA 12 – Variação da creatinina em coelhas normais e diabéticas, tratadas com morina durante o período experimental de 30 dias. Co= controle, di= diabéticos, co/T30= controle 30 dias, co/m/T30= controle + morina aos 30 dias, di/T30= diabéticos aos 30 dias, di/m/T30= diabéticos + morina aos 30 dias

4.6 - Peso

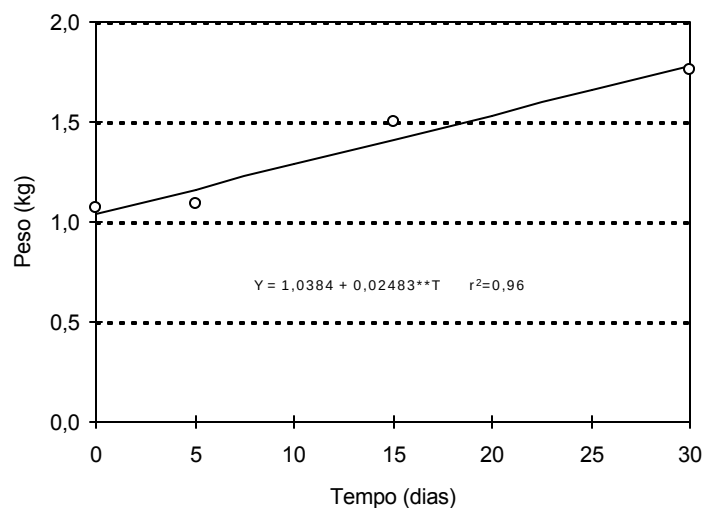


FIGURA 13 – Peso de coelhos submetidos a diferentes dietas, em função do tempo

5 – DISCUSSÃO DOS RESULTADOS BIOQUÍMICOS

5.1 - Glicose

Em relação aos coelhos, os aumentos ($p < 0,05$) das médias glicêmicas dos grupos 2 e 6 em relação à média correspondente ao grupo 1 indicam que a dosagem de aloxano empregada (100 mg/kg de peso corporal) foi suficiente para se obter indução de diabetes mellitus.

LIBERATO (2001) observou que doses de aloxano entre 90 e 105 mg/kg de peso corporal induziram diabetes em semelhantes percentagens de coelhos, causaram menor mortalidade e resistência a esta droga, sendo então indicadas para indução de diabetes em coelhos em vez da utilização de doses mais elevadas.

Considerando que a redução de glicemia do grupo 4 em relação aos grupos 1 e 3 não foi significativa ($p > 0,05$) e que, além disto, foi menor que a redução

correspondente observada para o grupo 3, verifica-se que este efeito não é devido à ação do flavonóide morina embora ONUNKWO (1996) tenha feito estudo com extrato de folhas de *Bridelia ferruginea*, cuja composição contém o flavonol rutina, e constatou uma redução de glicemia de 40% em coelhos saudáveis tratados com este extrato.

Durante o período experimental observou-se que houve uma redução glicêmica ($p < 0,05$) para o grupo 5 e um aumento ($p > 0,05$) deste parâmetro para o grupo 6, quando comparados à glicemia do grupo 2. Adicionalmente, pode-se observar um aumento ($p < 0,05$) do nível sérico de glicose do grupo 6 em comparação ao do grupo 5. Estas análises evidenciam que a morina não tem efeito hipoglicemiante em coelhos diabéticos.

Conforme estudo realizado por ODETTI et. al. (1990) ratos diabéticos tratados com rutina, que é um flavonóide da mesma classe da morina, não tiveram alteração no nível de glicose sanguínea. VERTOMMEN et al. (1994), pesquisaram o efeito hipoglicemiante do flavonóide diosmina em fêmeas de ratos da raça Wistar com diabetes mellitus induzida

por estreptozotocina. O grupo diabético tratado recebeu doses de diosmina de 70mg/kg de peso corporal, diariamente, durante oito meses. Verificou-se que a substância testada não influenciou a glicemia.

O efeito do flavonóide naringenina foi testado em coelhos diabéticos administrando-se cápsulas de 20 mg/dia, durante 29 dias. Após analisar a glicemia destes animais ao 8º, 15º, 22º e 29º dias, verificou-se que a naringenina exerceu redução glicêmica não significativa ($p > 0,05$) (LIBERATO, 2001).

O efeito hipoglicêmico dos flavonóides eriocitrina e hesperidina, extraídos de limão, bem como o extrato bruto de flavonóides do suco de limão, foram testados em ratos diabéticos durante 28 dias. Um grupo de animais recebeu dieta contendo 0,2% do extrato de flavonóides, outro grupo recebeu dieta contendo 0,2% de eriocitrina e um terceiro grupo recebeu 0,2% de hesperidina acrescido à dieta. Os flavonóides empregados neste estudo apresentaram resultado negativo quanto ao efeito testado.

O flavonóide diosmina, extraído de cebola e adicionado à dieta de ratos diabéticos por semanas ou

meses, não influenciou a glicemia (BABU e SRINIVASAN, 1997).

Por outro lado, AHMAD et al. (2000), considerando relatos sobre a atividade antidiabética da planta *Cuminum nigrum*, fizeram um estudo em coelhos para testar o efeito desta espécie sobre a glicemia. A indução de diabetes em coelhos foi feita também pela aplicação de aloxano. Através da análise fitoquímica da semente de *Cuminum nigrum* foi constatado que seu extrato contém 8% de flavonóides. A administração via oral do conteúdo de flavonóides desta planta, em dosagens que variaram entre 0,5 a 1,5 g/kg de peso corporal, teve efeito hipoglicemiante tanto em coelhos normais quanto diabéticos. Este efeito iniciou duas horas após a administração da droga alcançando seu pico de ação quatro a oito horas depois de sua administração. A glicemia retornou aos valores normais após 24 horas da administração da droga.

Quanto às fêmeas, apenas a média de glicemia do grupo 2 teve um aumento estatisticamente significativo em relação ao valor do grupo 1. Embora a diferença entre o nível sérico de glicose do grupo 6

em relação ao do grupo 1 não seja significativa ($p > 0,05$), seu valor está acima da faixa de normalidade glicêmica para coelhos ($< 180 \text{ mg/dL}$).

Da mesma forma que os machos, as fêmeas do grupo 4 não tiveram redução significativa ($p > 0,05$) de sua concentração sangüínea de glicose em relação à do grupo 1. Diferente dos machos, as fêmeas do grupo 4 tiveram seu nível plasmático de glicose aumentado em comparação ao do grupo 3 mas esta variação também não foi significativa ($p > 0,05$) evidenciando que a morina não teve nenhum efeito significativo sobre a glicemia de coelhos normais.

Os grupos 5 e 6, quando comparados ao grupo 2 e quando comparados entre si, tiveram variações de glicemia não significativas ($p > 0,05$). Com base nestes resultados, observa-se que a morina não teve efeito hipoglicêmico em coelhas diabéticas.

O efeito hipoglicemiante de uma flavona 5,7,3'-trihidroxi-3,6,4'-trimetoxiflavona, extraída de folhas de *Brickellia veronicaefolia*, foi testado em macacos sadios e diabéticos em doses de 10, 25 e 50 mg/kg de peso corporal. Foi verificado efeito hipoglicemiante significativo em animais sadios e diabéticos (PEREZ, 2000).

ZARZUELO et al. (1996) relatam que o vegetal *Salvia lavandulifolia* é usado pela medicina popular como agente hipoglicemiante. Esta propriedade foi confirmada por estudos laboratoriais controlados. Estudos prévios constataram a ocorrência

de hiperplasia pancreática em ratos saudáveis e ratos diabéticos (indução por estreptozotocina) que haviam recebido, por um mês, extrato da planta citada. O 5-rutinosil-luteolina, quando administrado na dosagem de 2 mg/kg associado a glibenclamida com dose de 1 mg/kg de peso corporal, durante 20 dias, causou redução de 50% da glicemia. Quando o 5-rutinosil-luteolina foi administrado sozinho, na dose de 2 mg/kg de peso corpóreo, causou aumento do nível plasmático de insulina, do conteúdo de DNA no pâncreas, do peso corporal e do peso pancreático dos animais tratados em relação ao grupo controle.

SFAKIANOS et al. (1997) verificaram que a tirosina quinase é capaz de se ligar a receptores insulínicos formando um complexo com atividade semelhante à da proteína quinase na fosforilação de proteínas. A genisteína, um potente inibidor da tirosina quinase (SFAKIANOS, 1997, SORENSON, 1994), aumentou a liberação de insulina (SORENSON, 1994). JONAS et al. (1995), ao pesquisarem o efeito da genisteína em camundongos, observaram que esta substância causou aumento na secreção de insulina pelas células β pancreáticas de forma reversível e dependente da concentração. A quercetina, que é da mesma classe da morina, aumentou a captação de cálcio de células de ilhotas isoladas e estimulou a liberação de insulina (FORMICA, 1995). GEE (1998) sugere uma interação da quercetina com receptores de transportadores de glicose presentes na membrana de enterócitos do intestino delgado, reduzindo a absorção de glicose.

Em um estudo realizado por KIAN (2000) foi observado que ratos diabéticos tratados com 3mg/12 h de miricetina, durante dois dias, tiveram uma redução de 50% da glicemia.

5.2 - Colesterol

Embora as diferenças observadas entre os grupos experimentais tenham variado de 1% a 40%, nenhuma destas foi significativa ($p > 0,05$). A menor redução foi observada entre o nível plasmático de colesterol do grupo 6 em relação ao grupo 5 e a maior entre o grupo 5 em relação ao grupo 2.

Estes dados discordam dos obtidos por BOK et al. (1999) em um estudo onde foram testados os efeitos farmacológicos do extrato de mexerica e de uma mistura de dois flavonóides de frutas cítricas sobre o colesterol sangüíneo. A hipercolesterolemia foi induzida em ratos machos com uma dieta de 1g de colesterol/100g de peso corporal, durante 42 dias, com suplemento de extrato de mexerica ou uma mistura de naringenina e hesperidina, com dosagem igual a 0,5g/100g. Neste estudo observou-se que o extrato de casca de mexerica e mistura dos flavonóides reduziram significativamente os níveis plasmáticos de colesterol, colesterol hepático e triglicerídeos hepáticos dos grupos experimentais em comparação com o controle.

KOSHY et al. (2001) pesquisaram o efeito hipocolesterolêmico do fitoterápico *Garcinia cambogia*, administrando flavonóides desta planta em uma dose de 1mg/100g de peso corporal a um grupo de ratos que recebeu dieta normal e outro com dieta contendo colesterol. Pela análise dos resultados obtidos verificou-se uma diminuição significativa nas taxas de lipídeos sangüíneos. Os níveis de β -hidroxi β -metilglutaril coenzima A redutase (HMG-CoA-redutase) e a atividade da glicose-6-fosfatase desidrogenase e isocitrato desidrogenase foram reduzidas significativamente. Também foi observado que, nos animais tratados com esses flavonóides, houve um estímulo expressivo da atividade das enzimas lipase lipoprotéica

(LLP) e lecitina acil transferase (LCAT). Estes animais apresentaram um aumento dos níveis de ácidos biliares hepáticos e fecais e de esteróis neutros fecais.

Em relação às fêmeas, observa-se hipercolesterolemia significativa do grupo 2 em relação ao grupo 1. Embora tenha ocorrido redução do nível plasmático de colesterol dos grupos 3 e 4 em relação ao grupo 1, sendo a diferença do grupo 4 maior que a do grupo 3, e redução do grupo 4 em relação ao grupo 3, nenhuma destas variações foi significativa e portanto, a morina não teve efeito sobre as reduções deste parâmetro.

Apesar de haver redução significativa do nível plasmático de colesterol do grupo 6 em relação ao grupo 2, esta redução não se deve à ação da morina uma vez que o grupo 5 também teve redução significativa do parâmetro citado e, além disto, o grupo 6 teve um aumento ($p > 0,05$) do nível sérico de colesterol. Com base nestas considerações, verifica-se que a morina não teve efeito hipocolesterolêmico em coelhas diabéticas.

KUROWSKA et al., 1997, Mcanlis et al., 1998, citados por LIBERATO, 2001, também não observaram alteração nos níveis séricos de colesterol

e triglicerídeos de humanos, ratos ou camundongos, com hipercolesterolemia ou diabetes mellitus, tratados, durante 1 ou 12 semanas, com suco ou flavonóides de uva ou com chá preto (*Camellia sinensis*).

Porém, em estudo feito por WILCOX et al. (2000), verificou-se que a naringenina e hesperidina reduziram o colesterol plasmático “in vivo”. O mecanismo pelo qual estes flavonóides modulam a secreção de apo B e a homeostase celular de colesterol foi determinado em uma linhagem de células de hepatoma humano (HepG2). O acúmulo de apo B na camada média diminuiu após um período de incubação de 24 horas com a naringenina (redução de até 82% $p < 0,00001$) ou hesperidina (redução de até 74% $p < 0,002$) mostrando ser dose dependente. Um decréscimo da secreção de apo B foi associado com redução de éster de colesterila nos hepatócitos. A esterificação do colesterol foi reduzida em até 84% ($p < 0,0001$) a uma concentração de flavonóides de 200 μM . A naringenina e hesperidina diminuíram a disponibilidade de lipídeos para a formação de lipoproteína contendo apo B. Este efeito é mediado

pela redução da atividade da ACAT1 (acil colesterol transferase), ACAT2 e MTP (proteína microssomal de transporte de triglicerídeos), decréscimo da expressão da ACAT2. Aliado a um aumento na expressão do receptor de LDL, esse efeito explica a atividade hipocolesterolêmica dos flavonóides citados. A apo B participa da composição dos quilomicrons, e das lipoproteínas VLDL, IDL, LDL. As lipoproteínas estão sendo consideradas como fatores de risco, e conforme correlação, a apoB é um fator direto para doenças cardiovasculares (MARTINEZ et al., 1997).

MIYAKE et al. (1998) relataram efeitos de flavonóides extraídos de frutos cítricos na prevenção do estresse oxidativo em ratos diabéticos. A eriocitrina e a hesperidina foram testadas na dose de 0,2%. Esse mecanismo de ação é importante uma vez que, no organismo diabético não tratado, ocorrem reações de oxidação de proteínas e lipídeos que podem causar lesão tecidual. O estresse oxidativo está relacionado com as complicações diabéticas. O aumento na produção de radicais livres pode resultar na hiperglicemia induzida pela autooxidação da glicose, e também na glicosilação de proteínas e subsequente

degradação das mesmas. Estes flavonóides também têm efeito aumentando a atividade de enzimas superóxido dismutase, xantina oxidase e catalase mostrando o mecanismo de ação de flavonóides sobre enzimas antioxidantes em diabéticos. A superóxido dismutase é encontrada na mitocôndria, acelera a degradação do radical superóxido a peróxido de hidrogênio e este, por sua vez, é degradado pela catalase em água e hidrogênio. A glutathione peroxidase inativa o peróxido de hidrogênio e alguns peróxidos lipídicos (MARTINEZ et al., 1997).

A hipercolesterolemia está relacionada ao aumento do número de partículas de LDL cuja atividade consiste em transportar colesterol do fígado aos tecidos periféricos. KIRK et al. (1998) verificaram em ratos que a administração dos flavonóides genisteína (0,027g/100g) e dadzeína (0,009g/100g) mostraram um potente efeito ativador sobre os receptores de LDL. A lipoproteína LDL ao se ligar a seus receptores hepáticos, sofre degradação lisossomal causando decréscimo da síntese de HMG-CoA-redutase (enzima da rota sintética do colesterol) e aumento da atividade da ACAT. Logo, a ativação de

receptores de LDL contribui para redução do nível plasmático de colesterol.

YUSUKE et al., 2000, com base na menor incidência de doenças cardiovasculares entre mulheres japoneses comparadas a mulheres de outras nacionalidades, pesquisaram a relação entre os flavonóides que compõe a dieta japonesa e seu efeito hipolipidêmico. A amostra foi composta por 115 voluntárias, com idade entre 29 a 78 anos, habitantes da região Norte. Todas as participantes foram submetidas à avaliação médica e preencheram um registro sobre recordatório alimentar de três dias através do qual verificou-se que a média da ingestão diária de flavonóis, flavonas era igual a 16,7mg e de isoflavonas era igual a 47,2mg. A principal fonte de flavonóis e flavonas era cebola e de isoflavonas o tofu (massa feita de soja). A ingestão total de flavonóides foi inversamente correlacionada com o nível de colesterol total plasmático ($p < 0,05$) e concentração sérica de LDL-c ($p < 0,05$). O consumo de quercetina foi inversamente correlacionado com o nível de colesterol total plasmático ($p < 0,01$) e concentração sérica de LDL-c ($p < 0,01$).

5.3 - Triglicerídeos

As variações das concentrações de triglicerídeos entre os grupos experimentais de machos não foram significativas ($p > 0,05$). Quanto às fêmeas, embora tenha ocorrido uma redução de 93% ($p < 0,05$) do nível plasmático de triglicerídeos do grupo 6 em comparação ao grupo 2, também houve redução de 96% ($p < 0,05$) do valor correspondente ao grupo 5 em relação ao do grupo 2. Além disto, este parâmetro teve um aumento ($p < 0,05$) de 77% para o valor do grupo 6 em comparação ao do grupo 5. Diante destas considerações, verifica-se que as variações observadas são decorrentes de um mecanismo adaptativo dos animais que compõe estes grupos e não devido à ação da morina.

GOMES (1998) testou três doses de morina (5, 10 e 15 mg) em ratos com dislipidemia e verificou que a dose de 5,0 mg foi suficiente para uma considerável percentagem de redução no nível de triacilgliceróis. Nesse mesmo estudo, foi testado o efeito desse flavonóide sobre a atividade da lipase, mostrando que essa enzima teve sua atividade aumentada.

YUGARANI et al. (1992) realizaram estudo com ratos alimentados com dieta rica em gordura, suplementados com quercetina e morina durante quatro, sete e dez semanas. Na sétima semana, a morina reduziu significativamente os triacilgliceróis plasmáticos em 65% e a gordura do fígado, enquanto que na décima semana houve redução do colesterol total e do LDL em 31% e 29%, respectivamente. As concentrações de HDL foram aumentadas em 47% na quarta semana mas não tiveram efeito na sétima e décima semanas. Os animais tratados com quercetina não tiveram diferença significativa dos níveis séricos de triacilgliceróis, colesterol total e gordura hepática na quarta, sétima e décima semana respectivamente.

De acordo com KIRK et al. (1998), os flavonóides ativam os receptores de LDL que contém em sua estrutura 7-10% de triglicerídeos contribuindo desta forma para redução da trigliceridemia.

Achillea Wilhelmsii C. Koch (Asteraceae) é uma planta encontrada em diferentes partes do Iran. Ela é rica em flavonóides e sesquiterpenos lactonas com efetiva capacidade de reduzir níveis séricos de lipídeos e hipertensão. Foi conduzido um estudo para verificar os efeitos antihiperlipidêmico e antihipertensivo do extrato de *Achillea*. Foram selecionados, de forma casualizada, 120 homens e mulheres, na faixa etária entre 40-60 anos, os quais foram distribuídos em dois grupos distintos de indivíduos com hiperlipidemia moderada e hipertensão. Eles foram tratados com extrato hidroalcólico ou com placebo fornecidos em 15-20 gotas, duas vezes ao dia, por mais de seis meses. A

pressão arterial e lipídios séricos (colesterol total, triacilgliceróis, LDL e HDL) foram medidos em três períodos de dois meses cada. A média e o desvio-padrão nas alterações nestas variáveis referentes ao grupo que recebeu placebo e o grupo tratado foram calculados pelo teste t. Student's. A análise dos resultados mostrou significativa redução nos triacilgliceróis após dois meses. Após quatro meses, houve diminuição significativa de triacilgliceróis, colesterol total e LDL. Os níveis plasmáticos de HDL tiveram significativamente aumentados após seis meses de tratamento. Também foi observada uma redução significativa na pressão arterial sistólica e diastólica após dois e seis meses, respectivamente ($p < 0,05$) (ASGARY et al., 2000). Choi et al. (1991) citado por VALENTE (1998) relatam que a catequina isolada da planta *Prunus davidiana*, testada em ratos com hiperlipidemia induzida por dieta, causou redução significativa dos níveis séricos de triglicerídeos.

5.4 - Albumina

As variações dos níveis séricos de albumina observadas entre os grupos 4 e 6 em relação ao do grupo 1, do grupo 4 em relação aos grupos 1 e 3, dos

grupos 5 e 6 em relação ao grupo 2 e a variação do parâmetro analisado entre os grupos 5 e 6 não foram significativas ($p > 0,05$).

Considerando que os níveis séricos de albumina dos grupos 3 e 4 tiveram aumentos de valores muito próximos e que esta variação foi maior no grupo 3, pode-se observar que a morina não teve efeito sobre os níveis plasmáticos de albumina em coelhos normais. A mesma relação foi observada para os animais diabéticos pois não houve variação das concentrações séricas de albumina entre os grupos 5 e 6. Logo, verifica-se que as variações analisadas quanto a este parâmetro não estão relacionadas à ação da morina.

Em relação às fêmeas, através das mesmas comparações feitas para os grupos experimentais, quanto às concentrações sangüíneas de albumina, observa-se que a morina não exerceu nenhum efeito sobre esse parâmetro.

Em pacientes diabéticos os capilares tornam-se mais permeáveis a albumina (VALENSI et al., 1996). A glicosilação não enzimática de proteínas é uma reação oxidativa que é induzida e prorrogada pela hiperglicemia. Algumas proteínas são suscetíveis a esta reação e, após adquirirem a forma glicosilada, causam dano celular gerando as complicações diabéticas. Neste grupo de

proteínas está albumina, proteínas do cristalino, proteína da membrana celular da hemoglobina, colágeno e proteína miócina básica do nervo (ASGARY, 1999). As proteínas glicosiladas depositam nos tecidos aumentando a permeabilidade vascular (LEHMANN, 2000).

Em estudo feito por VALENSI et al. (1996) foi observado que 55% dos ratos diabéticos tratados com uma mistura de flavonóides (Daflon 500) contendo 90% de diosmina e 10% de hesperidina não apresentaram aumento da permeabilidade capilar. Considerando que a reação citada é oxidativa, foi testado “in vitro” o efeito antioxidante dos flavonóides rutina, quercetina e kaempferol em diferentes concentrações visando prevenir o desenvolvimento das complicações diabéticas. O efeito preventivo dos flavonóides sobre a glicosilação da hemoglobina em concentrações iguais a 0,5; 5,0 e 10,0 g/ml foram estimados em 11%, 27% e 42% para rutina; 3%, 37% e 52% para a quercetina e 10%, 12% e 15% para o kaempferol, respectivamente (ASGARY, 1999).

Estudos realizados com os flavonóides quercetina, morina, miricetina, kaempferol, ácido elágico e ácido tânico comprovam que eles possuem pronunciada atividade antioxidante (RICARDO, 1999). Os grupamentos hidroxila em carbonos 3 e 5, como ocorre na morina e quercetina, e carbonila formam quelatos com íons ferro. A habilidade dos flavonóides em seqüestrar íons metálicos contribui para suas propriedades antiperoxidativas, prevenindo a formação de radicais livres (Affana's et al., 1989 e Mora et al., 1990 citados por LIMA, 2001).

ZHU-QIN-YAN et al. (2000) testaram os flavonóides (kaempferol, morina, miricetina e quercetina) com objetivo de verificar qual seria capaz de proteger ou regenerar alfa-tocoferol em LDL de humanos. A oxidação da LDL incubada em tampão de fosfato de sódio (pH 7.4, 10mM) foi iniciada pela adição de 5.0 mM de CuSO₄ a 37° C. Sob as mesmas condições, os quatro flavonóides

demonstraram ter atividade protetora contra a depleção do alfa-tocoferol em LDL, sendo que kaempferol e morina foram menos efetivos do que miricetina e quercetina. A adição de flavonóides à mistura incubada, após cinco minutos, ocasionou significativa regeneração do alfa-tocoferol em LDL. A atividade protetora dos quatro flavonóides citados sobre a LDL está relacionada ao número e localização de grupos hidroxil no anel B e também devido à estabilidade em tampão de fosfato de sódio. Considerando as atividades antioxidantes destes compostos, sugere-se o uso deles na prevenção de outras reações de oxidação.

BABU e SRINIVASAN (1997) trataram ratos diabéticos com dieta contendo 3% de cebola e observaram um aumento na albuminemia e uremia sugerindo um menor grau de catabolismo e menor concentração de creatinina plasmática. A quercetina, um flavonol presente na cebola, aumentou a captação de Ca^{+2} de células de ilhotas isoladas e estimulou a secreção de insulina. Este hormônio facilita o transporte de aminoácidos para as células evitando o catabolismo protéico (MARZZOCO e TORRES, 1999).

5.5 - Creatinina

Nenhuma diferença significativa ($p < 0,05$) foi observada nos níveis séricos de creatinina de todos os grupos experimentais quando comparados entre si. Assim como os machos, as fêmeas não apresentaram diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$) entre os níveis séricos de creatinina de todos os grupos experimentais quando estes foram comparados

entre si. Portanto, a morina não teve efeito sobre os níveis plasmáticos de creatinina de coelhos normais ou diabéticos, de ambos os sexos.

Como o organismo diabético não produz insulina ou tem redução na sensibilidade das células-alvo à ação deste hormônio, a deficiência de um nível plasmático de insulina para atuar em níveis fisiológicos gera catabolismo protéico. Por isto, são comuns valores elevados de uréia, creatinina e ácido úrico em diabéticos.

São comuns valores elevados de uréia, creatinina e ácido úrico em pacientes diabéticos mesmo na ausência de insuficiência renal pois sua concentração plasmática é interpretada como taxa de filtração glomerular (ALMEIDA, 1997). Os aminoácidos são desaminados e a parte não nitrogenada da molécula forma glicose e ácidos graxos. Isso leva ao aumento da glicose e ácidos graxos parcialmente oxidados no sangue além do aumento na excreção de nitrogênio na urina (MARZZOCO e TORRES, 1999).

Em um experimento realizado por BABU e SRINIVASAN (1997) foi verificado que ratos diabéticos tratados com dieta contendo 3% de cebola apresentaram maior concentração de albumina e uréia plasmática sugerindo um menor grau de catabolismo e redução da concentração de creatinina plasmática.

Flavonóides têm capacidade de ligação a receptores de enzimas envolvidas na regulação dos níveis de hormônios esteróides agindo como competidores dos receptores destes hormônios. A adrenalina é um hormônio esteróide antagonista da insulina cuja ação estimula lipólise e proteólise (BAKER, 1995). Diante dessas considerações, sugere-se que a administração de um agente competidor da adrenalina pode reduzir os efeitos deste hormônio e favorecer a ação insulínica reduzindo o catabolismo protéico e lipídico.

5.6 - Peso

O peso dos animais , de ambos os sexos, submetidos a diferentes dietas, teve aumento significativo somente quanto ao fator tempo. O tratamento de ratos diabéticos com diosmina (VERTOMMEN et al., 1994, BABU e SRINIVASAN, 1997), 0,2% de extrato de citrus, eriocitrina (0,2%) ou hesperidina (0,2%) (MYIAKE et al., 1998) não afetou o ganho de peso. Em trabalho desenvolvido por ODETTI et al., 1990, no qual ratos diabéticos foram tratados com o flavonóide rutina, que é da mesma classe da morina, foi constatado que, durante o estudo, ratos diabéticos tratados e não tratados tiveram baixo ganho de peso quando comparados aos animais do grupo controle. FRINHANI, 1998 pesquisou o efeito do extrato antociânico de uvas roxas e *Tradescantia pallida* sobre o ganho de peso em ratos da raça Wistar normais e diabéticos, durante 21 dias, com determinações semanais do parâmetro avaliado. Tanto o grupo normal tratado quanto o grupo diabético tratado recebeu, diariamente, 50mg do extrato antociânico de uva. Da mesma forma, tanto o grupo

normal tratado quanto o grupo diabético tratado recebeu, diariamente, 6mg do extrato de *Tradescantia pallida*. Ambos tratamentos não tiveram efeito quanto ao ganho de peso de nenhum dos grupos tratados. LIBERATO (2001) estudou o efeito de naringenina sobre o peso corporal de ratos e coelhos diabéticos. Este flavonóide foi administrado em doses diárias de 20 mg, durante 29 dias para os ratos e 27 dias para os coelhos. Em ambos os experimentos, houve aumento do peso final dos animais tratados em relação aos não tratados, porém, estas diferenças não foram significativas.

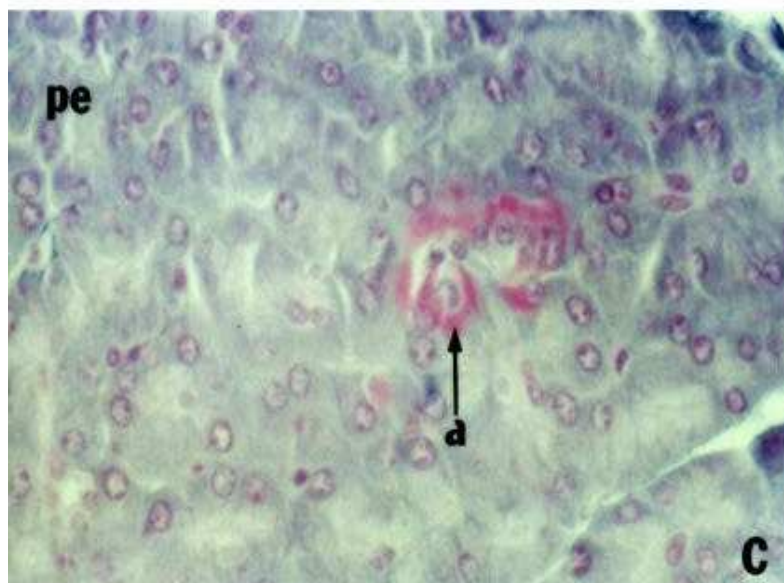
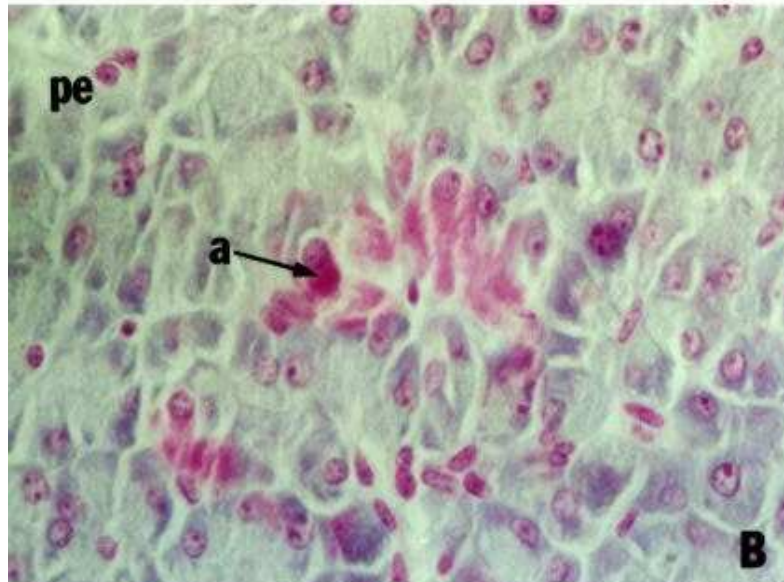
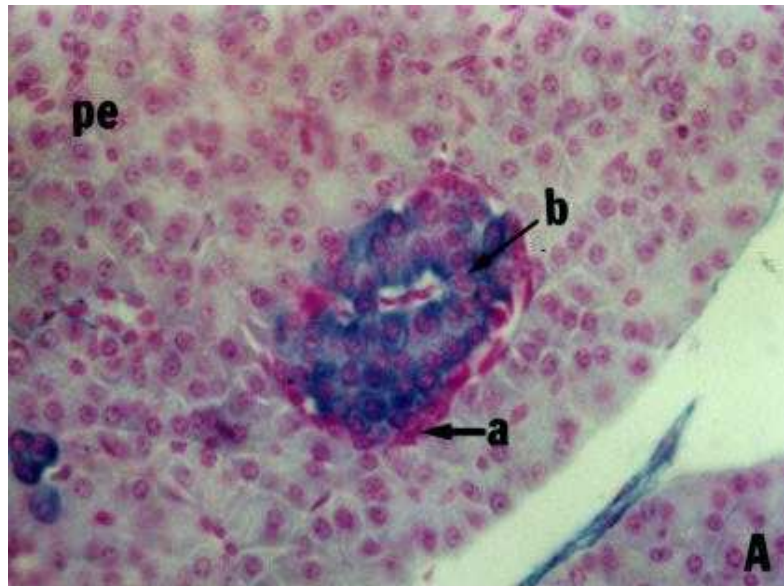
7 – RESULTADOS HISTOLÓGICOS

Ao final do ensaio biológico foram coletadas amostras de pâncreas de dois animais de cada grupo experimental, com objetivo de analisar morfológicamente as ilhotas pancreáticas, verificando o efeito diabetogênico do aloxano. Esta substância causa danos à célula β das ilhotas pancreáticas alterando a produção de insulina e, conseqüentemente, o metabolismo de glicose (HATCHELL et al., 1986). Estudos morfológicos evidenciam que na indução do diabetes mellitus por aloxano as células β do pâncreas são destruídas o que resulta, após um período de cerca de cinco dias, em severa e persistente redução da insulina sérica e perda de peso corporal (GORRAY et al., 1986). O aloxano destrói as células β agindo na membrana plasmática. Essa droga pode causar acúmulo de H_2O_2 suficiente para induzir fragmentação de DNA em ilhotas pancreáticas isoladas (KIM et al., 1994).

As ilhotas pancreáticas de animais que não sofreram indução por aloxano (grupo controle T0, grupo controle T30 e grupo normal tratado) apresentaram aspecto normal típico, com células α (coradas em vermelho) distribuídas preferencialmente na periferia e as células β (coradas em azul), aparentemente em maior quantidade, ocupando a parte central do tecido pancreático endócrino (figura A).

As ilhotas dos animais submetidos ao aloxano, tratados e não tratados, não apresentaram células β . Nesses espécimes destacavam-se nas ilhotas as células α , com sua coloração avermelhada típica (figura B e C), sem localização definida no interior da porção endócrina. Aparentemente, houve diminuição na área das ilhotas observadas. Devido aos limites imprecisos não foi possível a determinação

do tamanho exato dessas estruturas. A ausência de células β foi confirmada através da observação de várias ilhotas na sua totalidade.



A = animal controle
B = animal diabético tratado

pe=pâncreas exócrino
a= célula α
b= célula β

8 - CONCLUSÕES

As concentrações sangüíneas de colesterol referente às fêmeas tiveram uma redução significativa tanto para os animais diabéticos tratados quanto para os não tratados. Portanto, conclui-se que a morina, na dose e no tempo empregados, não teve efeito hipocolesterolêmico. Não foram observadas diferenças significativas entre os níveis séricos de colesterol dos demais grupos. As diferenças entre os níveis séricos de colesterol dos demais grupos não foram significativas.

Em relação à análise de triglicerídeos, foram observadas diferenças significativas tanto para as fêmeas diabéticas tratadas quanto para as não tratadas. Assim, conclui-se que o efeito observado não se deve à ação da substância testada. Os grupos não citados não tiveram diferenças significativas entre seus níveis plasmáticos de triglicerídeos.

Apesar de não ter sido significativa, houve uma redução da glicemia das fêmeas diabéticas tratadas em relação ao seu grupo diabético controle.

O aumento de peso dos animais de ambos os sexos foi significativo somente quanto ao efeito do tempo.

Quanto aos parâmetros albumina e creatinina não foram verificadas diferenças significativas para todos os grupos, de ambos os sexos.

Com base no estudo histológico do pâncreas endócrino, pode-se concluir que a ausência de células β em animais diabéticos tratados e não tratados comprova a eficácia do aloxano na indução de diabetes mellitus e também que a morina, na dose e no tempo empregados no experimento, não teve efeito regenerador sobre as células β pancreáticas. Para um próximo estudo, sugere-se que sejam feitas análises com aplicação de imunocitoquímica para as células β pancreáticas, uso de microscopia eletrônica de transmissão e morfometria (histologia quantitativa).

9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABDEL-HASSAN, I.A, ABDEL-BARRY, J.A, MOHAMMEDA, S.T. The hypoglycaemic and antihyperglycaemic effect of citrullus colocynthis fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, p.325-330, 2000.
- AFFANA'S E.V. et al. Chelating and free radical scavenging mechanisms of inhibitory action of rutin and quercetin in lipid peroxidation IN: LIMA, L.R.P. **Efeitos farmacológicos, toxicológicos e mecanismos de ação dos flavonóides e corantes naturais extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) sobre o metabolismo lipídico de coelhos**. 2000, 122F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.
- AHERNE, S.A, O'BRIEN, N.M. Dietary flavonols: chemistry, food content, and metabolism. **Nutrition**, v.18, p.75-81, 2002.
- AHMAD, M. et al. Hypoglycaemic action of the flavonoid fraction of cuminum nigrus seeds. **Phytoterapy Research**, v.14, n.2, 103-106, 2000.
- ALBERTS, B. et al. **Biologia molecular da célula**. 3.ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1997, 1294 p.
- ALFENAS, R.C.G. et al. **Diabetes: dieta e receitas especiais**. 1.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 2000. 106p.
- ALMEIDA, H.G.G. **Diabetes mellitus uma abordagem simplificada para profissionais de saúde**. 1.ed. São Paulo: Atheneu, 1997. 95 p.
- ARAKAWA, T. et al. A plant-based cholera toxin b subunit-insulin fusion protein protects against the development of autoimmune diabetes. **Nature Biotechnology**, v.16, n.10, p. 934-938, 1998.

- ARAÚJO, J.M. **A Química de Alimentos: teoria e prática**. 1.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa. 1995. 335 p.
- ARAÚJO, R.B. et al. Avaliação do cuidado prestado a pacientes diabéticos em nível primário. **Revista de Saúde Pública**, v.33, n.1, São Paulo, 1999.
- ASGARY, N.G.H. et al. Antioxidant effect of flavonoids on hemoglobin glycosylation. **Pharmaceutica Acta Helvetiae**, v.73, issue 5, p. 223-226, 1999.
- ASGARY, S. et al. Antihypertensive and antihyperlipidemic effects of *Achillea wilhelmsii*. **Drugs under Experimental and Clinical Research**, v.26, n.3, p.89-93, 2000.
- ASSUNÇÃO, M.C.F., SANTOS, I.S., GIGANTE, D.P. Atenção primária em diabetes no sul do Brasil: estrutura, processo e resultado. **Revista de Saúde Pública**, v.35, n.1, 2001.
- AVIRAM, M., FUHRMAN, B. Polyphenolic flavonoids inhibit macrophage-mediated oxidation of LDL and attenuated atherogenesis. **Atherosclerosis**, v.137, p. 45-50, 1998.
- BABU, P.S., SRINIVASAN, K. Influence of dietary capsaicin and onion on the metabolic abnormalities associated with streptozocin induced diabetes mellitus. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v.175, p.49-57, 1997.
- BAKER, M.E. Endocrine activity of plant derived compounds: na evolutionary perspective. **Proceedings of the Society Experimental Biology and Medicine**, 208, p. 131-138, 1995.
- BARRANCO, J.G. Glucose control guidelines: current concepts. **Clinical Nutrition**, v.17, p.7-17, 1998.
- BARREIRO, E.J. Eicosanóides (Parte a). In: SIMÕES, M.C.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis 2 ed.: Ed. da UFRGS/Ed. da UFSC, 2000. 821 p.
- BARREIRO, E.J. Eicosanóides (Parte b). In: SIMÕES, M.C.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/Ed. da UFSC, 2000. 821 p.
- BARREIRO, E.J. Prostaglandinas. **Química Nova**, v.2, p.99-111, 1979.

- BATLOUNI, M. Hipótese oxidativa da aterosclerose e emprego dos antioxidantes na doença arterial coronária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.68, n.1, 1997
- BAYERL, D.M. et al. Coronary stent implantation in diabetici versus nondiabetic patients. Early and late outcomes. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v.75, n.5, 2000.
- BELLIZI, M.C. et al., Vitamin and coronary heart disease the European paradox. **European Journal of Clinical Nutrition**, v.48, p.822-831, 1994.
- BJÖRNTORP, P. Body fat distribution, insulin resistance and metabolic diseases. **Nutrition**, v.13, n.9, 1997.
- BOK, S.H. et al. Plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-e-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA cholesterol transferase are lower in rats fed citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **The Journal Nutrient**, v.129, p.1182-1185, 1999.
- BRUNETON, J. **Pharmacognosy: phytochemistry medicinal plants**. 2.ed. Paris: Lavoisier, 1999. 1119 p.
- CARUSO, L.; MENEZES, E.W. Índice glicêmico dos alimentos. **Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentação**, v.19-20, p.49-64, 2000.
- CARVALHO, M.G. et al. Flavonóides das flores de *Stiffilia chrysantha*. Mikan. **Química Nova** v.22, n.2, 1999.
- CHOI, J.S., YOKOZAWA, T., OURA, H. Antihyperlipidemic effect of flavonoids from *Prunus davidiana*. IN: VALENTE, S.T.X. **Efeito de corantes naturais sobre os níveis de colesterol e triglicerídeos séricos em ratos hiperlipidêmicos**. Viçosa: Imprensa da Universidade Federal de Viçosa, 1998. 102 p. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa.
- CONSENSO BRASILEIRO DE CONCEITOS E CONDUTAS PARA O DIABETES MELLITUS: recomendações da Sociedade Brasileira de Diabetes para a prática clínica. Sociedade Brasileira de Diabetes, 1997. Federação Internacional de Diabetes. www.nib.unicamp.br/saca-brasil/index.html

CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DISLIPIDEMIAS: DETECÇÃO, AVALIAÇÃO E TRATAMENTO – 1996. Consenso da Sociedade Brasileira de Diabetes. www.digitus.com.br/~plinio

COOK, N.C.; SAMMAN, S. Flavonoids-chemistry, metabolism, cardioprotective effects, and dietary sources. **The Journal of Nutrition Biochemistry**, v.7, p.66-76, 1996.

COX, P.A., BALICK, M.J., The ethnobotanical approach to drug discovery. **Scientific American**, p.82-87, 1994.

DALL'AGNOL, R., POSER, G.L. von The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the case of *Solanum lycocarpum* fruits. **Journal of Ethopharmacology**, v.71, p.337-341, 2000.

DAMIANI, D. Critérios diagnósticos no diabetes mellitus. **Revista da Associação Médica**. Brasil, v.46, n.4, p. 289-311, 2000.

DAVIS, S.N., GRANNER, D.K. Insulina, fármacos hipoglicemiantes orais e a farmacologia do pâncreas endócrino In: HARDMAN, J.G., LIMBIRD, L.E. **As bases farmacológicas da terapêutica**. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericanas, 1996, v.2.

DIXIT, P.K., KAUNG, H.L.C. Rat pancreatic β -cells in protein deficiency: study involving morphometric analysis and alloxan effect. **Journal of Nutrition**, v.115, p.375-81, 1985.

DREOSTI, I.E. Antioxidant polyphenols in tea, cocoa and wine. **Nutrition**, v.16, n.7-8, 2000.

EWALD, C. et al. Effect of processing on major flavonoids in processed onions, green beans and peas. **Food Chemistry**, v.64, p.231-235, 1999.

FETT, C. **Ciência e suplementação alimentar**. Rio de Janeiro: Sprint, 2000. 390 p.

FLAVANHAN, N.A. Atherosclerosis or lipoprotein-induced endothelial dysfunction. **Circulation**, v.85, p. 1927-1938, 1992.

FORMICA, J.V., REGELSON, W. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. **Food and Chemistry Toxicology**, v.33, n.12, p.1061-1080, 1995.

FRAIGE, F.F. A revolução terapêutica. **Diabetes Clínica**, v.4, n.1, p.3, 2000a.

FRANCO, L.J. et al. Diabetes como causa básica ou associada demorte no estado de São Paulo, Brazil, 1992. **Revista de Saúde Pública**, v.32, 1998.

FREITAS, A.C.C.; BARREIRO, E.J. Perspectivas terapêuticas de fármacos que atuem na cascata do ácido araquidônico. In: SIMÕES, M.C.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/Ed. da UFSC, 2000. 821 p.

FRINHANI, E.M.D. **Efeito de antocianinas de uvas rochas (enocianinas) e de antocianinas extraídas de Trapoeraba (*Cradescantia pallida*) em ratos normais e diabéticos**. 1998, 91F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.

GALVEZ, J. et al. Inhibition of enzymic and nonenzymic lipid peroxidation in rat liver differs from its influence on the glutathione-related enzymes. **Pharmacology**, v.51, n.2, p.127-133, 1995.

GEE, J.M. et al. Quercetin glucosides interact with the intestinal glucose Transport Pathway. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 25, n.1, p. 19-25, 1998.

GOLDBERG, D.M. Moderate alcohol consumption: the gentle face of janus. **Clinical Biochemistry**, v.32, n.7, p.505-518, 1999.

GOMES, S.M. **Efeitos de flavonóides sobre o metabolismo lipídico**. 1998, 129F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.

GONZÁLEZ, E. et al. Pancreatic nitric oxide and oxygen free radicals in the early stages of streptozotocin-induced diabetes mellitus in the rat. Brazilian Journal of **Medical and Biological Research**, v.33, p.1335-1342, 2000.

GOODMAN, J.G., GILMANN, A.G., LIMBIRD, L.E. **The pharmacological basis of therapeutics**, 9.ed. London: Mac Graw – Hill Company, 1996. 1436 p.

- GOODYEAR, L. J.; KAHN, B.B. Exercise, glucose transport, and insulin sensitivity. **Annual Review of Medicine**., v.49, p.235-261, 1998.
- GORRAY, K.C., BASKIN, D., FUJIMOTO, W.Y. Citotoxic effects of alloxan treatment “in vitro” on monolayer cultures of neonatal rat pancreas. **American Journal of Physiology**, v.245, p.E417—E423, 1983.
- GORRAY, K.C., BASKIN, D., FUJIMOTO, W.Y. Physiological and morphological changes in islet β cell following treatment of the guinea pig with alloxan. **Diabetes Research**, v.3, p.187-191, 1986.
- GRAY, A.M., FLATT, P.R. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional antidiabetic plant *Coriandrum sativum* (coriander). **British Journal of Nutrition**, v.81, p.203-209, 1999.
- GROSMAN, N. Influence of probes for calcium-calmodulin and protein kinase C Signalling on the plasma membrana Ca^{+2} -ATPase activity of rat synaptosomes and leukocyte membranes. **Immunopharmacology**, v.40, p.163-171, 1998.
- GROSS, J.L. et al. Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito Tipo 2. Recomendações da Sociedade Brasileira de Diabetes. **Arquivos Brasileiros Endocrinologia e Metabologia**, v.44, n.4, 2000.
- GROSS, J. L.; NEHME, M. Detecção e tratamento das complicações crônicas do diabetes melito: consenso da Sociedade Brasileira de Diabetes e Conselho Brasileiro de Oftalmologia. **Revista da Associação Médica Brasileira** v.45,n.3, 1999.
- GUYTON, A.C. **Tratado de fisiologia médica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997, 864 p.
- HABER, E.P. et al. Secreção da insulina: efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia e Metabologia**, v.45, n.3, 2001.
- HATCHELL, D.L. et al. Resistance of cats to the diabetogenic effect of alloxan. **Laboratory Animal Science**, v.36, n.1, p.37-40, 1986.
- HAVSTEEN, B. Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. biochemical **Pharmacology**, v.32, n.7, p.1141-1148,1983.

- HEIJNEN, C.G.M. et al. flavonoids as peroxynitrite scavengers: the role of the hydroxyl groups. **Toxicology in Vitro**, v.15, p.3-6, 2001.
- HERTOG, M.G.L. et al. Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. **Archives of Internal Medicine**, v.155, n.4, p.381-386, 1995.
- HOLLANDER, P. Os Efeitos diferenciais da nateglinida e sulfonilurías nos níveis de glicose e secreção de insulina no período de refeição. **Diabetes Clínica**, v.4, n.1, p.27-28, 2000.
- HOLLMAN, PCH, KATAN, M.B. Absorption, metabolism and health effects of dietary flavonoids in man. **Biomedical & Pharmacotherapy**, v 51, p.305-310, 1997.
- IVORRA, M.D., PAYÁ, M., VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v.27, p. 243-275, 1989.
- JONAS, J.C. et al. Multiple effects and stimulation of insulin secretion by thr tyrosine kinase inhibitor genistein in normal mouse islets. **British Journal of Pharmacology**, v.114, n.4, p.872-80, 1995.
www.sciencedirect.com
- JUNQUEIRA, L.C., CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 433 p.
- KATZUNG, B.G. **Farmacologia básica e clínica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1998. 854p.
- KIAN, C.O., KHOO, H. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. **Life Science**, v.67, p.1695-1705, 2000.
- KIM, H.R. et al. Role of Ca^{+2} in alloxan-induced pancreatic β -cell damage. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1227, p. 87-91, 1994.
- KINSELLA, J.E., FRANKEL, E., GERMAN, B. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. **Food Technology**, v.47, n.1, p.84-89, 1993.
- KIRK, E.A., et al. Dietary isoflavones reduce plasma cholesterol and atherosclerosis in C57BL/6 mice but not LDL-receptor deficient mice. **Journal of Nutrition**, v.128, p. 954-64, 1998.

- KOSHY, S.A., ANILA, L., VIJAYALAKSHMI, N.R. Flavonoids from *garcinia cambogia* lower lipid levels in hypercholesterolemic rats. **Food Chemistry**, v.72, n.3, p.289-294, 2001.
- KUMAR, V., COTRAN, R.S., ROBBINS, S.L. **Patologia básica**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1995. 608 p.
- KUROWSKA, E.M. et al. Hypocholesterolemic effects of dietary citrus juices in rabbits. **Nutrition Research** v.20, n.1, p.121-129, 2000.
- KUROWSKA, E.M. et al. Cholesterol-lowering effects of dietary citrus juices and their flavonoids. Studies in rats, mice and rabbits. IN: LIBERATO, S.C. **Efeito da naringenina e do amido da fruta-do-lobo em animais diabéticos**. 2001, 129F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.
- LACKEMAN, G.M. et al. Plant Mest. In: LIMA, L.R.P. **Efeitos farmacológicos, toxicológicos e mecanismos de ação dos flavonóides e corantes naturais extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) sobre o metabolismo lipídico de coelhos**. 2000, 122F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.
- LANG, C.M., MUNGER, B.L., RAPP, F. The guinea pig as an animal model of diabetes mellitus. in: LIBERATO, S.C. **Efeito da naringenina e do amido da fruta-do-lobo em animais diabéticos**. 2001, 129F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.
- LEAKE, D.S. Flavonoids and the oxidation of low-density lipoprotein. **Nutrition**, v.17, n.1, 2001.
- LEHMANN, R., SCHELEICHER, E.D. Molecular mechanism of diabetic nephropathy. **Clinica Acta**, v.297, issue 1-2, p.135-144, 2000.
- LIBERATO, S.C. **Efeito da naringenina e do amido da fruta-do-lobo em animais diabéticos**. 2001, 129F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.
- LIMA, K.S.C., SABAA-SRUR, A U.O. Doce cremoso de goiaba adicionado de goma guar e seu efeito hipoglicêmico em indivíduos sadios e diabéticos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.19, n.1, 1999.

LIMA, L.R.P. **Efeitos farmacológicos, toxicológicos e mecanismos de ação dos flavonóides e corantes naturais extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) sobre o metabolismo lipídico de coelhos.** 2000, 122F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.

LUCÍRIO, I.D.; WUSTHOF, R. A epidemia do sangue doce. **Revista Super Interessante**, ano 14, n.1, p.31-4, 2000.

McANLIS, G.T. et al. Black tea consumption does not protect low density lipoprotein from oxidative modification. IN: LIBERATO, S.C. **Efeito da naringenina e do amido da fruta-do-lobo em animais diabéticos.** 2001, 129F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.

MANCINI, M.C. Como diagnosticar e diabetes mellitus. **Revista Brasileira de Medicina**, v.56, 1999.

MARTINEZ, T.L.R. et al. **Condutas clínicas nas dislipidemias.** Belo Horizonte: Saúde, 1997. 291p.

MARZZOCO, A., TORRES, B.B. **Bioquímica básica.** 1.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999. 360p.

MATTHEWS, D.O. O que exigimos de uma nova medicação para o tratamento do diabetes? **Diabetes Clínica**, v.3, n.5, p. 262-263, 1999.

MIDDLETON, E.J., KANDASWAMI, C. Effects of flavonoids on immune and inflammatory cell functions. **Biochemical Pharmacology**. v.43, n.6, p.1167-1179, 1992.

MINISTÉRIO DA SAÚDE. Estatísticas de mortalidade 1989. Brasília-D.F., 1994. www.saude.gov.br

MIYAKE, Y. et al. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. **Lipids**, v.33, p.689-695, 1998.

MONTEIRO, C.A **Velhos e novos males da saúde no Brasil: a evolução do país e de suas doenças.** São Paulo: NUPESP/USP, 1995. 359 p.

MONTEIRO, J.B.R., ROSADO, L.E.F.P.L. **Nutrição e doenças cardiovasculares.** 1990, 52F. Dissertação (Mestrado em

Fisiologia) – Departamento de Medicina da Universidade de São Paulo.

- MORA, A. et al. Structure activity relationship of polimetoxiflavone and other flavonoids as inhibitory of non enzymic lipid peroxidation. In: LIMA, L.R.P. **Efeitos farmacológicos, toxicológicos e mecanismos de ação dos flavonóides e corantes naturais extraídos do urucum (*Bixa orellana* L.) sobre o metabolismo lipídico de coelhos.** 2000, 122F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa.
- NEUMANN, A.I.C.P. et al. Pirâmide para orientação de doenças cardiovasculares. **Nutrire: revista da Sociedade Brasileira de Alimentação**, v.19-20, p.7-17, 2000.
- ODETTI, P.R. et al. Prevention of diabetes-increased aging effect on rat collagen-linked fluorescence by aminoguanidin and rutin. **Diabetes**, v.39, n.7, p.796-800, 1990.
- OKADA, Y. et al. Search for naturally occurring substances to prevent the complications of diabetes II. Inhibitory effect of coumarin and flavonoid derivatives on bovine lens aldose reductase and rabbit platelet agregation. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**, v.43, n.8, p. 1385-1387, 1995.
- OLIVEIRA, T.T. et al. Inhibitory action on aldose reductase by soybean flavonoids. **Journal of the Brazilian Chemical Society**., v.8, n.3, p. 211-213, 1997.
- ONG, K.C.; KHOO, H. Effects of myricetin on glycemia and glycogen metabolism in diabetic rats. **Life Sciences**. v.67, p.1695-1705, 2000.
- ONUNKWO, G.C., AKAH, P.A., UDEALA, O.K. Studies on *Bridelia ferruginea* leaves. Stability and hypoglicaemic actions of leaf extract tablets. **Phytotherapy Research**, v.10, p.418-420, 1996.
- OREKHOV, A.N., GRÜNWALD, J. Effects of garlic on atherosclerosis. **Nutrition**, v.13, n.7-8, 1997.
- PALUMBO, P.J. Metformin: effects on cardiovascular risk factors in pacientes with non-insulin-dependent diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and its Complications**, v.12, n.2, p.110-119, 1998.

PARK, Y.K. et al. Estudo da preparação dos extratos de própolis e suas aplicações. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.18, n.3, 1998.

PAZ, G. Diabetes, 2000. <http://move.to/diabetes>.

PEREZ, R.M. et al. Isolation and hypoglycemic activity of 5,7,3'-trihydroxy-3,6,4'-trimethoxyflavone from *Brickellia veronicaefolia*. **Phytomedicina**, v.7, n.1, p.25-29, 2000.

PETERSON, J; DWYER, J. Flavonoids: dietary occurrence and biochemical activity. **Nutrition Research**, v.18, n.2, p.1995-2018, 1998.

PUDDEY, I.B., CROFT, K.D. Alcohol, stroke and coronary heart disease. Are there anti-oxidants and pro-oxidants in alcoholic beverages that might influence the development of atherosclerotic cardiovascular disease? **Neuroepidemiology**, v.18. n.6, p.292-302, 1999.

QUINTÃO, E. **Colesterol e aterosclerose**. 1.ed. Rio de Janeiro: Qualitymark, 1992. 276 p.

RAMOS, R.R., SAENZ, J.L.F., AGUILAR, F.J.A. Anti-hiperglycemic effect of some edible plants. **Journal of Ethnopharmacology**, v.48, p.25-32, 1995.

RIBEIRO, J.N. **Efeito da própolis, antocianina e naringenina em coelhos normais e diabéticos**. 2001, 111 F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.

RICARDO, K.F.S. **Efeitos hipolipidêmico e sinérgico de flavonóides, corantes naturais e fármacos**. 1999, 127F. Dissertação (Mestrado em Agroquímica) – Departamento de Química da Universidade Federal de Viçosa. Viçosa – M.G.

ROSS, M.H., ROMRELL, L.J., KAYE, G.I. **HISTOLOGY: a text and atlas**. 3.ed. United States: Williams e Wilkins, 1995. 823 p.

SFAKIANOS, J. et al. Intestinal uptake and biliary excretion of the isoflavona genistein in rats. **Journal Nutritional**, v. 127, p.1260-1268, 1997.

- SHIMABUKURO, M. et al. Fatty acid-induced β cell apoptosis: link between obesity and diabetes. **Proceedings of the National Academy Science United State of American**, v.95, p.2498-2502, 1998.
- SHIMOI, K. et al. Intestinal absorption of luteolin and luteolin 7-O- β -glucoside in rats and humans. **FEBS Letters** v.438, p. 220-224, 1998.
- SHINKAI, H. Recent developments in oral hypoglycemic agents. **Drug Discovery Today**, v.4, n.6, p. 283-288, 1999.
- SIMÕES, M.C.O. et al. **FARMACOGNOSIA: da planta ao medicamento**. 2.ed. Porto Alegre/Florianópolis: Ed. da UFRGS/Ed. da UFSC, 2000. 821
- SORENSEN, R.L., BRELJE, T.C., ROTH, C. Effect of tyrosine kinase inhibitors on islet of Langerhans: evidence for tyrosine kinases in the regulation of insulin secretion. **Endocrinology**, v.134, n.4, p. 1975-1978, 1994.
- SWENSON, M.J., REECE, W.O. **Dukes: fisiologia dos animais domésticos**. 11.ed., Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 856 p.
- VALENSI, P.E. et al. Effects of purified micronized flavonoid fraction on capillary filtration in diabetics patients. **Diabetic Medicine**, v.13, p. 882-888, 1996.
- VERRI, J., Fuster, Valentin mecanismos das síndromes isquêmicas agudas e da progressão da aterosclerose coronária. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, v. 68, n.6, 1997.
- VERTOMMEN, J. et al. Flavonoid treatment reduces glycation and lipid peroxidation in experimental diabetic rats. **Phytoterapy Research**, v.8, p.430-432, 1994.
- VINSON, J.A. et al. Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. **Journal of Agriculture Food Chemistry**, v.46, p.3630-3634, 1998.
- ZACHÉ, J. Diabetes doce perigo. **Revista Isto É**, 11 de Julho, p.84-89, 2001.

- ZARZUELO, A. et al. Effects of luteolin5-O- β -rutinoside in streptozotocin-induced diabetic rats. **Life Sciences**, v.58, n.25, p. 2311-2316, 1996.
- ZHU-QIN-YAN, HUANG-YU, CHEN-ZHEN-YU Interaction between flavonoids and alpha-tocopherol in human low density lipoprotein. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v.11, n.1, p.14-21, 2000.
- WEI, Z., LAU, B.H.S. Garlic inhibits free radical generation and augments antioxidant enzyme activity in vascular endothelial. **Nutrition Research**, v.18, n.1, p.61-70, 1998.
- WILCOX, L.J. et al. Secretion of hepatocyte apoB is inhibited by the flavonoids naringenin and hesperedin, via reduced activity and expression of ACAT2 and MTP. **Journal of Lipid Research Institute**, v.42, n.5, p. 725-734, 2001.
- WOLEVER, T.M.S. et al. Effect of method of administration of Psillium on glycemic response and carbohydrate digestibility. **Journal of the American College of Nutrition**, v.10, p. 364-371, 1991.
- YUGARANI, T., TAN, B.K., DAS, D.Y. Effects of polyphenolic natural products on the lipid profile of rats fed high fat diets. **Lipids**, v.27, p. 181-186, 1992.
- YUSUKE, A. et al., Dietary intake of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetin intake and plasma LDL cholesterol concentration. **Journal of Nutrition**, v.130, n.9, p.2243-2250, 2000.