

UNIVERSIDADE FEDERAL DE OURO PRETO - UFOP
ESCOLA DE FARMÁCIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS

**Avaliação Biológica de Extratos Vegetais no
Tratamento de *Diabetes mellitus* e Hiperlipidemia
em Coelhos**

WALESKA C. DORNAS AMARAL

Ouro Preto
2008

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

WALESKA C. DORNAS AMARAL

**Avaliação Biológica de Extratos Vegetais no
Tratamento de *Diabetes mellitus* e Hiperlipidemia
em Coelhos**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Escola de Farmácia da Universidade Federal de Ouro Preto como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr Tanus Jorge Nagem

Co-orientadoras: Prof^ª. Dra Tânia Toledo de Oliveira

Prof^ª. Dra Claudia Martins Carneiro

Ouro Preto
2008

DEDICATÓRIA

À minha mãe,
sempre presente,
exemplo de dedicação irrestrita à família.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador Prof. Tanus Jorge Nagem, a quem eu devo e vou ser sempre grata pela oportunidade de realização do mestrado acadêmico.

À Prof^a Tânia Toledo de Oliveira, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), que me recebeu no laboratório para realização dos testes *in vivo* contribuindo muito para a realização desse trabalho.

À Prof^a Cláudia Martins Carneiro, pela segurança, pelo grande apoio e pela participação durante todos os momentos do trabalho realizado com sua colaboração.

Ao Prof. Paulo Roberto Cecom, meu conselheiro na estatística, que foi de grande valia para a análise dos resultados.

Ao Prof. Jorge Humberto, pela receptividade, pela honestidade e pela proximidade, disponibilizando sempre seu laboratório e conhecimentos.

A Dra. Rosana Gonçalves, pela participação e interesse em ajudar os alunos do LAPPRONA.

Aos técnicos Leandro Martins (Departamento de Química da UFOP), José Geraldo (Análise Clínica do Laboratório de Biofármacos da UFV) e Maria Chaves (Laboratório de Imunopatologia da UFOP), sempre gentis e que ajudaram enormemente no decorrer de cada fase.

Ao Prof. Dr Rinaldo Cardoso, pela boa vontade constante em ajudar e pelo recebimento no Estágio de Docência realizado.

Aos alunos da graduação da UFV, do Laboratório de Biofármacos (Ancély, Hussen, Lívia, Luis, Raphael e Mary Helen), que auxiliaram no tratamento dos animais, sem os quais seria impossível cursar as disciplinas simultaneamente ao desenvolvimento da pesquisa.

Aos colegas de mestrado, especialmente, a Geisla e ao Túlio (Tigrinha) por compartilharem no dia a dia as descobertas, dúvidas e expectativas futuras.

A todos os integrantes do Laboratório de Imunopatologia do ICEB - UFOP, que além de colaborarem com os alunos que utilizam seu laboratório, são exemplos de boa convivência, competência e amizade, tornando o ambiente extremamente produtivo e agradável de se trabalhar.

À República Federal Palmares pelo acolhimento e por tornar os momentos difíceis dos anos de 2006 e 2007 mais fáceis de serem vividos.

A UFOP, pelos ensinamentos, pela bolsa-auxílio e por ser uma Universidade diferenciada no tratamento para com seus alunos.

A FAPEMIG, pelo auxílio à pesquisa desenvolvida.

RESUMO

Considerando que a prática dos tratamentos das desordens metabólicas em decorrência do crescimento das doenças crônicas não transmissíveis cresce em todo o mundo, a proposta desse estudo é avaliar os possíveis efeitos biológicos dos extratos hidroalcoólicos das cascas das plantas *Calophyllum brasiliense*, *Conarus perrottetii* e *Rourea paraensis* associadas na diabetes experimental, e, isoladamente, avaliar o tratamento com extrato da casca de *C. brasiliense* na hiperlipidemia induzida. Como modelos experimentais, foram utilizados coelhos da raça Nova Zelândia, machos e adultos com a indução através da droga diabetogênica aloxano (100mg/Kg) e para a hiperlipidemia adicionou-se 0,5g de colesterol à ração. Cada experimento utilizou 48 animais em esquema de parcela subdividida de 8 grupos com delineamento inteiramente casualizado em 6 repetições para ambos. Para os experimentos, foram avaliados colesterol, triacilglicerol, lipase, creatinina, proteínas totais, albumina e apenas glicose e hemoglobina glicosilada para o experimento de diabetes no meio e no final de cada fase, com duração de um mês. Esses dados foram analisados por meio de análise de variância seguida de teste de Dunnett e Tukey para comparação das médias entre os grupos e dentro de cada grupo, respectivamente, ao nível de 5% de significância. Após o final de cada experimento, rins e fígados foram retirados para análise histopatológica. Os resultados para o experimento de diabetes evidenciaram redução da glicemia nos animais doentes tratados com o extrato na dose de 100mg e que, nos animais normais tratados com o mesmo extrato, houve aumento glicêmico assim como no tratamento com diabinese. Avaliação histológica do fígado demonstrou o aparecimento de processo inflamatório e degeneração com intensidade dose-dependente mais evidente nos grupos de animais doentes exceto para o grupo tratado com extrato na dose de 100mg. Já no rim de animais diabéticos, mudanças glomerulares, inflamações e degenerações foram vistas sendo que o tratamento com extrato das plantas na dose de 100mg novamente induziu menor comprometimento e alterações teciduais. Na hiperlipidemia, o tratamento com extrato de *C. brasiliense* diminuiu triacilglicerol em níveis bem significativos para os animais hiperlipidêmicos. Embora não significativo, o aumento dos níveis de colesterol nos animais com hiperlipidemia induzida foram inibidos quando comparados ao grupo doente sem tratamento. Nos animais normais tratados com extrato na dose de 150mg, observaram-se níveis aumentados de proteínas totais e albumina. Histologicamente, o extrato de *C. brasiliense* alterou o tecido hepático promovendo focos inflamatórios nos grupos normais, enquanto que animais com hiperlipidemia induzida apresentaram melhoras no aspecto histológico quando comparados com o grupo hiperlipidêmico não tratado que apresentou esteatose hepática, mas não se igualaram aos animais normais. Esses dados sugerem que o extrato das plantas na dose de 100mg utilizada na diabetes exibe atividade hipoglicemiante em modelo de coelhos com diabetes induzida e que *C. brasiliense* na hiperlipidemia demonstra possuir efeito hipotriacilglicemiante bem significativo. Para utilização dessas plantas como medicamentos, outros estudos devem ser realizados a fim de se determinarem os constituintes ativos presentes e seus mecanismos de ação, além de avaliar a toxicidade, uma vez que essas espécies demonstraram alterações teciduais.

ABSTRACT

Considering that the practice of treatments of metabolic conditions from the growing of non transmissible chronic conditions has raised in all the world, the purpose of the research is evaluating the possible biologic effects of the hydroalcoholic extracts of the peels from the species *Calophyllum brasiliense*, *Connarus perrottetii* and *Rourea paraensis* associated with experimental diabetes, and, separately, evaluating the treatment with extract of the peel of *Calophyllum brasiliense* in the induced hyperlipidemia. Like experimental models, it was used male and adult rabbits from the kind New Zealand, with the induction through the diabetogenic drug aloxan (100 mg/Kg) and to the hyperlipidemia it was summed 0,5g of cholesterol to the specific meal. Each experiment used 48 animals in one scheme of subdivided parcel with 8 groups with outlining totally randomically into 6 repetitions to both ones. To the experiments, cholesterol, triacylglycerol, lipase, creatinine, total proteins and albumine were evaluated and, to the diabetes, only the glucose and the glycolised hemoglobin, in the middle and the end of both ones, with the period of one month. Those data were analyzed through of analyze of variance followed of Dunnett and Turkey's test to comparison of the averages among the groups and into each group, respectively, at the level of 5% of significance. After the end of experiment, followed by necropsy, kidneys and livers were put out to histopathology analyses. After end of the experiment the animals were sacrificed tends their kidneys, solitary livers for histopathology analysis. The results for the experiment of diabetes evidenced reduction of the glycemy in the conditioned animals and treated with the extract at the dose of 100mg and that, in the treated animals with the same product, there was glycemic raising was well as in the treatment with diabinese. Histological evaluation in the liver showed the occurring of inflammatory process and degeneration with dose-dependent intensity more evident in the groups of conditioned animals save to the treated group with extract in the dose of 100mg. However in the diabetic kidney, glomerular changes, inflammations, and degenerations were presented being that the treatment with the extract of the plants in the dose of 100mg again induced smaller compromising and tissue alterations. In the hyperlipidemia, the treatment with the extract of *C. brasiliense* decreased triacylglycerol intowell significant levels to the hyperlipidemic animals. Although non significant, the levels of cholesterol in the animals with induced hyperlipidemia were inhibited when compared to the group of conditioned group treatmentless. Normal animals treated with extract in the dose of 150mg showed raised levels of total proteins and albumine. Hystologically, the extract of *C. brasiliense* altered the hepatic tissue producing inflammatory focus in the normal groups while animals with induced hyperlipidemia showed improvements in the histological aspect when compared with the hyperlipemic group non treated which presented hepatic steatosis, but they are not equal to the normal ones. Those data suggest that the extract of the plants in the dose of 100mg used in the diabetes shows hypoglycemic activity in model of rabbits with induced diabetes and that *C. brasiliense* in the hyperlipidemia shows having well significant hypotriacylglicemic effect. Like drugs, other researches must be carried out in order to determine the active and present constitutive and their mechanisms of action, beyond evaluating the toxicity, once these species showed histological alterations, needing so of more study.

SUMÁRIO

RESUMO	iv
ABSTRACT	v
INTRODUÇÃO	1
REVISÃO DE LITERATURA	3
2.1 Diabetes	4
2.1.1 Conceito e classificação	4
2.1.2 Clínica e diagnóstico	7
2.1.3 Metabolismo bioquímico.....	9
2.1.4 Complicações crônicas	13
2.1.5 Terapêutica farmacológica	15
2.2 Hiperlipidemia	18
2.2.1 Conceito e classificação	18
2.2.2 Clínica e diagnóstico	19
2.2.3 Metabolismo bioquímico.....	21
2.2.4 Complicações.....	25
2.2.5 Terapêutica farmacológica	27
2.3 Plantas medicinais	29
2.3.1 Plantas como recurso de medicamentos	29
2.3.2 Plantas utilizadas em Diabetes mellitus e hiperlipidemia	30
2.3.3 Plantas utilizadas no experimento.....	34
2.4 Fisiologia do metabolismo de coelhos.....	36
MATERIAIS E MÉTODOS	38
3.1 Preparo do Fitoterápico.....	39
3.2 Ensaios biológicos	40
3.3 Histopatologia	47
3.4 Análise Estatística.....	48
RESULTADOS E DISCUSSÃO	49
4.1 Avaliação dos parâmetros bioquímicos em Diabetes	50
4.2 Avaliação histológica em diabetes	66
4.3 Avaliação dos parâmetros bioquímicos em hiperlipidemia	73
4.4 Avaliação histológica em hiperlipidemia.....	82
CONCLUSÕES	85
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	88
ANEXOS	108

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Representação esquemática da lenta e progressiva perda das células β durante o desenvolvimento da diabetes tipo 1	5
Figura 2: A síndrome metabólica	6
Figura 3: Esquema da regulação de glicose sangüínea	10
Figura 4: Via sinalizadora da insulina	12
Figura 5: Estrutura química do colesterol	22
Figura 6. Esquema de uma molécula de lipoproteína	23
Figura 7: Participação da inflamação em todos os estágios da aterosclerose	26
Figura 8 : Esquema do ensaio biológico utilizado para o experimento de diabetes.....	44
Figura 9: Esquema do ensaio biológico utilizado para o experimento de hiperlipidemia	46
Figura 10: Fotomicrografias do fígado de animais normais e portadores de diabetes induzida..	67
Figura 11: Fotomicrografias do rim de animais normais e portadores de diabetes induzida. 70	
Figura 12: Fotomicrografias do fígado de animais normais e submetidos a dieta hiperlipidêmica.....	83

LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre a glicose em mg/dL	50
Tabela 2: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre a hemoglobina glicosilada em (%).	55
Tabela 3: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre o colesterol em mg/dL	57
Tabela 4: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre o triacilglicerol em mg/dL	58
Tabela 5: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre a lipase em mg/dL	60
Tabela 6: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre a creatinina em mg/dL	61
Tabela 7: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre as proteínas totais em mg/dL	63
Tabela 8: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrottetii</i> e <i>R. paraensis</i> associados sobre a albumina em mg/dL	64
Tabela 9: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> sobre o colesterol em mg/dL	73
Tabela 10: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> sobre o triacilglicerol em mg/dL.....	76
Tabela 11: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> sobre a lipase em mg/dL	77
Tabela 12: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> sobre creatinina em mg/dL.....	78
Tabela 13: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> sobre as proteínas totais em mg/dL	79
Tabela 14: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de <i>C. brasiliense</i> sobre a albumina em mg/dL.....	80

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Critérios diagnósticos para <i>Diabete mellitus</i>	7
Quadro 2: As hiperlipoproteinemias primárias.....	18
Quadro 3: Causas de hipertriacilgliceridemia	19
Quadro 4: Valores de referência de colesterol total, LDL, HDL e triacilglicerol em adultos...	21
Quadro 5: Apolipoproteínas principais e secundárias	24
Quadro 6: Identificação botânica do material utilizado no experimento	39
Quadro 7: Quantidade do material botânico utilizado/plantas.....	40
Quadro 8: Relação dos grupos e tratamentos de animais utilizados no experimento de diabetes	41
Quadro 9: Relação dos grupos e tratamentos de animais utilizados no experimento de hiperlipidemia.....	41

LISTA DE ABREVIATURAS

ACAT – Acil colesterol aciltransferase

Ag - Ácido graxo

Ag_L - Ácido graxo livre

AMPC - Adenosina monofosfato-cíclico

CAT - Catalase

DCC - Doença cardíaca coronariana

DGAI₂ - Diacilglicerol aciltransferase 2

DHA - Ácido docosaexanóico

EPA - Ácido eicosapentanóico

GLUT-4 - Transportador de glicose

GNE - Glicação não enzimática

GSH - Glutationa

GPx - Glutationa peroxidase

HDL - Lipoproteína de alta densidade

HMGC_oA redutase - Hidroxi metil glutaril CoA redutase

H₂O₂ - Peróxido de hidrogênio

IDL - Lipoproteína de densidade intermediária

IP - Fosfatidilinositol

IRS-1 - Substrato receptor de insulina-1

IRS-2 - Substrato receptor de insulina-2

LCAT - Colesterol lecitina aciltransferase

LDL - Lipoproteína de baixa densidade

LDLox - Lipoproteína de baixa densidade oxidada

LPO - Peroxidação lipídica

MBC - Membrana basal dos capilares

MCP-1 - Proteína quimiostática monocitária-1

M-CSF - Fator estimulante de colônia de macrófago

MDA - Malonildialdeído

NCEP - Programa Nacional de Colesterol dos Estados Unidos

NEG - Glicosilação não enzimática

OMS - Organização Mundial de Saúde

PCR- Proteína-C reativa

PPAR gama - Receptor nuclear gama de proliferação ativada do peroxissomo

RCT - Transporte de colesterol reverso

ROS - Espécie de oxigênio reativo

SDH - Sorbitol desidrogenase

SOD - Superóxido dismutase

SUR - Receptor de sulfoniluréia

TBARS - Substância reativa de ácido tiobarbitúrico

TTOG - Teste de tolerância oral à glicose

VLDL - Lipoproteína de muito baixa densidade

INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus é considerada um problema de saúde pública devido ao aumento da sua incidência com o crescimento populacional, longevidade, urbanização e aumento da obesidade e inatividade física. No mundo, estima-se que a prevalência, que era 2,8% (171 milhões de doentes) em 2000, aumentará para 4,4% (366 milhões de doentes) em 2030 (Wild *et al.*, 2004), e, no Brasil, espera-se que no ano de 2010, cerca de 11 milhões da população adulta sofra de diabetes (Ministério da Saúde, 2001). Estima-se ainda, que cerca de 20% dos doentes não realizam quaisquer tratamentos e quase a metade dos portadores desconhecem essa condição (WHO, 2003).

Já a hiperlipidemia aumenta o risco de doenças cardiovasculares, sendo a aterosclerose considerada a mais freqüente causa de doença cardíaca coronariana (DCC). Estudos epidemiológicos, clínicos, genéticos e experimentais indicam que altos níveis plasmáticos de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) estão associados à aterosclerose aumentando o risco de DCC (NCEP, 2002). Por outro lado, evidências sugerem que as lipoproteínas de alta densidade (HDL) exercem efeito antiaterogênico pela ação contra a oxidação de LDL (Assmann & Gotto, 2004). Como conseqüência, programas nacionais de saúde pública foram desenvolvidos para detectar, avaliar e tratar certas elevações de lipídeos no plasma, já que a doença ateromatosa está na origem das causas mais comuns de morte e incapacidade nos países industrializados (Criqui & Golomb, 1998).

A fitoterapia ou os tratamentos das doenças com preparados à base de plantas era uma prática natural desde os tempos mais remotos, sendo substituída por medicamentos obtidos sinteticamente em laboratórios. Atualmente, observa-se o ressurgimento da medicina natural, enfatizando as plantas medicinais no restabelecimento da saúde humana, possibilitando, assim, a valorização do saber popular sobre o uso de plantas, e, incentivando, pesquisas que procurem verificar a sua veracidade através de experimentos científicos (Borba & Macedo, 2006).

Diante disso, o objetivo desse estudo é avaliar o efeito biológico da associação das plantas *Calophyllum brasiliense*, *Connarus perrottetii* e *Rourea paraensis* (popularmente conhecidas como jacareúba, cipó miraruira e açoita cavalo, respectivamente) sobre a diabetes e *Calophyllum brasiliense* sobre a hiperlipidemia experimental em coelhos.

REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Diabetes

2.1.1 Conceito e classificação

Diabetes mellitus é uma síndrome de etiologia múltipla decorrente da falta de insulina e/ou da incapacidade desta exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica com distúrbios do metabolismo dos carboidratos, lipídeos e proteínas e, a longo prazo, é acompanhada por disfunção e falência de vários órgãos, principalmente decorrentes de lesões em nervos e vasos sanguíneos (American Diabetes Association, 2005).

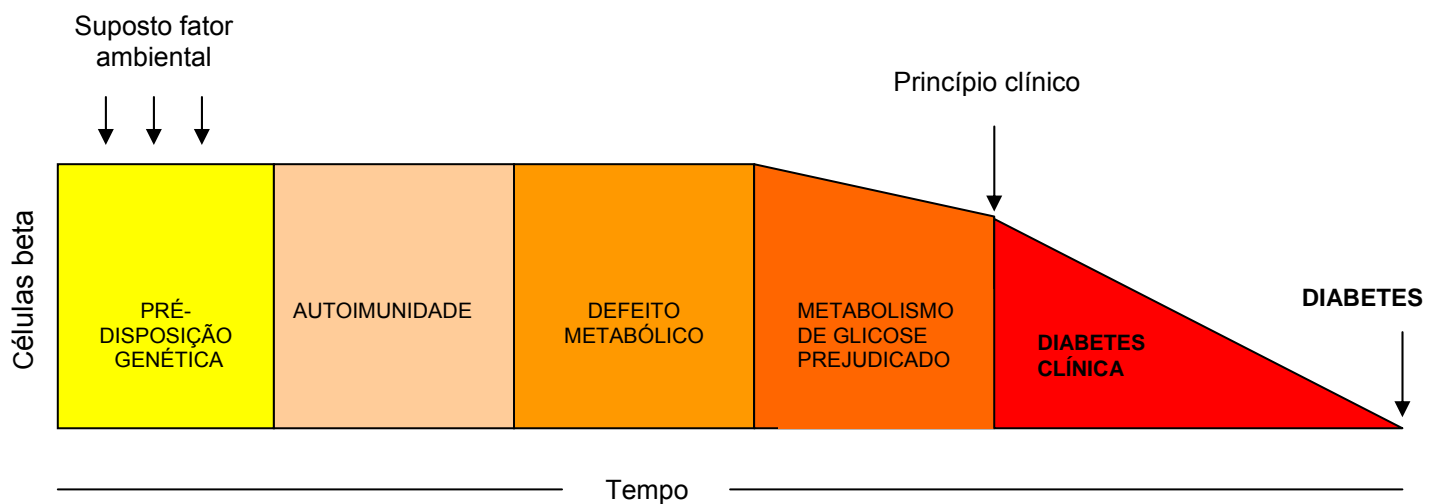
Diabetes tipo 1, também chamada de Diabetes insulino-dependente, é uma doença autoimune multifatorial, caracterizada pela destruição das células β secretoras de insulina das ilhotas no pâncreas mediada por células T. O processo destrutivo conduz para severa depleção de insulina, o que resulta em hiperglicemia, devido à superprodução hepática de glicose pela glicogenólise e gliconeogênese e diminuição celular do consumo de glicose na circulação (Kelly *et al.*, 2003; Liu & Eisenbarth, 2002).

Na ausência de insulina há também aumento na quebra de lipídeos e oxidação de ácidos graxos, resultando em produção excessiva de cetonas. Se não tratado, esse distúrbio metabólico conduz progressivamente à depressão do sistema nervoso central, coma e morte (Burge, Hardy e Schade, 1993). Dessa forma, a doença requer tratamento ao longo da vida com insulina exógena para sobrevivência (American Diabetes Association, 2005).

A taxa de destruição das células β varia de paciente a paciente, mas tende a ser mais agressiva em crianças e adolescentes. A variação de idade no aparecimento dos sintomas deve ser indicativa de heterogenicidade dos diferentes mecanismos levando a destruição das células β . Isso pode refletir o envolvimento de diferença genética e/ou determinantes de susceptibilidade ambiental (Kelly *et al.*, 2003). A doença inclui predisposição genética, autoimunidade (reconhecimento por anticorpos), defeito metabólico com progressiva perda da secreção de insulina, estágio pré-diabético, seguido de diabetes evidente (Figura 1).

Considerada como uma das doenças crônicas mais comuns entre crianças e adultos jovens, a diabetes tipo 1 pode se desenvolver em qualquer faixa etária, sendo mais freqüente antes dos 20 anos de idade, e, esse tipo acontece em aproximadamente 5 a 10% dos pacientes com diabetes (American Diabetes Association, 2005; Liu & Eisenbarth, 2002).

Figura 1: Representação esquemática da lenta e progressiva perda das células- β durante o desenvolvimento da diabetes tipo 1



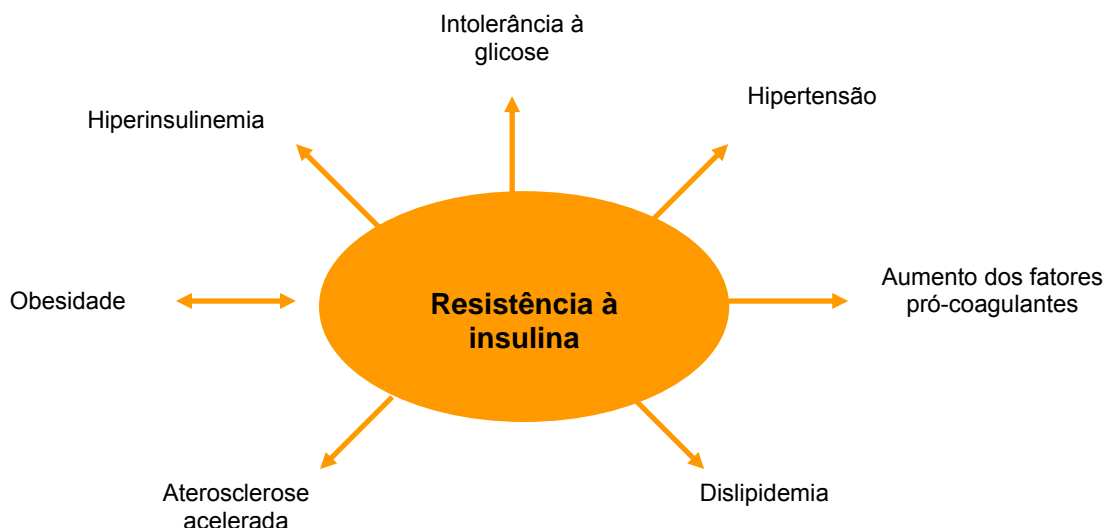
Fonte: Skyler, 2004

A diabetes tipo 2 é definida para indivíduos que apresentam resistência à insulina e usualmente têm deficiência parcial em sua secreção. Indivíduos com diabetes tipo 2 apresentam alterações que variam desde resistência a insulina predominante com deficiência de insulina relativa ou predominante deficiência da secreção de insulina com resistência à insulina (Scheen, 2005).

Diabetes tipo 2, o tipo mais comum que ocorre em 90-95% dos indivíduos que sofrem de diabetes, é referido como diabetes não insulino-dependente, com princípio na fase adulta. Pelo menos inicialmente, e, muito freqüentemente por todo o tempo de vida, esses indivíduos não necessitam de tratamento com insulina para sobrevivência ao contrário dos pacientes com diabetes tipo 1 (American Diabetes Association, 2005). A diabetes não insulino-dependente é muito comum devido ao

aumento da obesidade, estilo de vida sedentário e envelhecimento, que resultam em hiperglicemia e diabetes, elevação da pressão arterial e dislipidemia. De fato, coletivamente, essas anormalidades, as quais freqüentemente ocorrem juntas, têm sido designadas como “síndrome metabólica” (Santos & Barros, 2007). (Figura 2)

Figura 2: A síndrome metabólica



Fonte: Tripathi & Srivastava, 2006

A resistência à insulina aumenta com a obesidade (particularmente obesidade central), estilo de vida sedentário, e envelhecimento (talvez relatado na progressiva perda da massa muscular ou sarcopenia) e pode ter pré-disposição genética a ocorrência em alguns indivíduos. O mecanismo para o desenvolvimento da diabetes tipo 2 a partir da obesidade ocorre pela resistência à insulina e a normoglicemia é mantida por hiperinsulinemia até que as células β tornam-se incapazes de atender à maior demanda de insulina, iniciando-se, assim, a diabetes (Shimabukuro *et al.*, 1998). No entanto, a diabetes tipo 2 não emerge em todas as pessoas com resistência à insulina, mas somente naquelas com defeito na capacidade secretória de insulina. A patogênese dessa enfermidade indica que é necessária pré-disposição genética para ocorrer à resistência à insulina por defeitos nos transportadores de glicose e alteração na cascata de ação da insulina (Cline *et al.*, 1999).

2.1.2 Clínica e diagnóstico

Os critérios para diagnósticos apresentam três alternativas possíveis (Quadro 1), sendo a glicemia plasmática de jejum a preferencial. Assim, a glicemia de jejum $\geq 126\text{mg/dL}$ é diagnosticada como diabetes. Essa recomendação é baseada em novos dados populacionais que demonstram aumento acentuado de resultados adversos (isto é, alterações microvasculares) em pacientes que apresentem níveis glicêmicos pouco superiores a essa concentração e se constituem em um risco elevado na doença macrovascular. A segunda alternativa é conferida com sintomas de diabetes somada a aumento casual da glicose plasmática $\geq 200\text{mg/dL}$, e, como terceira alternativa tem-se o teste de tolerância oral à glicose (TTOG), realizado após a administração de 75g de glicose (PG) atingindo-se níveis $\geq 200\text{mg/dL}$ (American Diabetes Association, 2004).

Quadro 1: Critérios diagnósticos para *Diabetes mellitus*

Estágio	Glicemia de jejum	Glicemia casual	TTOG (2h após 75g de glicose)
Diabetes	$\geq 126\text{mg/dL}$ (7,0 mmol/l)	Glicose casual $\geq 200\text{mg/dL}$ com sintomas*	$\geq 200\text{mg/dL}$
Homeostase alterada da glicose	≥ 110 e $< 126\text{mg/dL}$		≥ 140 e $< 200\text{mg/dL}$
Normal	$< 110\text{mg/dL}$		2h PG $< 140\text{mg}$

*Sintomas: Os clássicos sintomas incluem poliúria, polidipsia e perda de peso não explicada.

Fonte: American Diabetes Association, 2004

Um novo estágio de homeostase alterada da glicose denominada “glicemia de jejum alterada” foi definido como a glicemia de jejum igual ou maior a 110mg/dL , mas menor que 126mg/dL . O estágio denominado “tolerância à glicose alterada” permanece e é definido por valor glicêmico maior ou igual a 140mg/dL mas menor do que 200mg/dL no teste de tolerância à glicose. Ambos os estágios são referidos

como estágios metabólicos da homeostase alterada da glicose que se situam em posição intermediária entre a homeostase normal da glicose e diabetes (American Diabetes Association, 2006).

Quando clinicamente manifesta, a diabetes se caracteriza por hiperglicemia de jejum e a suspeita clínica ocorre com o aparecimento de alguns sintomas como sede excessiva, poliúria, prurido e uma ou mais complicações normalmente atribuídas à doença. Diversas desordens metabólicas ocorrem nos pacientes com diabetes, manifestando-se por polifagia, polidipsia, glicosúria, perda de peso, astenia, anorexia entre outros (Hodgson *et al.*, 2006).

Alguns pacientes, particularmente crianças e adolescentes, podem apresentar cetoacidose como a primeira manifestação da doença. Outros têm modesta hiperglicemia de jejum que pode mudar rapidamente para severa hiperglicemia e/ou cetoacidose na presença de infecção ou outros estresses. Ainda outros, particularmente adultos, podem permanecer com função da célula β residual prevenindo cetoacidose por muitos anos (American Diabetes Association, 2005).

Normalmente a diabetes é descoberta através do resultado alterado de exame de sangue ou urina de rotina. Nos pacientes com diabetes tipo 2, cetoacidose raramente ocorre espontaneamente e é freqüentemente não diagnosticada por muitos anos devido à hiperglicemia se desenvolver gradualmente e quase sempre de forma não severa, suficientemente para o pacientes perceber os sintomas clássicos da diabetes (American Diabetes Association, 2005). Além disso, pode estar presente de forma intermitente como, por exemplo, com intolerância à glicose na gestação, que pode reverter após o parto (Ross, 2006).

No momento, a dosagem de hemoglobina glicosilada não é recomendada para diagnóstico, devendo ser medida rotineiramente em todos pacientes com diabetes para documentar grau de controle glicêmico. O tratamento deve alcançar resultados de acordo com estudos clínicos aleatórios prospectivos que demonstram a relação entre controle glicêmico, como quantificado pelas determinações de hemoglobina glicosilada, e risco do desenvolvimento e progressão de complicações crônicas da diabetes, já que a diminuição de hemoglobina glicosilada está acentuadamente associada à redução do risco de complicações (Stratton *et al.*, 2000).

O controle da glicose urinária não é recomendado como rotina para pacientes com *Diabetes mellitus*, já que o volume de urina formada afeta a concentração da

glicose diminuindo a sua determinação. O teste de excreção urinária de albumina não detecta o pequeno aumento de albumina urinária vista nos estágios prévios de nefropatia. Já microalbuminúria é definida como excreção de 30-300mg de albumina/24horas ou 30-300µg/mg de creatinina sobre 2 ou 3 coletas de urina na avaliação de severidade da proteinúria e sua progressão para determinar o impacto da terapia, e detecção prévia de microalbuminúria permite intervenção com o objetivo de retardar o início da nefropatia (Sacks *et al.*, 2002).

2.1.3 Metabolismo bioquímico

O principal carboidrato presente nos alimentos é o amido, seguido dos dissacarídeos sacarose e da lactose. Enzimas específicas, amilases (presentes na saliva e no estômago), sacarase, lactase, entre outras (presentes nas células da mucosa do intestino delgado), desdobram o amido e os dissacarídeos nos monossacarídeos glicose, frutose e galactose, que são absorvidos no intestino e, através do sistema porta, atingem o fígado (Guyton & Hall, 2006).

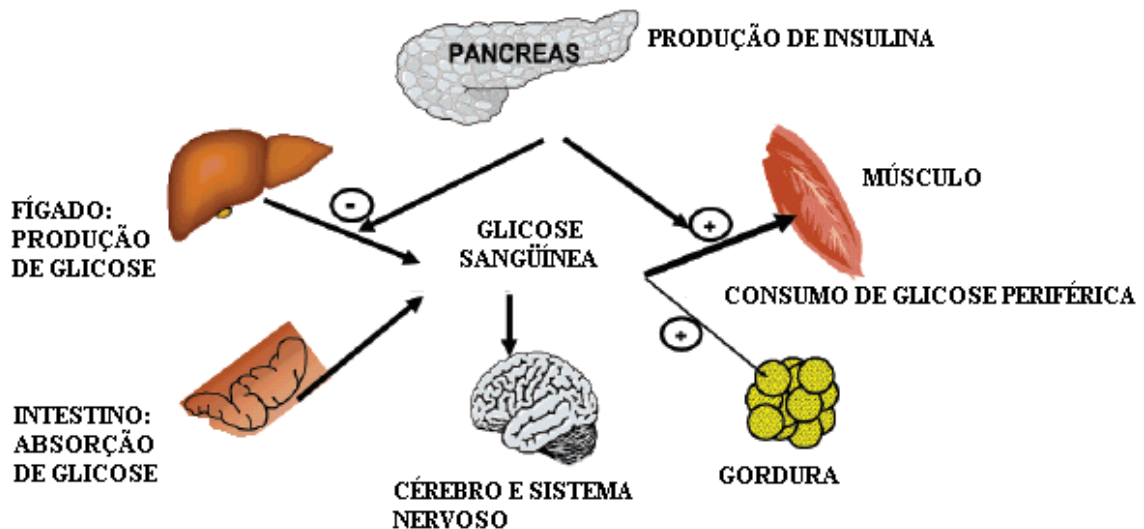
A glicose entra pelo consumo de alimentos via sistema digestório ou durante o estado basal com a produção de glicose hepática, a qual é modulada pela secreção basal de insulina. O cérebro e o tecido nervoso usam glicose independente de insulina, enquanto para os tecidos periféricos (representado na figura 3 pelo músculo e tecido adiposo) a insulina estimula o consumo e utilização da glicose (Skyler, 2004).

Os hepatócitos são livremente permeáveis aos monossacarídeos, não dependendo da insulina para o transporte da glicose. No entanto, a glicose é absorvida principalmente por via ativa, envolvendo fosforilação catalisada por hexoquinase e glicoquinase, com formação de glicose-6-fosfato, o que impede que essa hexose saia livremente da célula. A frutose e a galactose, por fosforilação e modificações enzimáticas, se transformam, em sua quase totalidade, em glicose-6-fosfato (Lehninger, Nelson, Cox, 2007).

No fígado, a glicose-6-fosfato pode ser convertida a glicogênio ou revertida à glicose e ser exportada, via corrente sangüínea, para o resto do organismo, onde será absorvida pelas células com a intermediação da insulina. A glicose pode ser

convertida em glicogênio, no tecido muscular, ou em gordura na forma de triacilgliceróis no tecido adiposo, para armazenamento, servir de fonte de esqueletos de carbono ou ser oxidada para produção de energia celular (Lehninger, Nelson e Cox, 2007).

Figura 3: Esquema da regulação de glicose sangüínea



Fonte; Skyler, 2004

A insulina é uma proteína, formada por 51 aminoácidos organizados em duas cadeias polipeptídicas (A e B, com 21 e 30 resíduos de aminoácidos). É secretada pelas células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas, em resposta à hiperglicemia. A exemplo de outros hormônios das ilhotas, a insulina é sintetizada como precursor (pré-pró-insulina) e no retículo endoplasmático rugoso. A pré-pró-insulina é transportada até o aparelho de Golgi, onde sofre clivagem proteolítica, inicialmente a pró-insulina e, em seguida, a insulina e a um fragmento denominado peptídeo C. A insulina e o peptídeo são armazenados nos grânulos da células β e normalmente são co-secretados por exocitose em quantidades eqüimolares, juntamente com quantidades menores e variáveis de pró-insulina. O principal fator que controla a síntese e a secreção de insulina é o nível de glicemia (Rang *et al.*, 2003).

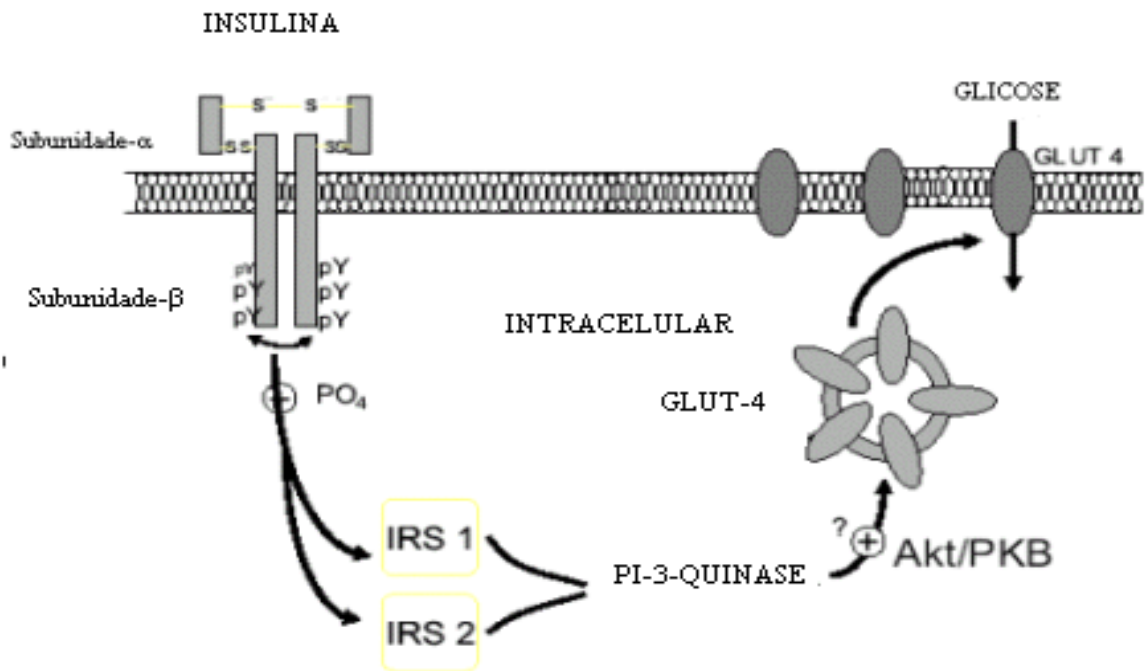
A ação do hormônio insulina inicia-se pela sua ligação aos receptores, que consiste de glicoproteínas localizadas nas membranas plasmáticas das células. A

insulina estimula o transporte de glicose para dentro dos tecidos muscular e adiposo, por promover a translocação de transportadores de glicose (glicoproteínas) intracelulares para a membrana. Os transportadores retornam ao interior celular após a liberação da insulina. A fosforilação da glicose garante sua difusão facilitada para dentro das células (Haber *et al.*, 2001). A insulina também promove a deposição de glicogênio por estimular a atividade da enzima glicogênio sintase, limitadora da taxa da síntese de glicogênio, e por inibir a glicogênio fosforilase, enzima limitadora da taxa de degradação do glicogênio (Jensen *et al.*, 2006).

A união da insulina aos seus receptores tirosina quinase, na membrana celular estimula a atividade de proteína quinase, intrínseca ao próprio receptor, específica para resíduos de tirosina. O primeiro passo seguindo essa ativação consiste em autofosforilação do receptor tornando-o ativo e desencadeando a fosforilação de vários substratos intracelulares. Os mais estudados desses substratos são as proteínas de alto peso molecular, substrato-receptor de insulina 1 e 2 (IRS-1 e IRS-2). Essas proteínas fosforiladas servem como sítios de ligação e ativação de outras proteínas intracelulares contendo domínio SH2 e estimulam a insulina através de duas principais seqüências de reações intercelulares em cascatas: uma é a via mediada pelas fosfatidinositol 3-quinase (IP E quinase) e a outra é a via das proteínas Ras (Figura 4). IRS-1 e IRS-2 são pontos importantes de divisão da sinalização da insulina e representam vários pontos potenciais de regulação de doenças (Haber *et al.*, 2001).

No adipócito, a glicose destina-se à síntese dos triacilgliceróis. A insulina promove a penetração dos ácidos graxos livres que irão se combinar com o glicerol para formar triacilgliceróis. Por outro lado, a insulina impede a fragmentação dos triacilgliceróis, isto é, possui ação antilípica. Essa ação é exercida através da inibição da adenilato ciclase, impedindo a lipólise mediada pelo AMPc e a insulina também inibe a atividade da lipase dos adipócitos, enzima que hidrolisa os triacilgliceróis em ácidos graxos e glicerol (Kershaw *et al.*, 2006).

Figura 4: Via sinalizadora da insulina



Fonte: Bhattacharya, Dey e Roy, 2007

Em contrapartida ao efeito da insulina, o glucagon hormônio contraregulatório à insulina aumenta os níveis plasmáticos de glicose plasmática em resposta a hipoglicemia, mantendo a homeostase da glicose *in vivo* (Jiang & Zhang, 2003) diminuindo a produção de glicose pela glicólise e estimulando a produção de glicose para exportação pela gliconeogênese, determinando a síntese e a quebra do glicogênio, juntamente com a insulina. Esses hormônios, pela regulação do nível de AMPc em seu tecido-alvo, determinam a relação entre as formas ativa e menos ativa da fosforilase do glicogênio e da glicogênio sintase, e, também regulam a concentração de frutose-2,6-bifosfato, e, conseqüentemente, o equilíbrio entre gliconeogênese e glicólise (Lehninger, Nelson, Cox, 2007).

2.1.4 Complicações crônicas

As complicações crônicas da diabetes dividem-se em microangiopatia, macroangiopatia e neuropatia.

A microangiopatia é uma enfermidade característica dos pequenos vasos, associada de forma específica a *Diabetes mellitus* e que se manifesta como nefropatia e retinopatia (Fong *et al.*, 2004; Veldman & Vervoot, 2002).

A neuropatia diabética pode se manifestar tanto por lesão em nervos periféricos como por disfunção autônoma podendo afetar vários sistemas como o cardiovascular, digestório e o geniturinário (Sato *et al.*, 2006).

A macroangiopatia consiste na enfermidade aterosclerótica dos grandes vasos, como coronárias, artérias centrais, carótidas e periféricas, principalmente de membros inferiores (Siqueira, de Almeida-Pititto, Ferreira, 2007).

Os mecanismos que levam às complicações crônicas da diabetes envolvem glicação não enzimática das proteínas (GNE); atividade da via dos polióis; mioinositol, fosfoinosítídeos e Na,K-ATPase; glicações não enzimáticas das membranas basais; alteração da plaquetas e da função endotelial, além de alterações hemodinâmicas e no metabolismo dos lipídeos.

A glicação não enzimática das proteínas (GNE) consiste na adição de glicose na porção terminal N da cadeia protéica e dos aminoácidos dentro da cadeia. A adição de glicose à proteína faz-se lentamente e depende tanto do tempo de contato entre a glicose à proteína como também da concentração da glicose (Stitt & Curtis, 2005). A formação da hemoglobina glicosilada ocorre via reação de glicação não-enzimática entre o grupo aldeído livre da glicose ou outros açúcares e um grupo amino livre na molécula da hemoglobina. Essa reação é conhecida como reação de Maillard e envolve a formação de um composto intermediário instável (base de Schiff), que se forma rapidamente e é proporcional à concentração de glicose (Bunn *et al.*, 1976).

Reações de auto-oxidação de moléculas como glicose e vitamina C, catalisadas por pequena quantidade de metais de transição livre como ferro e cobre, são fontes poderosas de radicais livres de oxigênio que aceleram a formação de produtos de glicosilação avançada, os quais se transformam em suprimento para os radicais livres de oxigênio, iniciando o processo auto-oxidativo de glicosilação

(Baynes & Thorpe, 1999).

Atividade da via dos polióis é considerada importante no aspecto patogênico, pois a captação de glicose pelo tecido retiniano é independente da insulina. Os níveis de glicose nesse tecido estão em equilíbrio com a glicemia plasmática e o excesso desta ativa a via dos polióis, que converte glicose em sorbitol, através da aldose redutase e sorbitol em frutose pela ação da sorbitol desidrogenase. Em muitos tecidos, o acúmulo celular de sorbitol é negligenciável; no entanto, na retina, assim como nos tecidos renal e nervoso, o aumento na concentração intracelular de sorbitol resulta em efeitos osmóticos adversos, os quais levam ao aumento de influxo de líquido, às alterações na permeabilidade da membrana e ao subsequente início da patologia celular (Bosco *et al.*, 2005).

Mioinositol, fosfoinosítídeos e Na, K-ATPase no tecido nervoso e provavelmente na retina e rim, a hiperglicemia inibem competitivamente a captação de inositol dependente de sódio, levando à redução do mioinositol intracelular e do fosfatidinositol da membrana celular (Schmid, 2007). A diabetes altera a atividade da enzima Na⁺K⁺ATPase, troca Na⁺ por K⁺, gerando gradientes eletroquímicos que são essenciais ao transporte de água e eletrólitos através da membrana celular (Busik *et al.*, 1997). Na hiperglicemia, há redução de mioinositol devido à inibição competitiva entre glicose e mioinositol no sistema de transporte específico dependente de Na⁺ (Nascimento *et al.*, 2006).

Glicação não enzimática das membranas basais caracteriza a microangiopatia que consiste no espessamento da membrana basal dos capilares (MBC), pelo acúmulo de carboidratos. A glicose acelera a atividade das enzimas que participam na formação da MBC. Elevados níveis de glicose causam peroxidação de lipídeos da membrana do eritrócito e aumento de sua fragilidade osmótica acarretando dano e maior estresse oxidativo (Montagut, 2003).

Alteração das plaquetas e função endotelial na diabetes ocorre pelo aumento da agregação plaquetária, aparecimento de microtrombos, diminuição da via média das plaquetas, diminuição da atividade fibrinolítica e aumento do Fator de Von Willebrand que se liga ao colágeno e outros componentes da parede vascular servindo como mediador da adesão plaquetária desencadeando dano nos vasos (Watala, Boncler, Gresner, 2005; Lopes *et al.*, 2007) contribuindo para aumento do

risco de macroangiopatia e microangiopatia.

Alterações hemodinâmicas na hiperglicemia são provocadas pelo aumento do volume vascular e do fluxo sanguíneo nos leitos capilares de alguns tecidos. No rim, há aumento da pressão transcápsular glomerular, que produz lesão celular direta, com aumento da matriz mesangial, proteinúria e glomerulosclerose. A lesão renal progressiva acarreta mudanças na permeabilidade da barreira glomerular agravando a proteinúria (Veldman & Vervoort, 2002).

Alterações no metabolismo dos lipídeos na diabetes estão associadas freqüentemente à diminuição do colesterol HDL que são as partículas de alta densidade, e, à redução das partículas de baixa densidade LDL e VLDL que estão associadas ao aparecimento da placa de aterosclerose. A glicação de lipoproteínas facilita sua oxidação e aumenta seu poder de agressão ao endotélio, além da formação de outros produtos finais de glicação, que promovem a disfunção endotelial generalizada (Laakso, 1999).

2.1.5 Terapêutica farmacológica

Os medicamentos antidiabéticos podem ser divididos em três grupos de acordo com o seu mecanismo de ação básica: sulfoniluréias e glinidas que estimulam a produção de insulina pelo pâncreas (Proks *et al.*, 2002; Wolffenbuttel, 1999), biguanidas e tiazolidinedionas que são sensibilizadores da ação da insulina (Smits & Tack, 2002; Kudzma, 2002) e inibidores da α -glicosidase que reduzem a absorção de carboidratos (Laar *et al.*, 2005). Além desses hipoglicemiantes orais, o uso de insulina e/ou análogos de insulina são requeridos obrigatoriamente no tratamento da diabetes tipo 1 para a normalização e controle dos níveis glicêmicos (Aragona *et al.*, 2005) e passa a ser também necessária para pacientes com diabetes tipo 2 durante períodos de estresse ou quando a dieta ou agentes hipoglicemiantes orais se tornam inoperantes requerendo-se, assim, o controle metabólico através da administração de insulina (Kuritzky, 2006).

O tratamento convencional com compostos a base de sulfoniluréia aumenta os níveis de insulina plasmática, reduzindo sua depuração hepática e estimulando a liberação de insulina do pâncreas por meio do bloqueio dos canais de K^+

dependente de ATP, despolarização da membrana e influxo da Ca^{++} através dos canais de Ca^{++} sensíveis à voltagem (Sunaga *et al.*, 1999). Canais K_{ATP} são encontrados em uma variedade de outros tipos de células incluindo músculo cardíaco, liso e esquelético e alguns neurônios (Proks *et al.*, 2002). Entretanto, tradicionalmente, sulfoniluréias não são específicas para células β pancreáticas e também podem se ligar aos canais de potássio em cardiomiócitos e células do músculo liso vascular (Bell, 2006).

Inibidores da atividade do canal de K_{ATP} constituem dois grupos: aqueles que interagem com receptor Kir6.2 e aqueles que interagem com receptor SUR. Antimaláricos bloqueiam canal K_{ATP} pela ligação a Kir6.2 e sulfoniluréias e derivados de benzamida (ex: meglitinida) fecham canal de K_{ATP} pela ligação com alta afinidade para SUR, embora sulfoniluréias interajam com Kir6.2, mas com baixa afinidade (Proks *et al.*, 2002).

As glinidas que incluem repaglinida (derivado de ácido benzóico) e nateglinida (derivado de fenilalanina) são similares as sulfoniluréias com interação a canais de K_{ATP} conduzindo à secreção de insulina cálcio-dependente, só distinguindo-se dessas pela meia vida metabólica curta, a qual resulta em breve estimulação da secreção de insulina. Essas moléculas, além de regular os canais de potássio por um sítio de ligação distinto e de serem excretadas pelo fígado e bile (Wolffenbuttel, 1999; Perfetti & Ahmad, 2000), constitui-se em medicamento promissor para pacientes com função renal reduzida.

A biguanida (metformina) usada comercialmente em diferentes países ainda não tem seu mecanismo de ação completamente elucidado. Sua maior ação em pacientes com diabetes é diminuir a glicose hepática com estímulo da glicólise anaeróbia e inibição da gliconeogênese desencadeando aumento na ação da insulina nos tecidos periféricos e redução no débito hepático de glicose (Nisbet *et al.*, 2004).

Troglitazonas, uma tiazolinediona foi retirada do mercado por provocar injúria hepatocelular (Murphy *et al.*, 2000), mas continuam sendo usados novos representantes dessa classe como rosiglitazona e pioglitazona. São agentes sensibilizadores de insulina, com ação via ativação do receptor nuclear gama de proliferação ativada do peroxissomo (PPAR-gama) e subsequente alteração na expressão dos genes envolvidos no metabolismo dos lipídeos e carboidratos

(Mudaliar & Henry, 2001). A redução da glicemia é atribuída à melhora da sensibilidade à insulina hepática durante o estado pós-absortivo, resultando em diminuição da produção de glicose hepática, melhora da sensibilidade à insulina no músculo em condições de hiperinsulinemia com aumento do consumo de glicose tecidual e dos níveis de adiponectina circulante, além de melhorar a sensibilidade à insulina no tecido adiposo (Gastaldelli *et al.*, 2006).

Os inibidores da α -glicosidase são acarbose, miglitol e voglibose que agem retardando a absorção de carboidratos no intestino delgado e diminuem a glicose sangüínea pós-prandial e concentração de insulina (Laar *et al.*, 2005) inibindo a capacidade das enzimas digestórias reduzirem os oligo e dissacarídeos em monossacarídeos.

A insulina usada no tratamento da diabetes foi durante muito tempo purificada a partir do pâncreas de suínos e bovinos. Trata-se, no entanto, de uma abordagem pouco eficiente e cara, prejudicada pelo fato das pequenas diferenças existentes entre a insulina animal e humana provocar alergias graves. A purificação de insulina animal e a preparação e o uso de insulina recombinante humana tem reduzido acentuadamente a incidência, mas não tem suprimido completamente a ocorrência de manifestações alérgicas a insulina (Raskin & Clements, 1991). Hoje, elaboradas de forma quimicamente idêntica à insulina humana, através de tecnologia de recombinação do DNA ou modificação química da insulina de suínos, foram desenvolvidas insulinas análogas através da modificação da seqüência do aminoácido da molécula de insulina (Rang *et al.*, 2003).

A insulina é comercializada nas formas de ação rápida, curta, intermediária e longa. A insulina “lispro” tem início de ação mais rápida, efeito hipoglicemiante com pico precoce e menor duração permitindo maior controle da glicemia nas primeiras 3 a 4 horas após as refeições. Já a insulina “NPH” é uma insulina com uma duração intermediária e sua ação se inicia duas horas após injeção durando cerca de 18 horas. Dentre os análogos da insulina de ação lenta, inclui-se a “glargina”, insulina recombinante humana com modificação no ponto isoelétrico que produz um atraso no nível de absorção e aumento na duração de ação, não apresentando pico evidente e proporcionando efeito contínuo por 24 horas, imitando assim a secreção basal fisiológica e menor risco de hipoglicemia noturna severa (Bolli *et al.*, 1999).

2.2 Hiperlipidemia

2.2.1 Conceito e classificação

A hiperlipidemia é o aumento de triacilgliceróis e/ou colesterol no plasma sangüíneo, sendo o volume de colesterol circulante associado à absorção intestinal, síntese endógena, captação tissular, metabolismo lipoprotéico e excreção biliar (Arafa, 2005), e, está relacionada aos alimentos ingeridos e capacidade de absorção destes (Sun *et al.*, 2000).

Pode-se distinguir dois tipos de hipercolesterolemia: a primária derivada de problemas nos sistemas transportadores de colesterol e a fatores genéticos que se denominam hipercolesterolemia familiar (Quadro 2), e, a secundária que ocorre quando o aumento do colesterol se associa a certas enfermidades hepáticas (hepatite, colestase e cirrose), endócrinas (*Diabetes mellitus*, hipotireoidismo e anorexia nervosa), ou ainda renais (síndrome nefrótica e insuficiência renal crônica), dieta (rica em colesterol ou em alimentos ricos em ácidos graxos saturados). Ademais, existem algumas substâncias que podem aumentar os níveis de colesterol favorecendo a hipercolesterolemia como os esteróides anabolizantes, progesteronas e os betabloqueadores (Santos, Guimarães e Diamant, 1999).

Quadro 2: As hiperlipoproteinemias primárias

Distúrbio	Colesterol	Triacilgliceróis
Quilomicrons	+	+++
LDL	++	Não elevado
LDL + VLDL	++	++
VLDL	+	++
Quilomicrons + VLDL	+	++

Fonte: Rang *et al.*, 2003

A hipertrigliceridemia definida como concentração anormal de triacilglicerol no sangue pode, também, ser primária ou secundária. Hipertriacilgliceridemia primária é o resultado de vários defeitos genéticos conduzindo a desordens no metabolismo de triacilgliceróis (Fung & Frohlich, 2002). Causas secundárias são adquiridas como, alto teor de lipídeos na dieta, obesidade, diabetes, hipotireoidismo e certas medicações (Quadro 3).

Quadro 3: Causas de hipertriacilgliceridemia

Causa	Aumento da produção de triacilglicerol	Diminuição do clearance de triacilglicerol
Primária		
Hiperlipidemia combinada familiar	+	-
Hipertriacilgliceridemia familiar	+	+
Hiperlipoproteinemia tipo III	++	-
Secundária		
Diabetes mellitus	++	+
Obesidade	++	+/-
Álcool	++	+/-
Dieta (excessivo consumo de carboidratos)	++	-
Síndrome nefrótica	++	+
Hipotireoidismo	+	+
Medicamentos		
Reposição estrogênica	+	-
Beta bloqueadores	+	+
Drogas imunossupressoras	++	-
Inibidores de protease	-	+

Fonte: Fung & Frohlich, 2002

A associação entre hiperlipidemia e doença aterosclerótica estão intimamente relacionadas para fatores de riscos acentuados envolvidos em anormalidades metabólicas: pequenas lipoproteínas de baixa densidade (LDL), diminuição das lipoproteínas de alta densidade (HDL), resistência à insulina, hipertensão e estado pró-trombótico (Ballantyne *et al.*, 2000).

2.2.2 Clínica e diagnóstico

De acordo com o guia “National Cholesterol Education Program” (NCEP ATP III, 2002), um nível normal de triacilglicerol é < 150mg/dL (Quadro 4), considerando

como base o risco dividido em categorias para o diagnóstico e tratamento de hipercolesterolemia (Pejic & Lee, 2006).

Fatores de risco positivos para prevenção primária são: idade (≥ 45 anos em homens e ≥ 55 anos em mulheres, ou com menopausa prematura sem terapia de reposição estrógena); histórico familiar de prematura DCC (infarto miocárdial ou morte súbita antes dos 55 anos de idade para pai e menos de 65 anos para mãe, ou parentes de 1º grau); fumante; hipertensão ($\geq 140/90$ mm Hg, ou sobre medicação antihipertensiva); baixo HDL (< 35 mg/dL) e *Diabetes mellitus* (Ballantyne *et al.*, 2000).

Na maioria das vezes, hiperlipidemia é descoberta após realização de perfil lipídico de rotina. Entretanto, várias hipertriacilgliceridemias (> 500 mg/dL) podem causar pancreatite, xantomas eruptivos ou lipemia retiniais. Em alguns casos, de níveis de quilomícrons extremamente altos podem causar síndrome de quilomicronemia, o qual é caracterizado por recorrente dor abdominal, náusea, vômito e pancreatite. Nessa condição, triacilgliceróis são tipicamente > 2000 mg/dL (Pejic & Lee, 2006).

Os valores de referência para colesterol total, LDL e HDL no adulto (homens e mulheres com idades > 20 anos, atualmente aceitos, são os recomendados pela Sociedade Brasileira de Cardiologia (Departamento de Aterosclerose), de Patologia Clínica e de Análises Clínicas e de acordo com o último consenso do Programa Nacional de Colesterol dos Estados Unidos em 2001 (NCEP- National cholesterol Education Pro-gram) (Quadro 3).

Os valores para os triacilgliceróis são os recomendados pela Sociedade Européia de Aterosclerose (Quadro 4).

A NCEP recomenda realizar exames de lipídeos em jejum (colesterol total, LDL, HDL e triacilgliceróis) em pacientes a partir de 20 anos e repeti-los de cinco em cinco anos (Pejic & Lee, 2006).

Quadro 4: Valores de referência de colesterol total, LDL, HDL e Triacilglicerol em adultos

Lípides	Valores (mg/dL)*		
	Desejáveis	Limítrofes	Aumentados
Colesterol total	< 200	200- 239	≥ 240
LDL	< 130	130-159	≥ 160
HDL	≥ 35	-	-
Triacilglicerol	< 200	-	≥ 200

* Multiplicar por 0,02586 para transformar mg/dL de Colesterol total, LDL e HDL em mmol/L; para o oposto multiplicar por 38,6. Multiplicar por 0,01196 para transformar mg/dL de triacilglicerol em mmol/L; para o oposto multiplicar por 88,5. Devem ser considerados em conjunto com valores de LDL e HDL.

Fonte: Kreisberg & Oberman, 2003

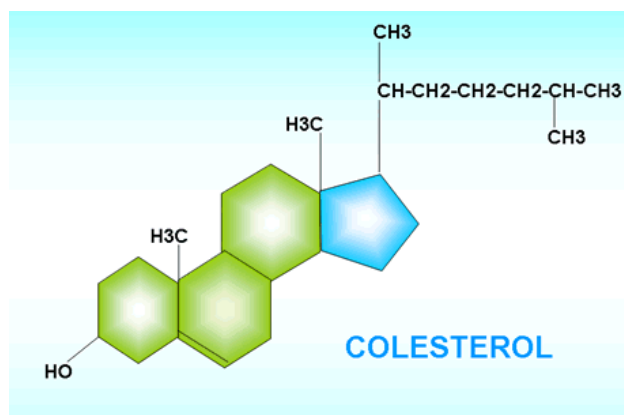
Em pacientes assintomáticos saudáveis sem fator de risco é aceitável obter níveis de colesterol total e HDL em “não jejum” de cinco anos em cinco anos ao longo da vida. Entretanto, em pacientes com DCC, riscos equivalentes, dislipidemia familiar, ou fatores de risco para DCC, o perfil lipídico deve ser obtido anualmente (Pejic & Lee, 2006).

2.2.3 Metabolismo bioquímico

Os lipídeos têm papel importante em praticamente todos os aspectos da vida. Servem como hormônios ou precursores destes, auxiliando na digestão, além de componentes funcionais e fonte de energia metabólica. Agem também como componentes estruturais das biomembranas e como isolantes, permitindo a condução nervosa, e, com isso, evitando a perda de calor (Lehninger, Nelson e Cox, 2007).

O colesterol é encontrado em praticamente todas as células e líquidos orgânicos, sendo um álcool sólido contendo 27 átomos de carbono, possuindo um esqueleto tetracíclico do ciclopentano peridrofenantreno (Figura 5).

Figura 5: Estrutura química do colesterol



Fonte: Lehninger, Nelson, Cox, 2007

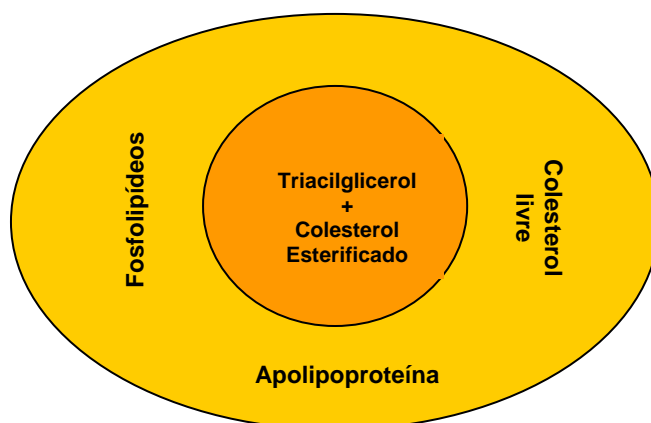
Para ser absorvido, o colesterol não-esterificado (forma livre) tem que ser primeiramente, solubilizado, o que é obtido pela formação de micelas mistas que contém colesterol não esterificado, ácidos graxos, monoglicerídeos, fosfolipídeos e ácidos biliares conjugados. A absorção máxima ocorre no intestino delgado (íleo médio e terminal). Depois de absorvido para as células da mucosa, o colesterol juntamente com os triacilgliceróis, fosfolipídeos e várias apolipoproteínas específicas é reacondicionado em uma grande micela, chamada de quilomícron (Santos, Guimarães e Diament, 1999).

Embora parte do colesterol do organismo seja originada pela ingestão alimentar, a maior parte, no entanto, é sintetizada pelo fígado e outros tecidos a partir de moléculas mais simples, particularmente pela via do acetato. Quase 90% da síntese ocorrem no fígado e no intestino; as células periféricas e outros órgãos dependem, portanto, em grande parte, do recebimento do colesterol da circulação. A síntese hepática parece ser inibida pelo colesterol recém-absorvido (Gomes & Carmo, 2006).

Devido à natureza hidrofóbica das gorduras neutras (triacilgliceróis e ésteres de colesterol), o transporte de lipídeos pelo plasma não seria possível sem alguma forma de adaptação hidrofílica. Os lipídeos são transportados por uma série de micelas chamadas de lipoproteínas, constituídas de monocamada externa de proteína (apolipoproteína) e lipídeos polares (fosfolipídeos e colesterol não-esterificado), bem como de cerne interno de lipídeos neutros, triacilgliceróis e ésteres de colesterol (Figura 6). Os lipídeos neutros do cerne são principalmente

“passageiros” inativos, enquanto as apolipoproteínas são basicamente responsáveis pelo metabolismo e catabolismo posterior da partícula. Embora o tamanho do cerne dependa da quantidade de esterol neutro, a monocamada superficial, em todas as classes de lipoproteínas, é constituída por uma camada de proteína, fosfolípido e colesterol não-esterificado (Stein & Myers, 1995).

Figura 6. Esquema de uma molécula de lipoproteína



Fonte: Stein & Myers, 1998

Uma vez sintetizado, o colesterol é transportado na forma de lipoproteínas. No compartimento vascular e na periferia, é esterificado por ácidos graxos pelas enzimas lecitina colesterol aciltransferase (LCAT), no plasma, e acil colesterol aciltransferase (ACAT), dentro das células. Os ésteres de colesterol constituem cerca de 70% do colesterol total no plasma. Ao penetrarem em uma célula, os ésteres são hidrolisados por esterases específicas (lipases) e aproximadamente um terço da produção diária de colesterol é catabolizado para ácidos biliares (Ikonen, 2006).

Os ácidos biliares primários, cólico e quenodesoxicólico, são conjugados com a glicina ou a taurina, e penetram nos canais biliares. Após atingirem o intestino delgado, exercem papel ativo na absorção do colesterol e lipídeos. Parte dos ácidos biliares é desconjugada e transformada, pelas bactérias no intestino, em ácidos biliares secundários, reabsorvidos e devolvidos ao fígado pela veia porta,

completando, assim, a circulação enteroepática. O transporte de ácido biliar, o qual controla sua reabsorção, participa da função modulatória no pool de ácidos biliares e exercem feedback regulatório negativo da 7 α -hidroxilase que, é a enzima “taxa limitante” na via sintética clássica de ácidos biliares (Xu *et al.*, 2000).

As lipoproteínas são divididas em cinco principais classes de densidade de acordo com sua densidade: quilomícrons, lipoproteína de muito baixa densidade (VLDL), lipoproteína de densidade intermediária (IDL), lipoproteína de baixa densidade (LDL), lipoproteína de alta densidade (HDL). Associadas a estas lipoproteínas há pelo menos cinco apolipoproteínas principais rotuladas de A a E. (Quadro 5)

Quadro 5: Apolipoproteínas principais e secundárias

Apolipoproteína	Função	Peso molecular	Local de síntese
A-I	Ativação da LCAT; drenagem de colesterol	28.300	Fígado, intestino
A-II	Inibição da LCAT; transporte lipídico	17.000	Fígado, intestino
A-IV	Transporte de triacilgliceróis em quilomícrons		Intestino
B-100	Transporte e depuração dos lipídeos	8.000-275.000	Fígado
B-48	Transporte em quilomícrons		Intestino
C-I	? Ativação da LCAT	6.331	Fígado
C-II	Ativação da lipoproteína lipase	8.837	Fígado
C-III	? Inibição da lipoproteína lipase	8.764	Fígado
D	? Ativação da LCAT; transferência de lipídeos	22.100	?
E-II	?	38.000	Fígado
E-III	Depuração da IDL	38.000	Fígado
E-IV	Depuração da IDL	39.500	Fígado

Fonte: Fung & Frohlicj, 2002.

2.2.4 Complicações

Níveis elevados de LDL constituem o maior fator de risco em doenças cardiovasculares, pois o LDL está diretamente envolvido na aterogênese através da indução de fenótipo inflamatório na parede da artéria. Essa inflamação é exercida principalmente pela LDL após sua modificação estrutural (Stocker & Keaney, 2004).

Entre as desordens metabólicas lipídicas, a aterosclerose é uma das que mais provocam lesões nas artérias. Ao contrário, as lipoproteínas de alta densidade (HDL) participam do transporte reverso do colesterol (RCT), onde o colesterol sintetizado ou depositado em tecidos periféricos é transportado de volta ao fígado para ser excretado. Por esse motivo, as concentrações plasmáticas de HDL são inversamente correlacionadas ao risco de aterosclerose e às doenças coronárias. Níveis baixos de HDL podem promover a aterogênese, participando do processo de inibição da inflamação endotelial (Lewis & Rader, 2005).

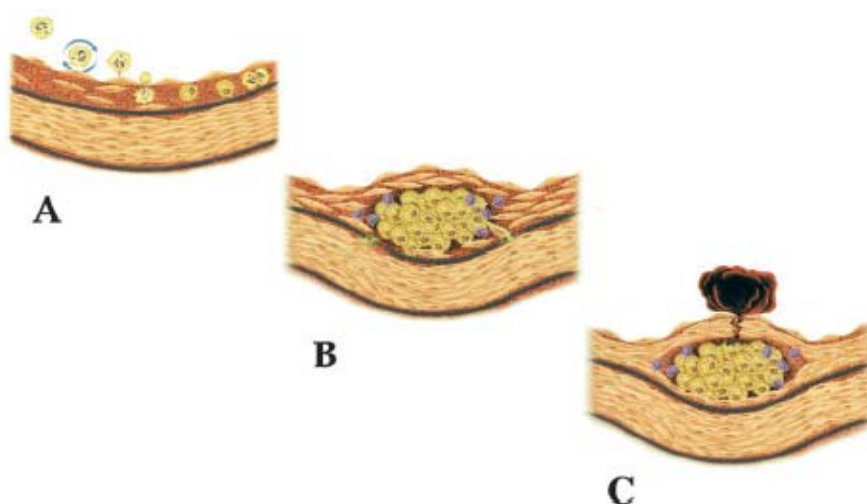
Placa aterosclerótica é a maior causa de trombose e subsequente manifestação clínica aguda de aterosclerose, angina instável, infarto miocárdial, e derrame (Lee & Libby, 1997).

Nas dislipidemias, as lipoproteínas de baixa de densidade (LDL_{ox}) penetram através do endotélio lesado ou disfuncional exercendo estresse de cisalhamento e seguido por recrutamento de monócitos pela indução da expressão endotelial de moléculas de adesão celulares. Após a aderência dos monócitos, outras moléculas específicas, como a proteína quimioestática monocitária-1 (MCP-1) e o fator estimulante de colônia de macrófagos (M-CSF), atraem e modificam os monócitos no espaço subendotelial. Após penetração na parede vascular, os monócitos diferenciam-se em macrófagos, os quais são responsáveis pela conversão de LDL levemente oxidadas em LDL altamente oxidadas que se ligam a receptores de “limpeza” dos macrófagos e penetram em células espumosas (Libby *et al.*, 2002). A dislipidemia envolvendo hipertriacilgliceridemia diminui o nível de lipoproteína de alta densidade (HDL), preponderância de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e a acumulação de partículas rica em colesterol emergem o maior entre os fatores de risco para doença cardiovascular (Gomes e Carmo, 2006).

Quando células endoteliais são ativadas, elas aumentam a expressão de

várias moléculas de adesão e penetram na íntima. Várias citocinas parecem participar desse processo, particularmente interagindo com monócito. No ateroma macrófagos expressam receptores “scavenger” que se ligam e internalizam partículas de lipoproteínas modificadas pela oxidação ou glicação (Figura 7). Esse processo aumenta as células espumosas, o qual resulta na acumulação de lipídeos na íntima e o espessamento provoca o remodelamento, uma dilatação da artéria compensatória ao estreitamento do lúmen. Ciclos repetidos de acúmulo e ativação de células mononucleares, migração e proliferação das células musculares lisas com produção de colágeno levam ao aumento progressivo da lesão (Kleemann & Kooistra, 2005).

Figura 7: Participação da inflamação em todos os estágios da aterosclerose



Fonte: Kleemann & Kooistra, 2005

Várias linhas de evidências sugerem associação entre lipídeos e ruptura das placas ateromatosas. Hipercolesterolemia é forte preditor de evento coronário agudo decorrente de crescimento e desestabilização de placa determinada pela quebra de colágeno com perda local celular de fonte de síntese de colágeno (Rekhter *et al.*,

2000). Sítios de trombose fatal onde as placas se rompem por falha mecânica. As células endoteliais sofrem apoptose sob estímulo inflamatório, ou secretam proteinases estimuladas pela LDL oxidada, favorecendo a lesão da íntima. Assim, o desequilíbrio entre as propriedades pró-trombóticas e fibrinolíticas do endotélio favorece a trombogênese. As células endoteliais expressam fator tissular pró-coagulante e aumentam a produção do inibidor do ativador do plasminogênio. O processo inflamatório presente no endotélio da lesão aterosclerótica diminui sua produção de óxido nítrico; adicionalmente, as espécies de oxigênio reativo (ROS) podem neutralizar seu efeito vasodilatador provocando vasoespasmo ou diminuir sua ação antiinflamatória, ou, ainda, inibir seus efeitos antiagregação plaquetária (Siqueira, Abdalla, Ferreira, 2006).

2.2.5 Terapêutica farmacológica

Os agentes hipolipidêmicos ou hipolipênicos são fármacos empregados nas desordens de metabolismo lipídico e que também são usados para diminuir a prevalência e mortalidade de doenças causadas por aterosclerose (Nakashima, 2000).

Tratamento de hiperlipidemia envolve controle dietético e exercício, e o uso de dietas e fármacos para diminuir os níveis de lipídeos (Kreisberg & Oberman, 2003).

Os medicamentos hipolipidêmicos podem ser divididos em dois grandes grupos: os de ação preponderantes sobre a colesterolemia que são os inibidores enzimáticos da síntese do colesterol, resinas seqüestradoras de ácidos biliares, probucol e ezetimiba; e os medicamentos de ação sobre a hipertrigliceridemia que são os fibratos, ácido nicotínico e ômega 3.

As estatinas são os fármacos inibidores da HMG-CoA redutase (Hidroxi metil glutaril Co-A), considerados, atualmente, como o medicamento de primeira escolha para pacientes com altos níveis de LDL (Blum, Simsolo e Hasin, 2004; Rutishauser, 2006). Seus efeitos são atribuídos à capacidade de reduzir a síntese de colesterol endógeno inibindo competitivamente a principal enzima envolvida. Além disso, aumentam a degradação de LDL, inibindo a secreção de lipoproteínas e oxidação de LDL, modulam uma série de processos que reduzem o acúmulo de colesterol

esterificado dentro de macrófagos, aumentam a óxido nítrico sintetase endotelial, reduzem o processo inflamatório, aumentam a estabilidade de placas ateroscleróticas e restauram a atividade plaquetária e o processo de coagulação (Stancu & Sima, 2001).

A colestiramina e o colestipol são resinas de troca iônica que se ligam a ácidos biliares formando complexos, eliminados pelas fezes, impedindo a recirculação dessas substâncias. Para compensar essas perdas, o fígado aumenta a conversão de colesterol a ácidos biliares, reduzindo a colesterolemia. Esse processo estimula a atividade da HMG-Coa redutase e resulta em maior expressão dos receptores de LDL nos hepatócitos e, portanto, em aumento na remoção das LDLs do sangue e redução das concentrações plasmáticas de LDL (Reihner *et al.*, 1990).

O medicamento ezetimiba inibe seletivamente a absorção intestinal do colesterol, levando a menor aporte de colesterol ao fígado aumentando conseqüentemente a expressão hepática dos receptores de LDL. Não afeta a absorção de triacilgliceróis e vitaminas A e D, além de não alterar atividade da lipase hepática. O glicuronídeo, seu metabólito ativo, tem recirculação enterohepática diminuindo a exposição sistêmica à droga e sendo excretado em 90% nas fezes e 10% na urina (Davis & Veltri, 2007).

Já o medicamento probucol reduz a concentração plasmática tanto das LDLs quanto das HDLs, possuindo propriedades importantes como antioxidantes inibindo efeito sobre a adesão de monócitos nas células endoteliais e conseqüentemente diminuindo a progressão de lesões ateroscleróticas pela supressão de LDL (Liu *et al.*, 2002).

Os fenofibratos provocam acentuada redução nas VLDLs circulantes e, por conseguinte, nos triacilgliceróis, com redução moderada nas LDLs e aumento nas HDLs, além de possuírem função antiinflamatória evidenciada pela redução significativa de PCR (Proteína-C reativa) (Ikewaki *et al.*, 2004). Exercem seus efeitos ativando PPAR- α mediando ação sobre os níveis de HDL via indução transcripcional da síntese das maiores apolipoproteínas de HDL, ApoA-I e ApoA-II e diminuindo produção de ApoC-III e aumentando a atividade de lipase lipoprotéica (Staels *et al.*, 1998).

Ácido Nicotínico (ou Niacina, vitamina B3) tem efeito benéfico sobre lipídeos sangüíneos e frações de lipoproteínas, particularmente para aumento de HDL

(Santos, 2005). Aumenta Apo A-I melhorando a biodisponibilidade para remoção do excesso de colesterol celular na parede arterial e também inibe diacilglicerol aciltransferase 2 (DGAI₂), importante enzima na síntese de triacilglicerol destinada a VLDL (Ganji SH *et al.*, 2004). Adicionalmente, ácido nicotínico inibe lipólise no tecido adiposo pela inibição da lipase hormônio sensível (Tunaru *et al.*, 2003).

Óleo de peixe contém grandes quantidades de ácidos graxos essenciais, ácidos eicosapentanóico (EPA) e docosaexanóico (DHA), conhecidos como ômega-3 que são efetivos em diminuir níveis de triacilgliceróis e mortalidade em pacientes com doenças cardíacas conhecidas, além de possuir outros efeitos potencialmente importantes, incluindo inibição da função plaquetária, prolongamento do tempo de sangramento, efeitos antiinflamatórios e redução do fibrinogênio plasmático (Balk *et al.*, 2004).

2.3 Plantas medicinais

2.3.1 Plantas como recurso de medicamentos

A expressão fitoterapia é atribuída a medicamentos originados principalmente de material botânico integral ou de seus extratos usados com o propósito de tratamento médico sem a utilização de substâncias ativas isoladas, ainda que de origem vegetal (Ferreira, 1998). Assim, a diferença entre planta medicinal e fitoterápico reside na elaboração da planta numa formulação específica, caracterizando um fitoterápico. A OMS define planta medicinal como sendo “todo e qualquer vegetal que possui, em um ou mais órgãos, substâncias que podem ser utilizadas com fins terapêuticos ou que sejam precursores de fármacos semi-sintéticos”.

As plantas são utilizadas desde os primórdios da civilização no tratamento e cura de enfermidades, o que proporcionou uma das bases mais importantes para o nascimento da medicina. Muitas das propriedades terapêuticas das plantas são relatadas pela população, as quais podem ser confirmadas pelos estudos científicos, comprovando a importância da pesquisa etnofarmacológica (Rates, 2001; Seidl, 2002).

Embora a medicina moderna esteja relativamente bem desenvolvida na maior parte do mundo, existem certas dificuldades na sua utilização pelas populações carentes, que vão desde o acesso aos centros de atendimento hospitalares à obtenção de exames e medicamentos. Esses motivos, associados com a fácil obtenção e a grande tradição do uso de plantas medicinais, contribuem para sua utilização pelas populações dos países em desenvolvimento (Veiga Jr & Pinto, 2005), tendo em vista que a OMS reconhece que 80% dessa população utilizam práticas tradicionais nos seus cuidados básicos de saúde e 85% desses utilizam plantas ou preparações destas (Ministério da Saúde, 2006).

Comparando-se drogas sintéticas com medicina de ervas, essas exibem princípios ativos que não são freqüentemente conhecidos. A padronização, a estabilidade e o controle de qualidade são possíveis mas não são fáceis de serem alcançados. Além disso, a biodisponibilidade e a qualidade são problemáticas, somado ao fato que, os estudos toxicológicos e clínicos para provar a eficácia e segurança são raros utilizando plantas medicinais. A larga faixa de uso terapêutico com a medicina de ervas é sustentável para tratamentos crônicos, visto que, a ocorrência de efeitos indesejáveis parece ser menos freqüente, mas julgamentos clínicos ainda existem (Calixto, 2000). Portanto, o estímulo à investigação científica sobre as propriedades terapêuticas de espécies vegetais utilizadas pela população brasileira favorece o desenvolvimento futuro de medicamentos, assim como possibilita orientar a população sobre o verdadeiro potencial terapêutico e os possíveis efeitos tóxicos dessas plantas, normalmente utilizadas de forma pouca criteriosa.

Sendo assim, nesse contexto, o Brasil com a sua enorme biodiversidade, pode contribuir para o desenvolvimento de novos medicamentos fitopreparados. Apesar da riqueza da flora brasileira e da ampla utilização de plantas medicinais pela população, existe consenso, no entanto, sobre a insuficiência de estudos científicos na promoção da investigação das propriedades terapêuticas de espécies vegetais.

2.3.2 Plantas utilizadas em Diabetes mellitus e hiperlipidemia

Alguns mecanismos diferentes têm sido demonstrados por pesquisadores na

redução dos níveis de glicose e lipídeos sangüíneos.

Enicostemma littorale Blume (Maroo *et al.*, 2002) e *Gmelina asiática* Linn. exerceram atividade hipoglicemiante e anti-hiperglicemiante devido à inibição dos canais ATPase de K⁺ nas células β pancreáticas com o aumento da secreção de insulina (Kasiviswanath *et al.*, 2005). Já extrato de ginseng (Xie *et al.*, 2005), *Eugenia jambolana* Lam. (Sharma *et al.*, 2003), *Cleomeo felina* L. (Nagarajan *et al.*, 2005), *Smallantus sonchifolius* Poepp (Aybar *et al.*, 2001), *Scoparia dulcis* L. (Latha & Pari, 2004) melhoraram a ação periférica da insulina sugerindo aumento significativo do estímulo da insulina ao disponibilizar glicose para consumo tecidual diminuindo, assim, a concentração de glicose sangüínea.

Inula japonica Regel. também diminuiu glicose sangüínea e sintomas como polidipsia, poliúria e polifagia em camundongos com diabetes induzida por aloxano, além de ter ocasionado reduzido albumina glicada e aumentado insulina plasmática (Shan *et al.*, 2006).

Em modelo genético de animais com *Diabetes mellitus* tipo 2, camundongo KK-Ay tratado com *Tithonia diversifolia* Hemsl. reduziram níveis de glicose sangüínea em animais diabéticos após 7h de administração ou em doses repetidas (Miura *et al.*, 2005).

Flavonóides presentes em *Camellia sinenses* Rehder & EH Wilson. facilitaram a translocação de GLUT-4 reduzindo significativamente a glicose sangüínea (Li *et al.*, 2007). Semelhantemente extratos de semente de *Trigonella foenum-graecum* L. (FSE) facilitando o controle da homeostase da glicose em camundongos diabéticos. Esse efeito compara-se aos efeitos da administração de insulina induzindo rápido efeito estimulatório, dose dependente, sobre consumo de glicose celular pela ativação da resposta celular que leva a translocação de GLUT4 (Vijayakumar *et al.*, 2005). Já *Helicteres isora* L. em ensaio com células HEK293 em domínio de ligação do receptor PPAR- γ (Receptor nuclear gama de proliferação ativada do peroxissomo) melhoraram sensibilidade à insulina *in vivo* (Chakrabarti *et al.*, 2002).

Extratos de *Cleomeo felina* L. aumentaram a atividade das enzimas hexoquinase e lactase dehidrogenase que são reduzidas pelo tratamento com aloxano na indução da diabetes (Nagarajan *et al.*, 2005).

Em estudo *in vitro* as células expostas a H₂O₂ exibiram aspecto morfológico de apoptose, como fragmentação nuclear. Contudo, células pré-tratadas com *Puerariae radix* Lobatae reduzem o número de células apoptóticas e o conteúdo de DNA. Além disso, aumento da atividade das enzimas superóxido dismutase (SOD) e catalase (CAT), indicaram que esse extrato pode afetar efetivamente a eliminação de O₂⁻ e H₂O₂ além de atenuar o nível de MDA, protegendo contra a ação citotóxica de estreptozotocina (Kang *et al.*, 2005), bem como extrato aquoso de *Aspalathus linearis* Burm.f. (Ulicná *et al.*, 2006). Outras plantas como *Terminalia chebula* (Gaertner) Retz, *Terminalia bellerica* (Gaertner), *Emblica officinalis* Gaertn. e suas combinações podem ser parcialmente responsáveis pela atividade antioxidante (Sabu & Kuttan, 2002) além de estarem associadas a efeito hipolipidêmico (Saravana *et al.*, 2007).

No estresse oxidativo, ratos alimentados com *Rhus verniciflua* Stokes, *Sophora* e *Paeonia suffruticosa* Grp. mostraram diminuição nas concentrações de TBARS (Substância reativa de ácido tiobarbitúrico) no sangue em relação aos ratos diabéticos controles (Jung *et al.*, 2006). Oleuropeína, além de aumentar a expressão de enzimas antioxidantes, também mostrou restauração dos níveis de glutathiona, β-caroteno e vitamina E e A, já que a elevação na concentração de glicose pode deprimir a defesa natural de agentes antioxidantes (Al-Azzawie & Alhamdani, 2006).

Aloe Vera Linné. mostrou efeitos antioxidantes observados bioquimicamente e morfológicamente no fígado. Encontraram-se efeitos antioxidativos com a diminuição de GSH (Glutathiona), LPO (Peroxidação lipídica), NEG (Glicosilação não enzimática) e efeito protetor contra hepatotoxicidade produzido pela diabetes em exame histológico (Can *et al.*, 2004). Em outro estudo, tratamento com extrato de gel de *Aloe Vera* aumentou-se a atividade de SOD, CAT, GSH peroxidase e Glutathiona-S-transferase nos tecidos do rim e fígado (Rajasekaran *et al.*, 2005).

Laminaria japonica Kelp. reduziu a atividade da xantina oxidase e sugere prevenção de atrasar o início das complicações vasculares em diabetes, além do que, seu pré-tratamento restaura os níveis de atividade de GSH e GSH redutase, indicando que esta pode eliminar ROS ou aumentar a utilização eficiente de GSH (Jin *et al.*, 2004).

O aumento do clearance de creatinina com o tratamento com *Zea mays* L. é

inibido além de diminuir peso do rim e tender a reduzir excreção de albumina urinária, embora efeito anti-hiperglicemiante não tenha sido confirmado (Suzuki *et al.*, 2005). Por sua vez plantas como *Momordica charantia* L. e *Eugenia jambolana* Lam. preveniram o aumento do volume urinário, excreção de albumina urinária, hipertrofia renal e não altera o soro de creatinina em camundongos com diabetes induzida (Grover *et al.*, 2001). Ao contrário do tratamento com chá da *Smallantus sonchifolius* Poepp. e Hendl que, melhoraram o clearance em animais diabéticos e não induziram albuminúria em ratos diabéticos tratados (Aybar *et al.*, 2001).

Compostos presentes em *E. officinalis* Gaertn. mostraram ser potentes inibidores de aldose reductase, enzima limitante da via dos polióis ao catalisar a reação em que a glicose é transformada em sorbitol (Suryanarayana *et al.*, 2004) assim como redução da atividade de sorbitol desidrogenase (SDH) com o tratamento com *Scoparia dulcis* L. (Latha & Pari, 2004), o que pode prolongar o início do desenvolvimento de complicações diabéticas.

Extrato de *Cleomeo felina* L. diminuíram as concentrações de colesterol, triacilgliceróis, fosfolípidos e LDL e VLDL, aumentam as concentrações de HDL, além de reduzir a atividade de HMGCoa reductase, fosfatase alcalina e fosfatase ácida plasmática que são consideravelmente aumentadas em ratos diabéticos (Nagarajan *et al.*, 2005). *Heliotropium zeylanicum* Burm. f. também mostrou diminuição de triacilglicerol e colesterol em ratos com diabetes induzida (Murugest *et al.*, 2006), além de *H. isora* L. (Chakrabarti *et al.*, 2002) e tratamento com extrato de *Argania spinosa* L. (Berrougui *et al.*, 2003), *Moringa oleifera* L. (Ghasi *et al.*, 2000) e *Curcuma longa* L. (Arafa, 2005).

Extrato de folha de *Ananas comosus* L. atenuou o aumento de triacilglicerol em camundongo com administração aguda de frutose indicando inibição da síntese de triacilglicerol endógeno. Todavia, em outro modelo que induziram hipercolesterolemia, Triton WR-1339, camundongos tratados com a planta não aumentou lipídeos plasmáticos em 24h, indicando que *Ananas comosus* ativa a enzima lipase, além de inibir HMGCoa reductase (Xie *et al.*, 2007).

Já o pré-tratamento com extrato aquoso de *Desmodium gangeticum* Linn. proporcionaram efeito cardioprotetor em ratos através da atividade antioxidante e hipocolesterolêmica (Kurian *et al.*, 2005). O controle dos níveis de lipídeos com o

extrato aquoso em ratos diabéticos pode ser diretamente atribuído à melhora dos níveis de insulina como nos tratamentos com *Annona squamosa* L. (Shirwaikar *et al.*, 2004), *T. indica* L. (Maiti *et al.*, 2005) e *Eugenia jambolana* Lam. (Sharma *et al.*, 2003).

Em pacientes hiperlipidêmicos *Solanum melongena* L. (Guimarães *et al.*, 2000), *Camellia sinensis* Rehder & EH Wilson. (Maron *et al.*, 2003) reduziram hipercolesterolemia tornando o perfil lipídico mais favorável.

2.3.3 Plantas utilizadas no experimento

Calophyllum (Clusiaceae) é um gênero constituído por grande grupo de árvores tropicais, com aproximadamente 180-200 espécies restritas aos trópicos quentes e úmidos. A espécie *Calophyllum brasiliense* Camb. predominante no Brasil, distribuída principalmente na Mata Atlântica e no Cerrado. As árvores de *C. brasiliense* podem chegar a 40m de altura, com 1 a 3m de diâmetro, sendo sua madeira utilizada para construções, pisos e mobílias. Essa planta é comumente conhecida no Brasil como “jacareúba” “guanandi” e “guarandi” e as principais partes utilizadas são as folhas ou cascas do caule sob a forma de chás. Seus principais constituintes conhecidos são cumarinas, xantonas, triterpenos e biflavonóides (Noldin, Isaias e Cechinel, 2006).

Estudos farmacológicos preliminares com as cascas do caule de *Calophyllum brasiliense* demonstraram atividade gastroprotetora em modelos de úlcera induzidos por etanol, indometacina e estresse por frio (Sartori *et al.*, 1999) além de exibir atividade inibitória para resposta contrátil no íleo e duodeno, o que justifica seu uso popular para o tratamento de distúrbios intestinais (Emendörfer *et al.*, 2005).

Em estudo biomonitorado com os extratos metanólico, hexânico e acetônico, obtidos dos galhos dessa planta foram isoladas as dipiranocumarinas calanolide A, B e C e soulattrolide, e outras substâncias como friedelina, ácido isoapetálico, canofilol e amentoflavona, algumas delas com promissores efeitos inibitórios sobre a enzima transcriptase reversa do vírus HIV-1 (Huerta-Reyes *et al.*, 2004).

Das cascas de *C. brasiliense* foram isoladas sete novas xantonas identificadas como brasixantona A, B, C, D, E, F e G sob forma de óleo amarelo,

exceto a brasixantona B que cristalizou como agulhas. Também foram isoladas dez xantonas conhecidas: toxiloxantona A; 6-desoxijacareubina; 3-8-diidroxi-1,2-dimetoxixantona; 8-desoxijacareubina; 3,8-diidroxi-1,2-dimetoxixantona; 8-desoxigartanina; cudraxantona F; 4-hidroxixantona; 1,2-dimetoxixantona; piranojacareubina; garcinina B e latisxantona C. As substâncias brasixantona B, C e D apresentaram efeito inibitório sobre o vírus Epstein-Barr (Ito *et al.*, 2002). Além disso, 6 novos ácidos cromanonas isolados do caule demonstraram potencial antibacteriano, especialmente contra *Bacillus cereus* e *Staphylococcus epidermitis* (Cottiglia *et al.*, 2004).

Várias cumarinas tipo mammea e xantonas de diferentes partes do *Calophyllum brasiliense* mostram propriedades quimioprotetoras contra câncer (Ito *et al.*, 2003; Reyes-Chilpa *et al.*, 2004; Kimura *et al.*, 2004) e inibem a atividade de H⁺,K⁺-ATPase gástrica sugerindo ser um alvo molecular por seu modo de ação nas secreções de ácido gástrico (Reyes-chilpa *et al.*, 2006).

A segunda e terceira plantas estudadas nesse experimento pertencem a família Connaraceae que inclui aproximadamente 16 gêneros, e entre 300 a 350 espécies distribuídas nas regiões tropicais do mundo. Na América tropical estão representados cinco gêneros (Bernardinia, Cnestidium, Connarus, Pseudoconnarus e Rourea) (Forreto, 2007).

Connarus perrottetii é o maior gênero da família Connaraceae, com cerca de 100 espécies onde cerca de 55 espécies são conhecidas, e, esse gênero pode ser confundido com Rourea, podendo separá-los por suas flores com pétalas com glândulas ou tecido glandular secretor, ovário unicarpelar (versus ovário com cinco carpelos) e frutos usualmente estipitados versus não estipitados (Morales JF, 2007). É conhecida popularmente como “cipó miraruira”.

Extratos de folhas e galhos de *Connarus lambertii* indicam a presença de triterpenóides, flavonóides e 3,4-dihidrosiflavonol (Jiménez *et al.*, 2001). Já em outra espécie, *Connarus ferrugineus*, encontra-se iminoaçúcares, 1-deoximanojirimicina (DMJ) em níveis de 0,083% (peso seco), 2-O- α -D-galactopiranosil (DMJ), 3-O- β -D-glicopiranosil (DMJ), 1,4-dideoximanojirimicina, 1,4-dideoxialtronojirimicina foram isolados como novos compostos (Asano *et al.*, 2005). Potentes inibidores de α -galactosidase, 1-deoximanojirimicina (DNJ) e 1-deoxigalactonojirimicina, são

importantes inibidores de glicosidase que se ligam especificamente em sítios ativos desta imitando monossacarídeos (Asano *et al.*, 2005).

Jimenez *et al.*, (2001) avaliaram a atividade e transporte da enzima G-6-P-ase microsomal sendo esta altamente inibida por *Connarus lambertii*. Essa inibição pode ajudar na hiperglicemia presente em Diabetes, já que esta enzima catalisa o último passo na gliconeogênese e glicogenólise, podendo dessa forma diminuir os níveis de glicose plasmática.

A terceira planta utilizada nesse estudo, *Rourea paraensis* também conhecida como “açoita cavalo” pertence ao gênero *Rourea*, que por sua vez apresenta 223 espécies. Dois glicosídeos extraídos de *Rourea minor* (Gaertn.) Aubl., rourinosídeo e rouremina e 1-(26-hidroxihexacosanoil)-glicerol mostraram atividade *in vitro* antimalárica (He *et al.*, 2006) que bloqueiam canal K_{ATP} pela ligação a subunidade protéica Kir6.x (Mukai *et al.*; 1998; Proks & Ascroft, 1997; Gribble *et al.*, 2000). O canal de K_{ATP} é dividido em dois diferentes tipos de subunidades protéicas: um canal interno ligando a K^+ , (Kir6.x), e, um receptor de sulfoniluréias (SUR). Mais de uma isoforma existe para Kir6.x (Kir6.1, Kir6.2) e para SUR (SUR1, SUR2A, SUR2B). Na maioria dos tecidos Kir6.2 serve como subunidade formadora de poro, mas está associado com SUR1 no pâncreas e cérebro, SUR2A no coração e no músculo esquelético, SUR2B no cérebro e músculo liso (Isomoto *et al.*, 1996).

2.4 Fisiologia do metabolismo de coelhos

Os animais podem classificar-se de acordo com o seu comportamento alimentar e a fisiologia do trato digestivo. Pressuposto que a capacidade digestiva do coelho é diferente dos animais domésticos, é conveniente descrever brevemente seu distinto comportamento alimentar, a fim de compreender as características únicas destes animais.

Ao longo do processo evolutivo, os herbívoros desenvolveram a capacidade de aproveitar alimentos ricos em parede celular, através de processos simbióticos com microrganismos e também por peculiaridades anatomofisiológica do aparelho digestivo, como câmaras fermentativas. Os coelhos são herbívoros selecionadores de concentrados, o que os difere em parte dos outros herbívoros por aproveitarem o alimento rico em material fibroso com extensa fermentação posterior ao intestino

delgado, mais especificamente no ceco, razão pela qual são animais seletos de alimentos com maiores teores de proteína e carboidratos em relação à parede celular nos produtos de origem vegetal (Cheeke, 1995).

Outra particularidade desta espécie é a dualidade da excreção fecal, com a capacidade dos coelhos de produzir e reingerir parte do material fecal. As denominadas fezes moles ou cecotrofos, oriundas da fermentação cecal (fenômeno descrito como coprofagia, ou mais especificamente como cecotrofia) lhes permite aproveitar mais eficientemente alimentos vegetais (Ferreira, 1987; Nogueira, 1989).

Anatomicamente, o coelho apresenta estômago e ceco bastante desenvolvidos, bem adaptados à digestão de considerável parte de forragens e cereais, com capacidade de conter cerca de 80% da digesta. Um coelho adulto alimenta-se aproximadamente de 20 a 40 vezes ao dia, ingerindo cerca de 1,08g de alimento por minuto (Lebas, 1985).

Em essência, a estratégia digestiva para o coelho consiste em eliminar a fibra do intestino o mais rapidamente possível e dedicar os processos digestivos à degradação dos componentes não fibrosos da ração. Provavelmente essa é uma consequência do pequeno tamanho dos coelhos já que a atividade metabólica dos animais de pequeno tamanho é muita elevada (Cheeke, 1995).

Em comparação com outros herbívoros não ruminantes o coelho é pouco eficiente na digestão de fibras e como consequência obtém menos energia digestiva dos alimentos grosseiros que outros herbívoros e ruminantes (Cheeke, 1995).

Os processos digestivos iniciam-se no momento da ingestão dos alimentos. A mastigação dos alimentos é muito intensa, reduzindo o alimento a partículas de pequeno tamanho. A bile se forma nas células hepáticas e seus principais componentes são os ácidos biliares, estes por sua vez são provenientes do colesterol hepático (DeBlas, 1998). As proteínas são digeridas no coelho pelas enzimas próprias sintetizadas pelo animal e pelos processos microbianos. Ambos os processos tem importância. E, os lipídeos alimentares são digeridos no intestino delgado, através de enzimas lipases secretadas pelo pâncreas. Ácidos graxos voláteis são formados no ceco resultando da atividade microbiana que, por sua vez, dependem da capacidade de utilização da parede celular dos alimentos e de outros substratos que conseguem chegar ao ceco (DeBlas, 1998).

MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Preparo do fitoterápico

O fitoterápico utilizado para o estudo etnofarmacológico foi adquirido no comércio popular de Belém conhecido como Mercado “Ver o Peso”, onde várias plantas são vendidas com fins terapêuticos advindos de conhecimento popular.

Os caules das plantas *Calophyllum brasiliense*, *Connarus perrottetii* e *Rourea paraensis* associados em proporções de pesos 3:1:1, respectivamente (tal qual são usadas na medicina popular), para redução da glicemia e, portanto, utilizadas no tratamento da diabetes.

Para estudo *in vivo* com o propósito de avaliar possível atividade biológica, as cascas do caule das plantas conhecidas popularmente como jacareúba, miraruirá e açoita-cavalo foram identificadas pelo botânico Mario Augusto Gonçalves Jardim do Museu Emilio Goeldi em Belém do Pará onde as excisas estão depositadas no herbário sob os números apresentados no Quadro 6.

Quadro 6: Identificação botânica do material utilizado no experimento

Família	Clusiaceae	Connaraceae	Connaraceae
Nome científico	<i>Calophyllum brasiliense</i>	<i>Connarus perrottetii</i>	<i>Rourea paraensis</i>
Nome popular	Jacareúba	Cipó miraruirá	Açoita cavalo
Nº de registro	MG 2301545	MG 143211	MG231236

As cascas do caule das plantas foram secas em estufa à temperatura de 35°C e ventilação forçada. Posteriormente, o material vegetal foi triturado em moinho de facas obtendo-se 565,5g para a mistura das plantas (*C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis*) para o experimento de diabetes, e, 1,662Kg para o tratamento isolado com *C. brasiliense* na hiperlipidemia para a preparação do extrato (Quadro 7).

Utilizou-se solvente hidroalcoólico com 50% de água destilada e 50% de álcool etílico P.A colocando-os em Erlenmeyer fechado para o processo de extração. O extrato bruto foi obtido após a evaporação do solvente em rotavapor, em pressão reduzida e mantendo-se sempre a temperatura entre 40 e 50°C após extração exaustiva em solução hidroalcoólica.

Quadro 7: Quantidade do material botânico utilizado/plantas (após desidratação e trituração)

Plantas utilizadas	Experimento em diabetes	Experimento em hiperlipidemia
<i>Calophyllum brasiliense</i>	420,0g	1.662,0g
<i>Connarus perrottetii</i>	81,0g	-
<i>Rourea paraensis</i>	64,5g	-
Total:	565,5g	1.662g

O rendimento obtido foi de 62g de extrato da casca das três plantas associadamente utilizadas (*C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis*), e 84g para *C. brasiliense* utilizado separadamente.

Depois de seco, o material foi pulverizado (utilizando-se grau e pistilo) obtendo-se um pó fino com objetivo de facilitar o processo de encapsulamento para administração via oral em animais.

3.2 Ensaios biológicos

O estudo envolveu dois experimentos com diferentes extratos: o primeiro experimento foi induzido diabetes experimental com avaliação de extrato hidroalcoólico das cascas das plantas *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associadamente, e, o segundo experimento foi induzido hiperlipidemia com avaliação do extrato hidroalcoólico das cascas da planta *C. brasiliense*.

Os ensaios biológicos e as dosagens bioquímicas de glicose, colesterol, triacilglicerol, lipase, creatinina, proteínas totais, albumina e hemoglobina glicosilada foram realizados no Laboratório de Biofármacos do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa – MG.

Foram utilizados para cada experimento 48 coelhos machos, da raça Nova Zelândia, brancos, adultos, com peso médio de (2.500 ± 200g), com idade de 2 meses, provenientes do setor de Cunicultura do Departamento de Zootecnia da

UFV. No período experimental, os animais permaneceram em gaiolas individuais, apropriadas, em área experimental com ventilação adequada e ambiente com fotoperíodo de 12 horas.

Os experimentos foram realizados seguindo esquema de parcelas subdivididas, tendo nas parcelas os grupos e tratamentos (Quadro 8 e 9) e nas subparcelas, os períodos de avaliação (meio e final do experimento) no delineamento inteiramente casualizado com 6 repetições.

Quadro 8: Relação dos grupos e tratamentos de animais utilizados no experimento de diabetes

Grupos	Tratamento
1	Normal (N)
2	Normal com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrotteti</i> e <i>R. paraensis</i> na dose de 50mg (N-CCR50)
3	Normal com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrotteti</i> e <i>R. paraensis</i> na dose de 100mg (N-CCR100)
4	Normal com tratamento do fármaco Diabinese 250mg (N-D250)
5	Doente (D)
6	Doente com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrotteti</i> e <i>R. paraensis</i> na dose de 50mg (D-CCR50)
7	Doente com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> , <i>C. perrotteti</i> e <i>R. paraensis</i> na dose de 100mg (D-CCR100)
8	Doente com tratamento do fármaco Diabinese 250mg (D-D250)

Quadro 9: Relação dos grupos e tratamentos de animais utilizados no experimento de hiperlipidemia

Grupos	Tratamento
1	Normal (N)
2	Normal com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> na dose de 70mg (N-C70)
3	Normal com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> na dose de 150mg (N-C150)
4	Normal com tratamento do fármaco Atorvastatina 20mg (N-A20)
5	Doente (D)
6	Doente com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> na dose de 70mg (D-C70)
7	Doente com tratamento de extrato de <i>C. brasiliense</i> na dose de 150mg (D-C150)
8	Doente com tratamento do fármaco Atorvastatina 20mg (D-A20)

Cada animal dos dois experimentos permaneceu em período de adaptação por 7 dias recebendo 120g/dia de ração comercial e água *ad libitum*.

A ração comercial peletizada (Soma Alimentos) tinha a formulação com objetivo de cobrir as necessidades dos animais em crescimento com a seguinte composição:

Cálcio (máx) 2,20%
Extrato etéreo (min) 2,00%
Fósforo (min) 0,40%
Matéria fibrosa (máx) 15,00%
Matéria mineral (máx) 11,00%
Proteína bruta (min) 13,00%
Umidade (máx) 13,00%

Enriquecimento por Kg do produto:

Ácido fólico 1,40mg
Ácido pantotênico 15,00mg
Coccidiostático 30,00mg
Colina 350,00mg
Cobre 5,00
Cobalto 0,10mg
Ferro 35,00mg
B.H.T 0,01mg
Iodo 0,30mg
Manganês 10,00mg
Vitamina A 6.000,00UI/Kg
Vitamina B12 2,00 p.p.b
Vitamina D3: 700,00UI/Kg
Vitamina E: 30,00UI/Kg
Zinco 60,00mg
Niacina 35,00mg
Tiamina 1,50mg
Riboflavina 3,00mg

Composição básica do produto: Calcário calcítico, Farelo de soja, Farelo de trigo, Fosfato bicálcico, Milho integral moído, Cloreto de sódio (sal comum) e Premix vitamínico

mineral.

Ao longo do experimento, as fases se subdividiram em período de aclimatização, indução de modelo, tratamentos, coleta de material bioquímico e, por fim, eutanásia seguida de necropsia (Figura 8 e 9).

Na adaptação, os animais foram aleatoriamente colocados em gaiolas individuais para acondicionamento ao ambiente experimental.

No experimento de diabetes a indução da doença foi realizada após a permanência de jejum dos animais por 12 horas. Os animais receberam anestesia com Xilazina (5 mg/Kg), SYNTEC e Cetamina (20 mg/Kg), KETALAR® para posterior administração de Aloxano (SIGMA) diluído em solução contendo NaCl 0,9% na dose de 100 mg/Kg, via intraperitoneal.

A fim de se evitar a morte de animais por hipoglicemia fatal, devido à liberação maciça de insulina que ocorre após a destruição das células β em decorrência da administração de aloxano, os coelhos receberam três doses de 10ml de glicose 50% p/v via oral em intervalos de 4 horas.

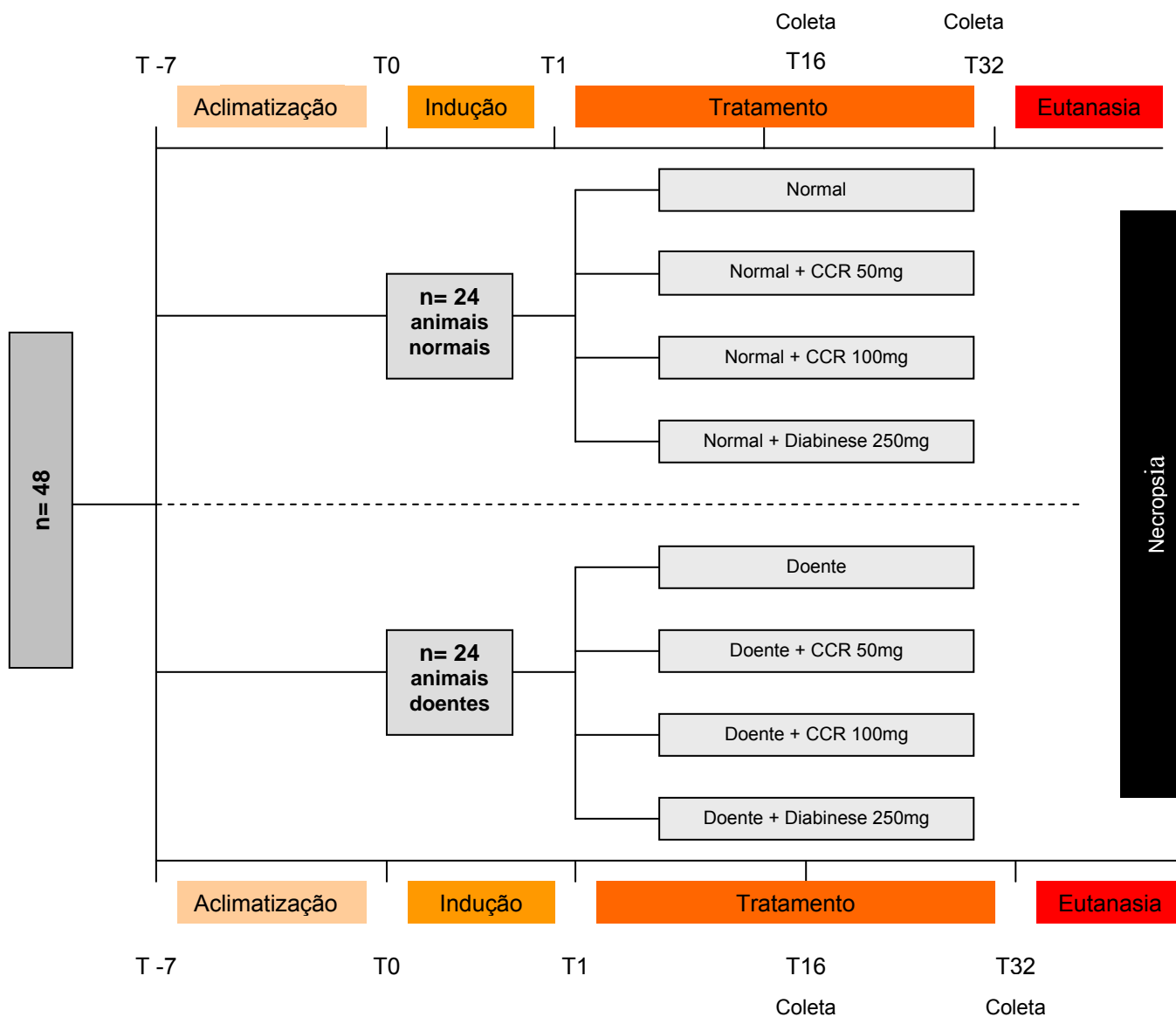
Nos animais em que não foi induzido diabetes foram realizados os mesmos procedimentos do controle nas mesmas condições de estresse, permitindo a comparação com os grupos de animais em que foram administrados aloxano. Sendo assim, estes receberam apenas solução fisiológica de NaCl 0,9% na dose de 100 mg/Kg.

Após 7 dias, para estabilizar a condição diabética, a glicose sangüínea foi determinada e os animais que apresentavam glicemia de jejum de 12h, igual ou superior a 180 mg.dL^{-1} , foram considerados diabéticos.

Os animais desse experimento receberam diariamente uma cápsula com o extrato das cascas das 3 (três) plantas estudadas (*C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis*) na dose de 50mg para os grupos experimentais 2 e 6, os animais dos grupos 3 e 7 ingeriram cápsulas na dose de 100mg, ou ainda o fármaco, diabinese 250mg, marca DIABECONTROL para os grupos experimentais 4 e 8 durante 32 dias seguidos.

No experimento de hiperlipidemia a indução do modelo de hiperlipidemia foi obtida através do acréscimo de 0,5g de colesterol da marca Vetec PF-146-148° C, perda por secagem a 60°C de 0,1% e cinzas sulfatadas de 0,05%, adicionado diariamente na ração distribuída em gaiolas individuais.

Figura 8 : Esquema do ensaio biológico utilizado para o experimento de Diabetes



Legenda:

CCR 50mg (Extrato das plantas *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* na dose de 50mg)
 CCR 100mg (Extrato das plantas *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* na dose de 100mg)

T (tempo)

T-7 = 7 dias antes da indução de diabetes por aloxano
 T0 = antes da indução
 T1 = início do tratamento
 T16 = 16 dias de tratamento
 T32 = 32 dias de tratamento

Os animais desse experimento receberam diariamente uma cápsula com o extrato das cascas da planta *C. brasiliense* na dose de 70mg para os grupos experimentais 2 e 6, os animais dos grupos 3 e 7 ingeriram cápsulas na dose de 150mg, ou ainda o fármaco, atorvastatina 20mg, marca CITALOR para os grupos experimentais 4 e 8 durante 30 dias seguidos. O início do tratamento ocorreu ao mesmo tempo em que se começou a adicionar o colesterol na ração.

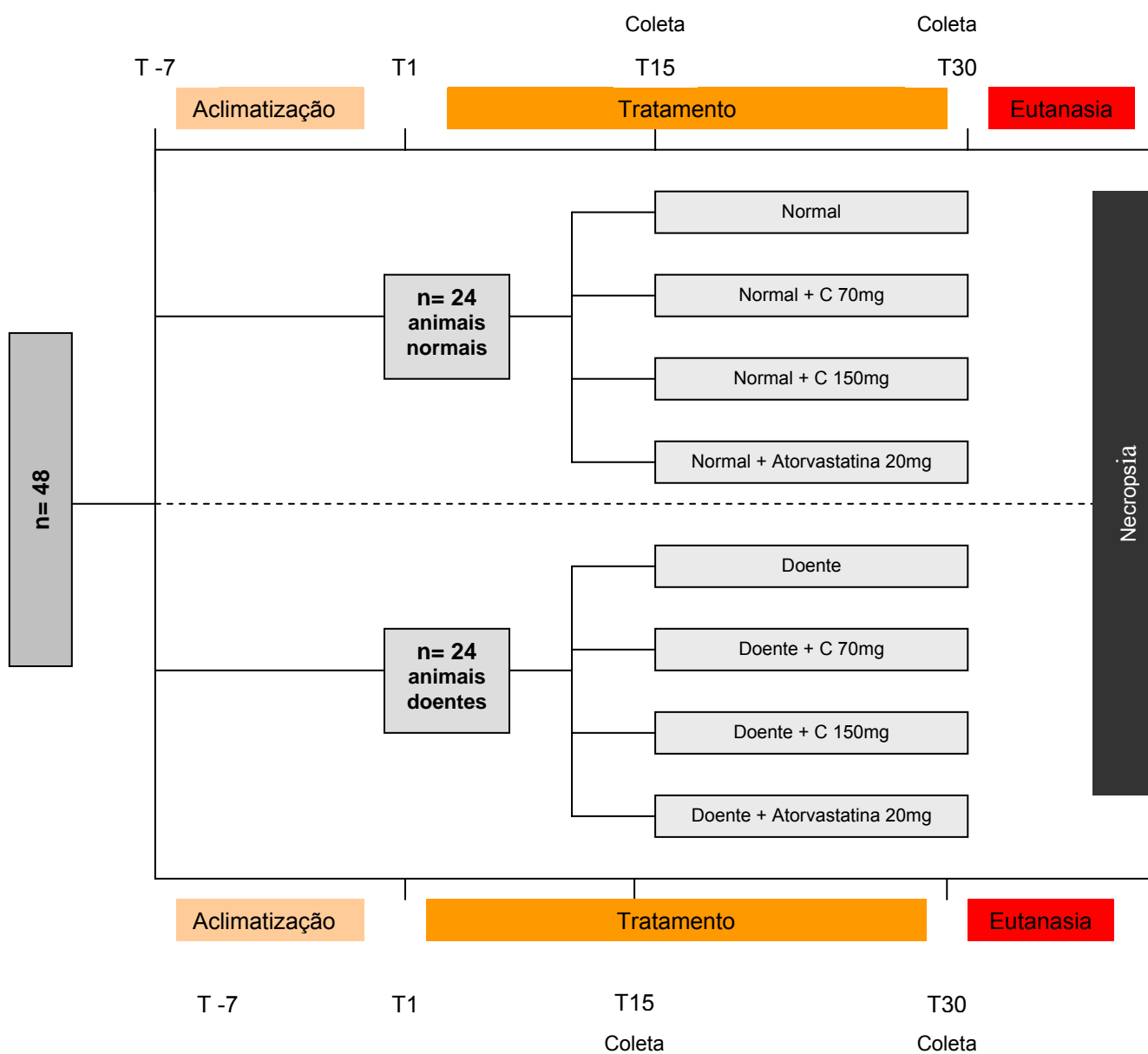
As dosagens dos parâmetros glicose, colesterol, triacilglicerol, creatinina, proteínas totais e albumina foram realizadas utilizando o equipamento multiparamétrico de Bioquímica (Alizé).

Para glicose plasmática de jejum, avaliada somente no experimento de diabetes, foi realizado jejum de pelo menos 8 horas, sendo o plasma separado das células no prazo de 60 minutos. O tubo continha um inibidor glicolítico, fluoreto de sódio, inibidor da enolase, que atenua a glicólise, e anticoagulante EDTA para estabilidade, segundo Sacks *et al.* (2002).

Aos 15 dias de tratamento para o experimento de diabetes e 16 dias para o experimento de hiperlipidemia foram coletadas amostras de sangue (cerca de 2 mL) da veia retroorbital dos animais, em tubos de Duran após jejum prévio de 12 horas para os dois estudos realizados. O material recolhido foi centrifugado a 7100 x g durante 15 minutos e retirados 500 µL do soro para quantificar os níveis de glicose (Bioclin) somente para o experimento de diabetes, colesterol (in vitro), triacilglicerol (Bioclin), creatinina e proteínas totais (Bioclin) e albumina (bioMérieux Vitek, Inc.) no equipamento Auto-analisador Multiparamétrico de Bioquímica-Alizé (Lisabio B652).

No último dia do experimento, após 32 dias de tratamento para o experimento de diabetes e 30 dias para o experimento de hiperlipidemia, os animais foram eutanasiados em câmara contendo Éter Etilico P.A ((C₂H₅)₂) (Isofar Indústria e Comércio de Produtos Químicos Ltda). Cerca de 5mL de sangue foi retirado por punção cardíaca com seringas de 5mL, centrifugado 7100 x g durante 15 minutos e analisados os níveis séricos de glicose, triacilgliceróis, colesterol, creatinina, proteínas totais e albumina no equipamento Alizé (Lisabio B652).

Figura 9: Esquema do ensaio biológico utilizado para o experimento de hiperlipidemia



Legenda:

C 70mg (Extrato das plantas *C. brasiliense* na dose de 70mg)

C 150mg (Extrato das plantas *C. brasiliense* na dose de 150mg)

T (tempo)

T-7 = 7 dias antes da indução de hiperlipidemia e tratamento

T1 = início do tratamento e indução

T15 = 15 dias de tratamento

T30 = 30 dias de tratamento

Hemoglobina glicosilada foi analisada pelo sistema resina de troca iônica, com uso do *kit* Human GMBH e as leituras fotométricas foram realizadas em espectrofotômetro de UV visível (HITACHI 1100) calibrado e ajustadas na faixa de 410 nm - 415 nm. Esse parâmetro só foi analisado no experimento de diabetes.

Análise sorológica da lipase (*kit* In Vitro Diagnóstica Ltda) para o experimento de diabetes e hiperlipidemia foi determinada pelo método colorimétrico e as leituras fotométricas realizadas no espectrofotômetro de ultravioleta visível (HITACHI 1100) calibrado e ajustado na faixa de 400- 415 nm.

3.3 Histopatologia

Os animais foram sacrificados por meio de anestesia com éter ao final do experimento. Durante a necropsia foram coletados fígado e rim de todos os animais.

Esses órgãos foram fixados previamente em formol tamponado a 10%, com pH ajustado para 7,2 com o objetivo de preservar a morfologia e a composição do tecido. Após fixação prévia, foram obtidos fragmentos com o recorte dos órgãos, sendo cada amostra codificada até o final de todas as análises.

Após fixação o material foi desidratado em concentrações crescentes de álcoois (70%, 80%, 90% e três trocas de álcool absoluto), por um período de 20 minutos em cada e diafanizados em dois banhos de xilol com duração também de 20 minutos cada. Posteriormente, foi imerso em dois banhos de parafina e subseqüentemente emblocados em parafina, sendo então submetidos à microtomia para obtenção de cortes histológico com 4 micrômetros de espessura.

Os cortes obtidos foram submetidos à coloração pela Hematoxilina/Eosina. Brevemente, as lâminas foram imersas em dois banhos de xilol, de duração de 15 minutos para a desparafinização. Em seguida, imersas em banhos de álcool absoluto, álcool 90%, álcool 80%, álcool 70%, e água por 5 minutos para hidratação. Após a hidratação, as lâminas foram imersas no corante Hematoxilina (corante ácido) por 10 minutos, e, em seguida lavadas em água corrente por 5 minutos e imersas no corante Eosina (corante básico) por 30 segundos. Em seguida, foram lavadas em água corrente por 1 minuto desidratadas em concentrações crescentes de álcool e levadas à estufa a 60°C por alguns minutos para secagem. As lâminas secas foram imersas em xilol e montadas com Entellan (Merck) e lamínula para

avaliação utilizando-se a objetiva de 10 e 40X.

As análises histopatológicas foram realizadas no Laboratório de Imunopatologia da UFOP por um observador que desconhecia a identificação do material. Foram considerados os processos inflamatórios e degenerativos sendo os mesmos classificados em ausentes, discretos, moderados e intensos, de maneira semi-quantitativa. Posteriormente, as lâminas foram decodificadas e os fragmentos agrupados de acordo com os grupos originais, sendo então definido o diagnóstico para cada grupo. As fotomicrografias representativas dos grupos foram realizadas no Microscópio Leica 5000B com o auxílio de câmera digital Leica e do programa LAS (Leica Application System).

3.4 Análise Estatística

Todos os dados foram analisados por meio de análise de variância (ANOVA). Para comparar a média do grupo padrão com os demais grupos tratados utilizou-se o teste de DUNNETT adotando-se o nível de 5% de probabilidade. Para comparar as médias dos tempos dentro de cada grupo tratado utilizou-se o teste de TUKEY adotando-se o nível de também 5% de probabilidade. Independentemente da interação ser ou não significativa procedeu-se o desdobramento da mesma devido ao interesse do estudo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Avaliação dos parâmetros bioquímicos em diabetes

Inicialmente, avaliou-se o efeito da diabetes induzida por aloxano e o tratamento com extrato das cascas das plantas CCR e diabinese em animais normais e diabéticos em relação aos níveis glicêmicos (Tabela 1).

Tabela 1: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre a glicose em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Variação (%)	32 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	136,6 \pm 34,93a		148,21 \pm 28,51a	
G2 (Normal + CCR 50)	164,83 \pm 36,11a	+ 20,66%	171,1 \pm 24,42a	+ 15,44%
G3 (Normal + CCR100)	176,85 \pm 23,78a	+ 29,46%	228,35 \pm 32,12a	+ 54,07%
G4 (Normal + Diabinese)	179,65 \pm 38,26b	+ 31,51%	290,25 \pm 102,32a*	+ 95,83%
G5 (Doente)	210,93 \pm 78,10b	+ 54,41%	287,5 \pm 99,40a*	+ 93,98
G6 (Doente + CCR50)	157,56 \pm 37,52a	- 25,30%	207,75 \pm 23,45a	- 27,73%
G7 (Doente + CCR100)	175,75 \pm 44,37a	- 16,67%	148,55 \pm 75,19a#	- 48,33%
G8 (Doente + Diabinese)	167,5 \pm 27,12a	- 20,58%	171,63 \pm 47,60a#	- 37,30%

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. As médias com (*) na coluna diferem do grupo normal (G1) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. As médias com (#) na coluna diferem do grupo doente (G5) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

Nos animais diabéticos, os níveis de glicose sangüínea do (G5) aumentaram significativamente quando comparado ao grupo normal (G1), sendo essa variação de 54,41% aos 16 dias e 93,98% aos 32 dias de tratamento. Observou-se também aumento significativo ao final do experimento (32 dias) em relação à dosagem efetuada aos 16 dias, ao passo que o (G1) manteve seus níveis glicêmicos ao longo do experimento.

O efeito do tratamento com os extratos nas dosagens de 50 e 100mg, (G2) e (G3), respectivamente, em coelhos normais aumentaram a glicemia em níveis não significativos aos 16 e 32 dias de tratamento em relação ao grupo normal (G1), embora (G3) alcançou níveis de glicemia de 228,35 \pm 32,12mg/dL, faixa essa já considerada acima da zona de normalidade para glicose sangüínea. Para os animais normais tratados com diabinese (G4), os valores aumentaram significativamente 95,83% em relação ao grupo normal (G1) aos 32 dias, apresentando a mesma faixa

de valor glicêmico dos animais diabéticos sem tratamento $290,25 \pm 102,32\text{mg/dL}$. Adicionalmente, ao final do experimento houve alteração significativa dos valores apresentados em relação às concentrações glicêmicas obtidas aos 16 dias de tratamento.

Os animais com diabetes induzida tratados com extrato na dose de 100mg (G7) apresentaram níveis de glicose sanguínea significativamente diminuídos em 48,33% comparando ao grupo doente (G5) com 32 dias de tratamento. O valor glicêmico de $148,55 \pm 75,19\text{mg/dL}$ foi semelhante ao grupo normal (G1). No entanto, com o tratamento com extrato na dose de 50mg (G6) os níveis continuaram elevados, não sendo observado efeito hipoglicemiante. Já para os animais tratados com diabinese (G8), a glicemia aos 32 dias do experimento foram significativamente menores que o apresentado pelo grupo doente sem tratamento (G5), e, essa redução foi menos pronunciada que o tratamento do extrato na dose de 100mg (G7).

Aloxano é um dos compostos mais freqüentemente utilizados para induzir *Diabetes mellitus* experimental, devido aos sintomas e alterações que causam em animais serem muito similares àqueles encontrados na doença humana (McLetchie, 2002). Este produz necrose das células β pancreáticas, prevenindo a secreção de insulina ao induzir diabetes mediada por espécies de oxigênio reativo (ROS) pelo seletivo efeito citotóxico sobre as células produtoras de insulina (Szkudelski, 2001).

A indução de diabetes experimental em diferentes estudos com aloxano e estreptozotocina demonstram diversas formas para classificação do modelo obtido.

Sharma *et al.* (2003) associaram o grau de destruição de células- β com glicemia para determinar o tipo de modelo diabético como diabetes tipo 1 ou 2. Shan *et al.* (2006) consideraram para o estudo de modelo de diabetes induzida, animais com níveis glicêmicos pós-indução mais elevados como classificação de diabetes severa, e, animais com aumento intermediário de glicemia em grupos de diabetes considerada moderada. Já Murali *et al.* (2002) relacionou a dose diabetogênica e a via administrada para indicar similaridade a diabetes tipo 1 ou 2. Sendo assim, a dose e a via de administração foram relacionadas à toxicidade para indução da doença, associando-se ao modelo de diabetes insulino-dependente e não insulino-dependente, de acordo com a potencialidade para destruição total ou não das células β , respectivamente.

Em nosso estudo, a utilização do aloxano aumentou os níveis de glicose

sangüínea como observado em coelhos por Al-Azzawie *et al.* (2006) e em roedores por Jayakar *et al.* (2003), Viridi *et al.* (2003), Ventrichelvan *et al.* (2002), Kasiviswanath *et al.* (2005) e Nagarajan *et al.* (2005).

Embora o tratamento com aloxano tenha produzido aumento significativo na glicemia, no grupo diabético não tratado a sobrevida foi de 100%, a despeito do aumento dos níveis glicêmicos que poderia desencadear quadro de acidose metabólica seguida de morte, caso estes não produzissem alguma insulina. Outra questão observada foi à resposta ao tratamento com diabinese como fármaco padrão, já que o mecanismo desta ocorre pelo aumento na produção de insulina pelo pâncreas, e, comparadamente ao estudo realizado por Shan, Yang e Ren, (2006) em que células β pancreáticas foram totalmente danificadas e o efeito de glicazida (Sulfoniluréia) foi nulo em diminuir a glicemia. Diferentemente, nesse estudo realizado diabinese apresentou resposta no modelo de diabetes induzida, podendo, então, indicar a estimulação da produção de insulina por células β pancreáticas presentes.

As sulfoniluréias aumentam a produção endógena de insulina e também promovem e facilitam o consumo e utilização de glicose nos tecidos periféricos (Ojewole, 2006), sendo sua utilização como droga referência usual em outros estudos para comparação com o tratamento do extrato testado (Nagarajan *et al.*, 2005; Rao *et al.*, 2003; Viridi *et al.*, 2003; Nammi *et al.* 2003; Ojewole *et al.*, 2006; Contreras *et al.*, 2005; Sharma *et al.*, 2003; Kasiviswanath *et al.*, 2005; Vetrichelvan *et al.*, 2002). Porém, nenhum desses trabalhos utilizou o tratamento com o fármaco em animais controles.

A administração dos extratos das plantas CCR mostrou tendência a efeito hiperglicêmico nos animais normais, contrariamente ao que se esperava comparando-se outros estudos em que o tratamento com extrato de plantas antidiabéticas causavam hipoglicemia em animais normais (Nammi *et al.*, 2003; Viridi *et al.*, 2003; Bwititi *et al.*, 2000), ou não apresentava efeito hipoglicêmico e mantinha níveis de glicose plasmática semelhante ao grupo normal sem tratamento (Viana *et al.*, 2004; Jung *et al.*, 2006; Shirwaikar *et al.*, 2004).

Como as células β das ilhotas no pâncreas agem como sensores de glicose, ajustando a produção de insulina e, portanto, sendo criticamente importante para a promoção de estoques de glicose, prevenção da quebra de glicogênio e manutenção

da homeostase da glicose (Lehninger & Nelson, 2007), o efeito hiperglicêmico observado com o tratamento dos extratos das plantas CCR pode ser explicado pela regulação por hormônios e pela glicose sangüínea. No entanto, há de se considerar o diferente metabolismo observado para o modelo utilizado.

Coelhos apresentam fisiologia digestiva bastante particular, inclusive diferenciada de outras espécies de herbívoros com fermentação após o intestino delgado. O intestino grosso tem importante papel na digestão do coelho devido à fermentação cecal, excreção seletiva da fibra e a reingestão do conteúdo cecal (cecotrofia). Os cecotrofos são tomados diretamente do ânus e deglutidos íntegros, sem ocorrência de mastigação. Estes não se misturam ao conteúdo estomacal e permanecem no estômago até que a camada de muco que o reveste se desintegre. Após a desintegração da camada de muco seguem-se os processos de digestão normais (Ferreira, 1987).

Quanto ao possível efeito estimulatório nas células β para aumento da produção de insulina e subsequente diminuição da glicemia tem sido observado em outros estudos com diferentes plantas e comparado com fármacos padrões utilizados há muitos anos para estimular secreção de insulina (Ravi *et al.*, 2004). Nesse estudo, os extratos das plantas utilizados, popularmente, com fins antidiabéticos, demonstram através de estudos na literatura científica efeitos biológicos passíveis de justificarem o efeito do extrato testado.

Diferentes plantas atuam como antidiabéticas por diferentes mecanismos como apresentado na revisão de literatura. A diminuição da glicemia observada com a maior dose do extrato com as três plantas utilizadas nos animais diabéticos podem ser justificadas por ações sinérgicas que potencializaram o efeito antidiabético encontrado.

A hiperglicemia induzida nos animais com aloxano foi consideravelmente melhorada com o tratamento na dose de 100mg do extrato CCR. É possível que a resposta com o tratamento possa ser devido ao aumento na síntese e/ou na liberação de insulina pelas células β . Plantas do mesmo gênero da *Rourea paraensis* são antimaláricas (He *et al.*, 2006) que, por sua vez, são bloqueadoras de K_{ATP} pela ligação a Kir6.2, receptor este encontrado também em células β das ilhotas pancreáticas que despolariza a membrana e aumenta cálcio intracelular liberando insulina, tal qual as sulfoniluréias, embora estas se liguem ao receptor

SUR e interajam com menor afinidade ao receptor Kir6.2 (Proks *et al.*, 2002). Portanto, inibidores da atividade do canal de K_{ATP} se dividem em dois grupos, o que interage com Kir6.2 e aquele que se liga aos SUR. Antimaláricos como quinina e mefloquina bloqueiam o canal de K_{ATP} ligando-se a Kir6.2 (Gribble e Ashcroft, 1999). Como sulfoniluréias são usados por muitos anos para tratar diabetes tipo 2, mas, somente agora, que detalhes de seu mecanismo molecular de ação estão sendo elucidados. Proks *et al.* (2002) propõem bases funcionais e estruturais para a classificação de agentes que aumentam a produção de insulina de acordo com a ligação de alta afinidade para SUR1, mas não SUR2 e, assim, refletem nas diferenças funcionais entre estes agentes. Com isso, os compostos presentes na plantas estudadas devem ser avaliados de forma a estabelecer suas interações possíveis com maior ou menor afinidade nos diferentes receptores.

Já *Connarus ferruginens*, planta do mesmo gênero da espécie testada, apresenta imonoaçúcares (Asano *et al.*, 2005) que são potentes inibidores da enzima α -glicosidase, apresenta efeito hipoglicêmico devido a redução da absorção intestinal de carboidrato da dieta. Os carboidratos são digeridos em dissacarídeos por enzimas secretadas no trato digestivo e, então convertidos em glicose pela alfa-glicosidase que está localizada na mucosa do intestino (Johnston *et al.*, 1998). A diminuição da atividade de α -glicosidase pode ter diminuído os níveis glicêmicos influenciando na resposta obtida no tratamento empregado pela presença dos mesmos constituintes na *C. perrottetii*. Esse mesmo mecanismo ocorre em extrato de flores de *Cassia auriculata* L., *Eugenia operculata* Roxb. e *Cyclocarya paliurus* Batalin. que demonstram potente efeito inibidor de α -glicosidase proporcionando, assim, efeito antihiper-glicêmico (Abensundara, 2004; Mai & Chuyen, 2007; Kurihara *et al.*, 2003).

A diminuição da atividade da glicose-6-fosfatase observada com *Connarus lambertii* (Jimenez *et al.*, 2001), também outra espécie pertencente ao mesmo gênero, pode ter influenciado nos níveis glicêmicos observados no experimento realizado. Pois, inibição da gliconeogênese e glicogenólise contribui para redução da glicemia como observado com o uso de *Tamarindus indica* (Maiti *et al.*, 2005) que apresenta inibição da glicose-6-fosfatase.

O *Calophyllum brasiliense*, espécie já bastante estudada quanto aos seus

constituintes ativos presentes, pode exercer efeitos biológicos antidiabéticos pela presença de flavonóides que permitem associar ao mecanismo de ação de se ligarem a receptores de insulina. Esses receptores ativam vários sinais que medeiam efeitos biológicos que incluem consumo de glicose e síntese de glicogênio (Na *et al.*, 2007). A presença de triterpenos em *C. brasiliense* também está associada a uma nova classe de inibidores da fosforilase de glicogênio, enzima responsável pela quebra de glicogênio para produzir glicose (Cheng *et al.*, 2005). Além disso, a inibição da absorção intestinal de glicose pelo uso de triterpenos (Shimizu *et al.*, 2001) além de modulação do metabolismo de glicose através de redução da resistência à insulina (Liu *et al.*, 2007).

A hemoglobina glicosilada avaliada no decorrer do período experimental está demonstrada na tabela 2 para os animais normais e com diabetes induzida.

Tabela 2: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre a hemoglobina glicosilada em % \pm desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Variação (%)	32 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	6,03 \pm 1,94a		5,51 \pm 1,86a	
G2 (Normal + CCR 50)	6,01 \pm 1,44a	- 0,33	7,58 \pm 1,85a	+ 37,56
G3 (Normal + CCR100)	5,94 \pm 3,47a	- 1,49	6,91 \pm 1,07a	+ 25,40
G4 (Normal + Diabinese)	6,29 \pm 2,49b	+ 4,31	9,73 \pm 4,53a*	+ 76,58*
G5 (Doente)	5,23 \pm 2,88a	- 13,26	7,74 \pm 0,75a	+ 40,47
G6 (Doente + CCR50)	5,62 \pm 1,51a	+ 7,45	6,72 \pm 2,07a	- 13,17
G7 (Doente + CCR100)	6,71 \pm 2,72b	+ 28,29	10,48 \pm 3,72a [#]	+ 35,40
G8 (Doente + Diabinese)	5,65 \pm 2,71a	+ 8,03	6,14 \pm 1,66a	- 20,67

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. As médias com (*) na coluna diferem do grupo normal (G1) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett. As médias com (#) na coluna diferem do grupo doente (G5) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

Pelos dados apresentados, evidenciou-se na dosagem realizada com 16 e 32 dias de tratamento para hemoglobina glicosilada pós-indução de diabetes que os animais diabéticos (G5) aumentaram os níveis de hemoglobina glicosilada para faixa superior aos níveis apresentados pelos animais do grupo normal sem tratamento (G1); porém, esse aumento não foi considerado significativo, embora níveis de referência acima de 7% já indiquem descontrole glicêmico.

Todos os animais normais tratados com extratos das plantas nas diferentes

doses (G2), (G3) e com diabinese (G4) apresentaram níveis de hemoglobina glicosilada aumentados ao final do experimento em relação aos valores encontrados aos 16 dias e em relação ao grupo normal (G1). Entretanto, essas alterações não foram significativas, exceto para os animais normais tratados com diabinese (G4), que, além de aumentarem significativamente ao final do experimento aumentaram 76,58% em relação ao grupo normal (G1). Já os animais doentes, com tratamento de extratos na dose de 50mg (G6), mantiveram seus níveis de hemoglobina glicosilada menores que os da faixa apresentada pelo grupo doente (G5), embora essa diferença não tenha sido relevante. Inversamente, o grupo tratado com extrato das plantas na dose de 100mg (G7) aumentou notavelmente sua concentração de hemoglobina glicosilada em relação aos outros grupos, aumentando 35,40%, valor esse considerado significativo e em relação ao grupo doente (G5) ao final do período experimental.

Hemoglobina glicosilada é um marcador para avaliação do controle glicêmico a longo prazo em pacientes com diabetes e prediz risco para o desenvolvimento e progressão de complicações diabéticas (Calisti & Tognetti, 2005). No experimento, os valores de hemoglobina glicosilada dos animais com diabetes induzida foram aumentados significativamente comparando-se a outros experimentos (Rajasekaram *et al.*, 2005; Kamalakkannan & Prince, 2006; Latha & Pari, 2004) detectando-se aumento de 40,47% no grupo doente (G5) em relação ao grupo normal (G1), o que denota níveis glicêmicos acima da faixa de normalidade pela correlação entre níveis de hemoglobina glicosilada e glicose plasmática (Rohlfing *et al.*, 2002).

A formação de hemoglobina glicosilada ocorre via reação de glicação não enzimática entre o grupo aldeído livre da glicose e um grupo amino livre na molécula de hemoglobina. Essa reação forma rapidamente um composto instável e é proporcional à concentração de glicose momentânea (Bunn *et al.*, 1976). Nesse sentido, o resultado obtido no estudo indicou que, como a glicemia aumentou nos controles tratados, houve, assim, ligação da glicose na hemoglobina tornando-se esta glicada já que a membrana do eritrócito é livremente permeável à glicose (Sacks *et al.*, 2002).

O tempo de meia vida da hemácia é determinante para avaliar a glicemia dos períodos que precedem a dosagem de hemoglobina glicosilada (Sacks *et al.*, 2002). Como o tempo de meia vida da hemácia é de cerca de 120 dias em humanos,

acredita-se que embora o tratamento tenha sido suficiente para reduzir a glicemia dos animais doentes tratados com extratos de CCR na dose de 100mg. Esse tempo talvez não tenha sido suficiente para que a hemoglobina glicada estivesse em níveis normais, uma vez que a glicose se liga irreversivelmente a esta e o tempo experimental não permitiu turnover dessas proteínas plasmáticas. Utilizando ratos Fernandes *et al.*, (2007) ao contrário do estudo realizado, verificaram diminuição significativa de hemoglobina glicosilada em 30 dias de tratamento com extrato de *Momordica charantia* e glibenclamida talvez pelo fato do tempo de meia vida das hemácias destes animais serem menores.

O colesterol total avaliado no decorrer do período experimental está demonstrado na tabela 3 para os animais normais e com diabetes induzida.

Tabela 3: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre o colesterol em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Variação (%)	32 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	38,03 \pm 5,53a		34,48 \pm 8,02a	
G2 (Normal + CCR 50)	30,72 \pm 5,02a	- 19,22%	33,40 \pm 7,64a	- 3,13%
G3 (Normal + CCR100)	39,14 \pm 15,71a	+ 2,91%	37,91 \pm 8,82a	+ 9,91%
G4 (Normal + Diabinese)	41,45 \pm 5,20a	+ 8,99%	31,60 \pm 12,08b	- 8,35%
G5 (Doente)	34,10 \pm 6,59a	- 10,33%	29,16 \pm 4,60a	- 15,42%
G6 (Doente + CCR50)	30,60 \pm 5,17a	- 10,26%	33,78 \pm 2,67a	+ 15,56%
G7 (Doente + CCR100)	32,76 \pm 8,34a	- 3,92%	28,48 \pm 8,85a	- 2,60%
G8 (Doente + Diabinese)	38,96 \pm 12,07a	+ 14,25%	27,38 \pm 8,95b	- 6,37%

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

O efeito diabetogênico alcançado com o aloxano não variou significativamente para o colesterol, que, não alterou em comparação aos animais do grupo normal (G1) e ao longo do experimento, assim como o tratamento com extratos nas diferentes dosagens nos grupos normais e doentes. Já o tratamento com diabinese reduziu os níveis plasmáticos ao longo do período experimental tanto para os animais do grupo normal (G4) quanto para os animais do grupo doente (G8).

Embora dislipidemia seja comumente complicação da *Diabetes mellitus* e estudos demonstrem aumento na absorção do colesterol e diminuição da síntese endógena decorrente não somente da falta de produção de insulina, mas, também,

de hipertrofia e hiperplasia intestinal (Gylling *et al.*, 2004; Adachi *et al.*, 2003). No experimento realizado não se observou aumento de colesterol e triacilglicerol no período experimental para o grupo com diabetes induzida sem tratamento (G5). O mesmo foi observado em outro estudo com ratos com diabetes induzida por aloxano (Viana *et al.*, 2004), Ao contrário do tratamento com estreptozotocina que aumentou significativamente colesterol e triacilglicerol (Maiti *et al.*, 2005 e Murugesh *et al.*, 2006).

A destruição das células pancreáticas com aloxano diminui níveis de insulina plasmática, mas não é idêntica aos estágios iniciais de diabetes tipo 2 em humanos caracterizado por resistência à insulina e concomitante hiperinsulinemia (Dixon *et al.*, 1999). Nesse modelo utilizado na pesquisa, há melhor representação dos estágios finais de diabetes tipo 2 após células β pancreáticas terem cessado sua função.

O tratamento com extrato das plantas testadas não demonstrou alteração nos níveis de colesterol, embora a deficiência de insulina possa ser responsável por dislipidemia devido insulina ter ação sobre HMGCoA reductase. Essa enzima chave é responsável pelo metabolismo da partícula de LDL rica em colesterol (Murali *et al.*, 2002), sendo esse efeito inverso ao efeito do diabinese que age diretamente aumentando a produção de insulina, sendo demonstrado nesse estudo redução dos níveis de colesterol ao longo do tempo.

Os níveis de triacilgliceróis dosados durante o período experimental estão demonstrados na tabela 4 para os diferentes grupos experimentais.

Tabela 4: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre o triacilglicerol em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Variação (%)	32 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	107,30 \pm 21,72a		83,58 \pm 41,71a	
G2 (Normal + CCR 50)	115,22 \pm 40,64a	+ 7,38%	106,81 \pm 36,50a	+ 27,79%
G3 (Normal + CCR100)	107,98 \pm 47,12a	+ 0,63%	86,50 \pm 34,37a	+ 3,49%
G4 (Normal + Diabinese)	117,23 \pm 77,75a	+ 9,25%	105,51 \pm 96,60a	+26,23%
G5 (Doente)	124,00 \pm 40,94a	+ 15,56	108,03 \pm 20,35a	+29,25
G6 (Doente + CCR50)	121,48 \pm 48,37a	- 2,03%	94,26 \pm 60,23a	- 12,74%
G7 (Doente + CCR100)	100,65 \pm 33,00a	- 18,83%	68,43 \pm 28,19a	- 36,65%
G8 (Doente + Diabinese)	145,28 \pm 43,40a	+17,16%	97,64 \pm 43,63b	- 9,61%

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A concentração de triacilglicerol não foi alterada significativamente para os animais com diabetes induzida (G5) em relação ao grupo normal sem tratamento (G1) e ao longo do período experimental assim como os tratamentos com extratos nas duas dosagens testadas para os animais normais (G2) e (G3) e com o tratamento com o fármaco diabinese (G4).

Para os animais com diabetes induzida, o tratamento com os extratos das plantas não apresentou alteração significativa nos níveis de triacilglicerol para os tratamentos nas diferentes dosagens. No entanto, os animais diabéticos tratados com extrato na maior dose (G7), apresentou redução de 18,83% aos 16 dias, e, 36,65% aos 32 dias quando comparadas ao grupo diabético (G5), alcançando o valor de $68,43 \pm 28,19$ mg/dL aos 32 dias de tratamento, valor esse inferior a faixa apresentada pelo grupo normal (G1) que foi de $83,58 \pm 41,71$ mg/dL. O significado clínico dessa variação deve ser considerada. Essa diferença também pode ser notada com a redução crescente dos níveis de triacilgliceróis dos 16 aos 32 dias de tratamentos.

Nos animais doentes tratados com diabinese (G8) houve redução significativa ao longo do tempo com diminuição dos níveis de $145,28 \pm 43,4$ mg/dL para $97,64 \pm 43,63$ mg/dL embora a redução não tenha sido representativa como hipotriacilglicemiante quando comparado ao grupo doente sem tratamento (G5).

Como triacilglicerol no tecido adiposo é a forma predominante de estocar energia em animais, a habilidade para armazenar e aumentar essa energia em resposta à biodisponibilidade de nutrientes é vantajoso para sobrevivência e requer cuidadoso equilíbrio entre síntese de triacilglicerol e hidrólise (Kershaw *et al.*, 2006).

O aumento plasmático de triacilgliceróis e diminuição de HDL são considerados os componentes centrais da dislipidemia diabética embora mais recentemente a LDL tenha sido realçada, além da excessiva lipemia pós-prandial (Taskinen, 2003). Assim, como era de se esperar, nesse estudo os animais com diabetes induzida por aloxano, aumentaram níveis de triacilgliceróis. Observando o parâmetro glicose, nesse estudo reflete-se assim disponibilidade desta para a síntese de triacilglicerol a partir de glicose disponível, como comparado à alimentação rica em carboidratos (Hudgins, 2000) e deficiência aguda de insulina, que inicialmente causa aumento na mobilização de Ag_L no tecido adiposo. Obtém-se, assim, aumento da secreção de triacilglicerol, de VLDL do fígado convertendo

Ag_L para corpos cetônicos e diminuindo a secreção de triacilglicerol de VLDL (Lehninger, Nelson, Cox, 2007).

A redução de triacilglicerol nesse estudo realizado não foi significativo pelo tratamento com os extratos embora o grupo tratado com a dose de 100mg (G7) apresentou variação e foi inferior ao valor apresentado para o grupo normal. Portanto, clinicamente essa alteração supostamente teria relevância em resposta ao tratamento com a continuidade do uso do extrato de CCR. E, fitoterápico que reduza o triacilglicerol e a hiperglicemia pode estar substituindo dois fármacos ao mesmo tempo, ou, após estudos estes fármacos associados devem ser verificados quanto a potencialização do efeito sinérgico positivo na interação medicamentosa.

A lipase manteve sua atividade aos 16 e 32 dias nos animais dos grupos normais e doentes não tratados e tratados como observado nos dados apresentados na tabela 5.

Tabela 5: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre a lipase em mg/dL ± desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Varição (%)	32 dias	Varição (%)
G1 (Normal)	70,08 ± 8,86a		70,16 ± 18,52a	
G2 (Normal + CCR 50)	71,47 ± 4,18a	+ 1,98	66,34 ± 18,52a	- 5,44
G3 (Normal + CCR100)	73,54 ± 6,21a	+ 4,93	64,31 ± 11,05a	- 8,33
G4 (Normal + Diabinese)	69,93 ± 13,72a	- 0,21	70,55 ± 12,01a	+ 0,55
G5 (Doente)	74,33 ± 7,41a	+ 6,06	74,24 ± 15,57a	+ 5,81
G6 (Doente + CCR50)	66,69 ± 12,30a	- 10,27	74,24 ± 15,14a	0
G7 (Doente + CCR100)	72,12 ± 5,03a	- 2,97	73,43 ± 21,47a	- 1,09
G8 (Doente + Diabinese)	73,64 ± 2,91a	- 0,92	66,79 ± 13,80a	- 10,03

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A diabetes não alterou significativamente os valores dosados da lipase no grupo diabético (G5) em relação aos animais do grupo normal (G1), e isso se manteve durante o experimento com manutenção da atividade aos 16 e 32 dias, assim como para todos os tratamentos nos animais normais e doentes.

Diabetes mellitus está associada à redução da atividade da lipase lipoprotéica e o desenvolvimento de hipertrigliceridemia (Tavangar *et al.*, 1992); melhora do

controle glicêmico resulta em aumento da atividade da lipase lipoprotéica no tecido adiposo (Simsolo *et al.*, 1992).

Estando presente principalmente no tecido adiposo e músculo, a lipase participa da importante função na patofisiologia da hiperlipidemia (Simsolo *et al.*, 1992), em que efetivo tratamento de pacientes com diabetes mostra diminuição no nível de triacilgliceróis no plasma e aumento na atividade da lipase, uma vez que esta hidrolisa triacilgliceróis, armazenados nos diferentes tecidos.

No experimento realizado não houve alteração na atividade da lipase no soro dos animais com diabetes induzida e nos diferentes grupos experimentais tratados, embora a persistente deficiência de insulina aumentou triacilgliceróis em níveis não significativos para o grupo controle diabético, possivelmente conduzindo para um crescente dano na remoção de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis no plasma, a qual é parcialmente, mas não completamente devido à diminuição na atividade da lipase lipoprotéica (Tavangar *et al.*, 1992).

Os níveis de creatinina não apresentaram alterações significativas com a indução de diabetes como observado na tabela 6 nos dados apresentados pelos grupos ao longo do período experimental.

Tabela 6: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre a creatinina em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Variação (%)	32 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	2,30 \pm 0,33a		2,17 \pm 0,30a	
G2 (Normal + CCR 50)	2,14 \pm 0,12a	- 6,95	2,16 \pm 0,23a	- 0,46
G3 (Normal + CCR100)	2,22 \pm 0,34a	- 3,47	2,38 \pm 0,26a	+ 9,67
G4 (Normal + Diabinese)	2,23 \pm 0,18a	- 3,04	2,03 \pm 0,15a	- 6,45
G5 (Doente)	2,22 \pm 0,85a	- 3,47	2,02 \pm 0,12a	- 6,91
G6 (Doente + CCR50)	2,16 \pm 0,24a	- 2,70	2,02 \pm 0,17a	0
G7 (Doente + CCR100)	2,24 \pm 0,35a	+ 0,90	2,37 \pm 0,51a	+ 17,32
G8 (Doente + Diabinese)	2,33 \pm 0,29a	+ 4,95	2,19 \pm 0,41a	+ 8,41

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A indução de diabetes nos animais não alterou os valores de creatinina em relação ao grupo normal sem tratamento (G1) e ao longo do período experimental bem como o tratamento com extratos nas duas dosagens (G2) e (G3) e com diabinese (G4) para os animais normais.

Para os animais doentes os valores da creatinina plasmática nos animais tanto tratados com extratos dos grupos (G6) e (G7) quanto para o grupo tratado com diabinese (G8), não houve variações significativas em relação aos animais diabéticos (G5). Entretanto, no tratamento com extrato na dose de 100mg para animais diabéticos (G7), detectou-se elevação dos níveis de creatinina, embora não estatisticamente significativa. A taxa de creatinina plasmática ao final do experimento aumentou para esse grupo em 17,32% em relação ao grupo doente (G5) para o valor de $2,37 \pm 0,51$ mg/dL, faixa essa também observada para os animais normais tratados com a mesma dosagem de 100mg do extrato.

A creatinina é um derivado de aminoácido oriunda do metabolismo muscular. Gerada no músculo a partir de reação não enzimática da creatina e fosfocreatina, a sua produção e liberação pelo músculo são praticamente constantes. A geração é diretamente proporcional à massa muscular, que varia de acordo com a idade, sexo e raça, sendo afetada por condições que causam perda muscular (Nunes, 2007).

Dano renal é bem conhecido como consequência da diabetes e aumento do clearance de creatinina é observado em ratos com diabetes induzida por estreptozotocina (Aybar *et al.*, 2001; Suzuki *et al.*, 2005). Altos volumes urinários são mostrados por diabetes induzida por estreptozotocina em camundongos com hipertrofia renal (Grover *et al.*, 2003) devido ao elevado aumento na concentração de glicose no filtrado glomerular excedendo a capacidade das células tubulares em reabsorvê-la e dando origem à diurese osmótica. Esse mecanismo tem sido o responsável pela produção de grande volume de urina com elevada osmolaridade, e, na fase prévia da nefropatia diabética há hiperfiltração para controle homeostático da glicose (Suzuki *et al.*, 2005), e, aumento de creatinina (Murali *et al.*, 2002) com pelo menos 2 meses de hiperglicemia, tempo que o período utilizado por esse estudo não abrangeu.

Como a creatinina é livremente filtrada pelo glomérulo e não reabsorvida nem metabolizada pelo rim, nesse estudo, a dosagem de creatinina não apresentou alterações significativas em nenhum tratamento nos tempos avaliados. Porém,

observou-se ligeiro aumento da concentração de creatinina plasmática em animais doentes e normais tratados com a maior dose do extrato, podendo sugerir uma certa toxicidade dos constituintes das plantas. Isso pode indicar sobrecarga para o sistema renal, logo que, plantas podem produzir efeitos tóxicos sobre os rins mostrados pela elevação de creatinina plasmática e concentração de uréia em animais diabéticos e não diabéticos como demonstrado no estudo de Bwititi *et al.* (2000).

As proteínas plasmáticas totais foram avaliadas nos diferentes grupos não apresentando alterações significativas entre os grupos como evidenciado na tabela 7 com a indução de diabetes e entre diferentes tratamentos.

Tabela 7: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre as proteínas totais em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Varição (%)	32 dias	Varição (%)
G1 (Normal)	6,09 \pm 0,48a		5,79 \pm 0,38a	
G2 (Normal + CCR 50)	6,86 \pm 0,59a	+ 12,64	6,07 \pm 0,57b	+ 4,83
G3 (Normal + CCR100)	5,85 \pm 1,50a	+ 3,94	5,84 \pm 0,54a	+ 0,86
G4 (Normal + Diabinese)	6,01 \pm 0,71a	- 1,31	5,36 \pm 0,86a	- 7,42
G5 (Doente)	5,97 \pm 0,59a	- 1,97	5,69 \pm 0,51a	- 1,72
G6 (Doente + CCR50)	6,00 \pm 0,51a	+ 0,50	6,03 \pm 0,26a	+ 5,97
G7 (Doente + CCR100)	5,67 \pm 0,60a	- 5,02	5,60 \pm 1,03a	- 1,58
G8 (Doente + Diabinese)	6,01 \pm 0,38a	+ 0,67	5,97 \pm 0,17a	+ 4,92

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Entretanto, o tratamento para animais normais com os extratos na menor dosagem (G2) apresentou sua concentração reduzida significativamente de 6,86 \pm 0,59mg/dL aos 16 dias de tratamento para 6,07 \pm 0,57mg/dL ao final do experimento, embora se comparando ao grupo normal (G1) não foi observado alteração para seus valores.

No experimento realizado, não se observou nenhuma alteração significativa nas proteínas totais dosadas. Desse modo, não houve indicação de mudanças no metabolismo protéico, exceto para os animais do grupo normal tratado com menor dose do extrato (G2) que diminuiu seus níveis de proteína plasmáticas embora o

mesmo não foi observado com aumento da dose do extrato. Tal dado não foi compartilhado com alteração histológica como visto a seguir.

Em condições de estresse oxidativo severo em diabetes, radicais livres podem conduzir a modificações protéicas pela formação de auto-oxidação de carboidratos e lipídeos, com eventual formação de glicação avançada de produtos finais (Ahmed *et al.*, 2005). Além do que, diminuição nos níveis de proteínas totais nos animais com diabetes induzida foi encontrada por Kamalakkannan & Price (2006). A perda de peso dos animais doentes foi sugerida pelo catabolismo de proteínas aumentando a taxa de conversão de aminoácidos glicogênicos para CO₂ e H₂O, visto que o mecanismo fundamental de hiperglicemia em *Diabetes mellitus* envolve superprodução de glicogenólise e gliconeogênese devido diminuição à utilização da glicose que estão inacessíveis ou não podem ser utilizadas adequadamente.

Não houve nenhuma alteração significativa no período experimental para albumina plasmática com a indução de diabetes como observado pela tabela 8.

Tabela 8: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C.brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis* associados sobre a albumina em mg/dL ± desvio padrão em coelhos normais e diabéticos

Grupos	16 dias	Variação (%)	32 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	3,99 ± 0,18a		4,05 ± 0,17a	
G2 (Normal + CCR 50)	4,25 ± 0,34a	+ 6,51	4,12 ± 0,26a	+ 1,72
G3 (Normal + CCR100)	3,78 ± 0,84a	- 5,26	3,98 ± 0,28a	- 1,72
G4 (Normal + Diabinese)	3,85 ± 0,28a	- 3,50	3,65 ± 0,45a	- 9,87
G5 (Doente)	4,03 ± 0,34a	+ 1,00	4,04 ± 0,24a	- 0,24
G6 (Doente + CCR50)	3,91 ± 0,24a	- 2,97	3,98 ± 0,12a	- 1,48
G7 (Doente + CCR100)	3,84 ± 0,30a	- 4,71	3,74 ± 0,47a	- 7,42
G8 (Doente + Diabinese)	3,88 ± 0,18a	- 3,72	3,95 ± 0,18a	- 2,22

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

A indução de diabetes não ocasionou alterações nos níveis de albumina para o grupo doente sem tratamento (G5) ao longo do período experimental, bem como os diferentes tratamentos com extratos e diabinese para os animais normais e doentes comparando-se os valores apresentados entre os grupos nos diferentes

tempos.

A perda de albumina na urina é considerada marcador para detecção de nefropatia diabética, o que representa clinicamente estado de “albuminúria” (Grover *et al.*, 2001). A causa de mortalidade em pacientes com longa duração de diabetes tipo 1 está associada entre homeostase da glicose e dano renal, sendo a identificação prévia de albuminúria considerada clinicamente relevante (Arun *et al.*, 2003; American Diabetes Association, 2003). Porém, a não diminuição nos níveis de albumina plasmática não foi observada nesse estudo podendo indicar albuminúria, ao contrário do experimento com camundongos com diabetes induzida por estreptozotocina em que se observou redução dos níveis de albumina plasmática (Grover *et al.*, 2003), e em ratos que, após doze semanas (Suzuki *et al.*, 2005) e trinta dias (Aybar *et al.*, 2001) exibiam excreção de albumina urinária.

Além da indução da diabetes no experimento não ter alterado o valor de albumina plasmática, supõe-se que as plantas testadas também não influenciaram com o tratamento, embora a albumina seja a proteína plasmática mais importante para ligação a várias substâncias como fármacos, nutrientes e constituintes presentes nos extratos das plantas e mudanças poderiam denotar alterações sistêmicas na cinética de distribuição destas nos tecidos (Rang *et al.*, 2003).

Houve algumas limitações no estudo. Primeiro, a falta de teste isolado de cada planta para investigação e esclarecimento dos efeitos biológicos para atribuições a princípios ativos constitutivos da fitoquímica encontrada; embora o estudo tenha sido conduzido administrando associadamente as três plantas como fitoterápicos tal qual são utilizadas etnobotanicamente para a triagem de seu efeito na diabetes. Segundo, a duração do experimento não permitiu avaliar as complicações da doença. Esta é uma doença crônico-degenerativa em que complicações se desenvolvem ao longo do tempo.

4.2 Avaliação histológica em diabetes

A avaliação histológica do fígado do grupo normal (Figura 10A) mostrou um quadro microscópico compatível com o observado em animais saudáveis. No entanto, no grupo com diabetes induzida verificou-se a presença de inflamação e degeneração hidrópica intensa (Figura 10B).

A utilização dos extratos de CCR nas doses de 50 e 100mg nos grupos normais promoveu o aparecimento de processo inflamatório e degeneração hepática, sendo essas alterações mais evidentes nos grupos tratados com 100mg do extrato (Figura 10C e E). Por outro lado, os animais doentes, tratados com extrato da planta na dose de 50mg (Figura D) apresentaram alterações semelhantes às observadas no grupo normal tratado com extrato na dose de 100mg (Figura 10E). No entanto, animais doentes tratados com a dosagem de 100mg apresentaram focos inflamatórios e degeneração hepática discreta em relação à dose de 50mg do extrato de CCR (Figura 10F).

O tratamento com diabinese promoveu o aparecimento de inflamação moderada e degeneração discreta no grupo normal (Figura 10G) e reduziu as alterações no grupo com diabetes, apresentando inflamação e degenerações discretas (Figura 10H).

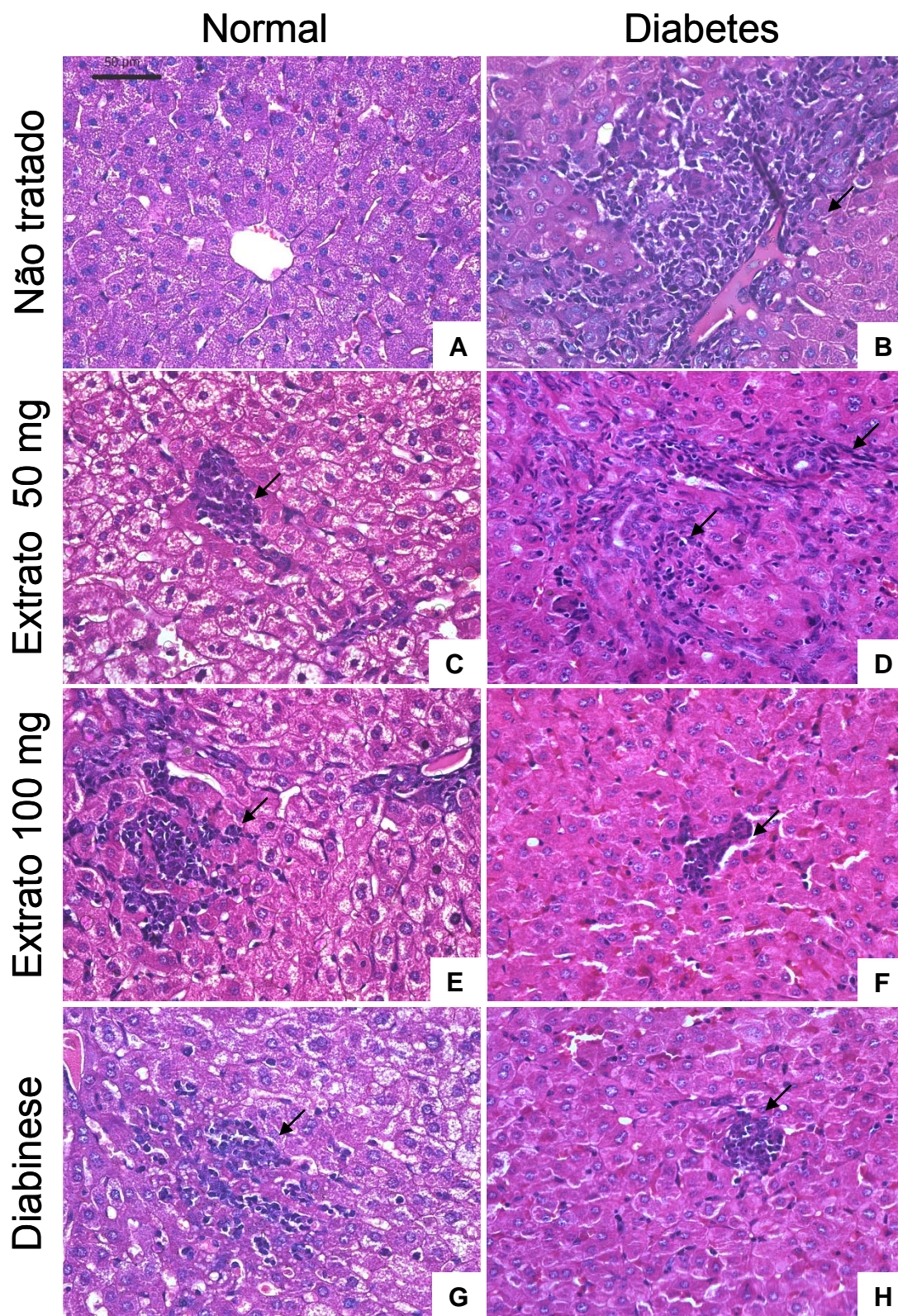


Figura 10: Fotomicrografias do fígado de animais normais e portadores de diabetes induzida. (A) Normal: aspecto histológico sem alterações; (B) Doente: inflamação e degeneração intensas; (C) Normal tratado com extrato na dose de 50 mg: inflamação discreta e degeneração moderada; (D) Doente tratado com extrato na dose de 50 mg: inflamação e degeneração intensas; (E) Normal tratado com extrato na dose de 100 mg: inflamação moderada e degeneração intensa; (F) Doente tratado com extrato na dose de 100 mg: inflamação e degeneração discreta; (G) Normal tratado com diabinese: inflamação moderada e degeneração discreta; (H) Doente tratado com diabinese: inflamação e degeneração discretas. Hematoxilina e Eosina. Barra= 50 micrômetros.

Na Figura 11 estão apresentados as fotomicrografias do rim de animais normais e portadores de diabetes induzida, submetidos a diferentes tratamentos.

A avaliação do rim também mostrou padrão sem alterações nos animais normais sem tratamento (Figura 11A), e, nos animais com diabetes induzida verificou-se alterações glomerulares como espessamento de cápsula, destruição glomerular e fibrose (Figura 11B).

Os animais normais tratados com extrato na dose de 50mg não apresentaram alterações (Figura 11C), diferentemente da dosagem de 100mg que apresentaram discretas alterações glomerulares (Figura 11E).

Para os animais doentes tratados com extrato na dose de 50mg (Figura 11F), houve semelhança em relação aos animais do grupo diabético sem tratamento (Figura 11B). Em contrapartida, para os animais doentes com tratamento de extrato na dose de 100mg (Figura 11F) ocorreram alterações glomerulares menos evidentes que naqueles animais do grupo tratado com dose de 50mg e grupo doente (Figura 11D e B).

O tratamento com diabinese induziu alterações renais evidentes, semelhantes ao grupo doente e com alterações mais pronunciadas que o observado para o tratamento dos animais normais tratados com extrato na dose de 100mg (Figura 11G e H).

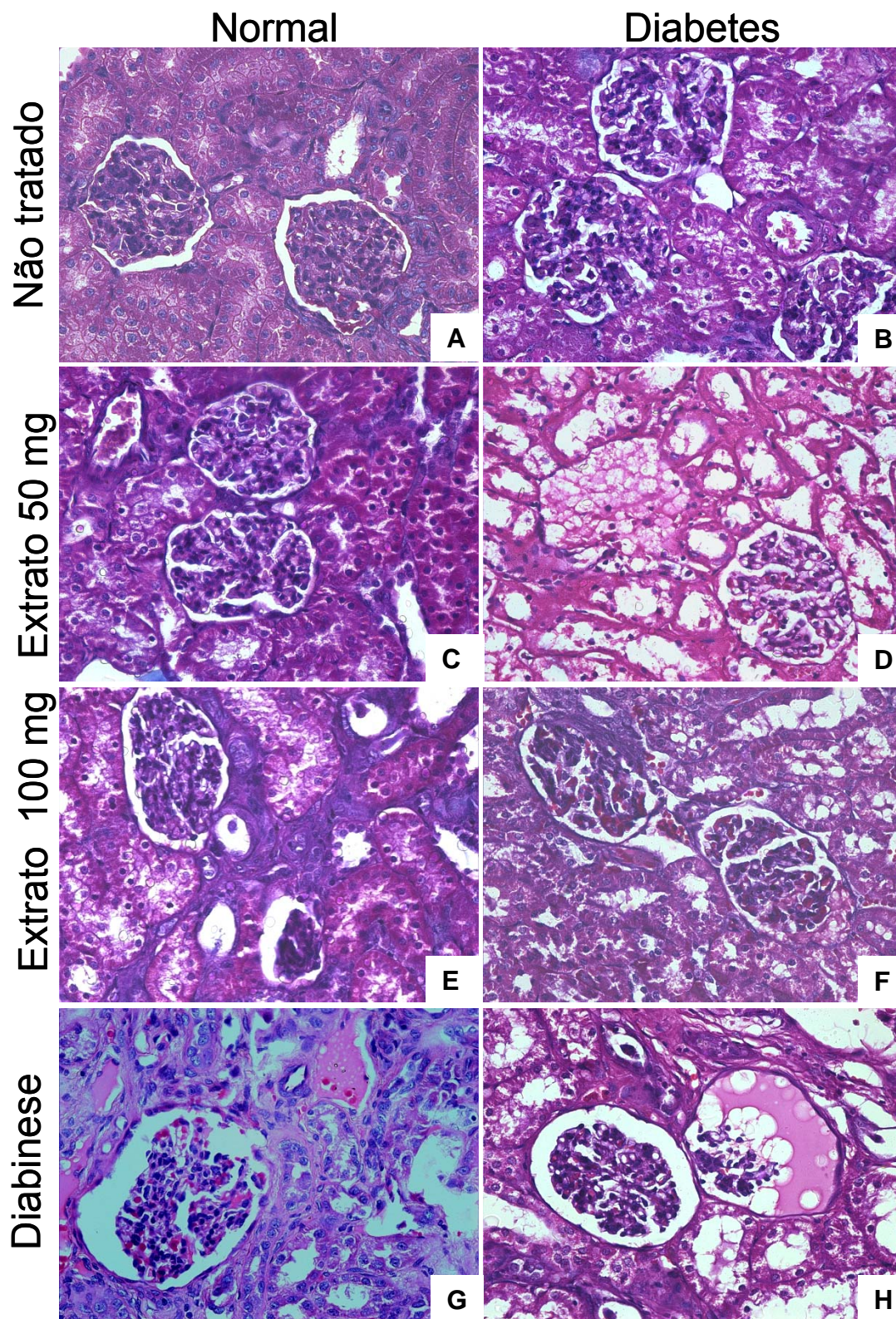


Figura 11: Fotomicrografias do rim de animais normais e portadores de diabetes induzida. (A) Normal: aspecto histológico sem alterações; (B) Doentes: alterações intensas; (C) Controle tratado com extrato na dose de 50 mg: sem alterações; (D) Doente tratado com extrato na dose de 50 mg: alterações intensas; (E) Normal tratado com extrato na dose de 100 mg: alterações discretas; (F) Doente tratado com extrato na dose de 100 mg: alterações raras; (G) Normal tratado com diabinese: alterações discretas; (H) Doente tratado com diabinese: alterações moderadas. Hematoxilina e Eosina. Barra= 50 micrômetros.

Assim, como no estudo de Ravi e colaboradores, a destruição das células pancreáticas na nossa pesquisa não ocorreu na íntegra, uma vez que a resposta com a administração da sulfoniluréia, como fármaco de referência, agiu diminuindo a glicemia através da produção de insulina pelas células remanescentes, justificando, então modelo similar ao observado clinicamente em diabetes tipo 2.

No experimento, o exame histológico revelou extensiva alteração no fígado dos animais com diabetes induzida por aloxano igualmente quando comparado a diabetes induzida por estreptozotocina em ratos (Ravi *et al.*, 2004). O dano hepático foi causado provavelmente devido a peroxidação lipídica subsequente a produção de radicais livres (Can *et al.*, 2004) quando comparado a grupos de animais saudáveis, e, somado ao fato que se conhece bem que, tecidos de animais diabéticos exibem aumentado estresse oxidativo e distúrbios na defesa antioxidante comparada a animais normais (Rajasekaran, Sivagnanam, Subramanian, 2005; Muruges *et al.*, 2006; Ulicna *et al.*, 2006). O tratamento com diabinese no estudo, semelhantemente ao efeito de glibenclamida (outra sulfoniluréia) utilizada por Ravi *et al.* e Can *et al.* (2004) diminuiu a degeneração provocada pela droga diabetogênica ocasionando efeito protetor tecidual.

O acúmulo de gordura nos hepatócitos mostrados em fígados de coelhos com diabetes induzida por aloxano após um mês do experimento foi visto em estudo feito por Sharma *et al.* (2003); sendo essa degeneração comum em função das complicações relacionadas à hiperlipidemia decorrente do quadro clínico apresentado em diabetes, devido a presença de elevados níveis de triacilgliceróis, LDL e redução de HDL (Toledo *et al.*, 2006). No experimento, as degenerações apresentadas não foram relacionadas a esteatose, portanto, condizentes com a não elevação dos parâmetros lipídicos dosados bioquimicamente.

O efeito do extrato na dose de 100mg nos animais com diabetes induzida (G7) na pesquisa revelou melhora na arquitetura hepática comparada ao grupo diabético sem tratamento, apresentando assim, em extensão ao controle da glicemia menor dano tecidual, tal qual o resultado bioquímico em que a resposta desse tratamento foi mais relevante para melhora do quadro instalado que o do próprio fármaco padrão.

No entanto, o extrato com as plantas *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *Rourea paraensis* é capaz de produzir alterações teciduais hepáticas, demonstradas através

de processo inflamatório e degeneração acentuada observados com o aumento da dose do extratos utilizada no tratamento. E, a utilização do aloxano desencadeando diabetes possivelmente ocasionou estresse metabólico que potencializou as alterações já observadas com o tratamento dos extratos de CCR.

Modestas lesões glomerulares, como irregularidade de capilares e na cápsula de Bowman's além de danos tubulointersticiais foram notadas quando comparados animais diabéticos com normais, o que também foi visto por Gross *et al.* (2004) analisando morfológicamente diferentes modelos de diabetes. As alterações não foram características de nefropatia, já que a diabetes é uma doença crônica, e as manifestações patológicas sobre os rins estão nitidamente relacionadas ao tempo do hospedeiro às anormalidades metabólicas causadas pela doença, sendo então necessária prolongada hiperglicemia para produzir mudanças histológicas características da nefropatia diabética (Greevska & Polenakovic, 2001).

O aumento da excreção de albumina em decorrência de alteração da membrana basal glomerular precede a grande perda de albumina como marcador nas mudanças da arquitetura glomerular (Stefes & Basgen, 2000), estando esse fato de acordo com a não alteração do parâmetro sérico de albumina dosada no estudo.

O efeito do tratamento com o extrato demonstrou alterações histológicas indicando mudanças na estrutura do rim com a dose de 100mg do extrato de CCR em animais normais. Isso também foi visualizado na bioquímica de marcador renal que detectou aumento de creatinina sérica nesses grupos, e, como observado por Bwititi *et al.* (2000), que, assim como na nossa pesquisa, observaram que o tratamento com *Opuntia megacantha* aumentava a concentração de creatinina no plasma sugerindo prejuízo da função renal.

Quanto à terapêutica sugerida pelo efeito das plantas nos animais doentes tratados com a dose de 100mg (G7), novamente observou-se menor comprometimento glomerular e tubular como efeito protetor de *Eugenia jambolana* visto em ratos com diabetes (Ravi *et al.*, 2004), mas, na verdade, supõe-se pelos resultados encontrados que, uma melhora na homeostase glicídica ocasiona menores danos ao tecido renal (como observado no tecido hepático), para ser somado a alterações da própria possível toxicidade das plantas testadas e visualizadas tecidualmente nos animais normais tratados.

4.3 Avaliação dos parâmetros bioquímicos em hiperlipidemia

Os resultados obtidos para a dosagem de colesterol nos diferentes tratamentos do estudo estão apresentados na tabela 9.

Tabela 9: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense* sobre o colesterol em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e hiperlipidêmicos

Grupos	15 dias	Variação (%)	30 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	61,21 \pm 13,90a		57,25 \pm 8,95a	
G2 (Normal + EC70)	57,96 \pm 18,52a	- 5,30	57,15 \pm 15,13a	- 0,17
G3 (Normal + EC150)	58,45 \pm 24,36a	- 4,50	50,28 \pm 12,00a	- 12,17
G4 (Normal + Atorvastatina)	39,78 \pm 8,13a	- 35,01	49,20 \pm 15,89a	- 14,06
G5 (Doente)	117,13 \pm 80,98b	+ 91,35	227,46 \pm 173,65a*	+ 297,31
G6 (Doente + EC70)	231,23 \pm 154,02b	+ 97,41	329,46 \pm 205,20a	+ 44,84
G7 (Doente + EC150)	151,06 \pm 94,17a	+ 28,96	163,66 \pm 126,75a	- 28,04
G8 (Doente + Atorvastatina)	92,26 \pm 56,02a	- 21,23	118,85 \pm 92,44a	- 47,74

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. As médias com (*) na coluna diferem do grupo normal (G1) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

O modelo de indução experimental de hipercolesterolemia utilizado obteve êxito, verificado pelo aumento dos níveis de colesterol plasmático nos animais do grupo hipercolesterolêmico (G5) com aumento de 297,3% em relação ao grupo normal sem tratamento (G1). Ao longo do experimento, os animais do grupo normal (G1) não variaram sua colesterolemia ao contrário dos animais do grupo hipercolesterolêmico (G5) que aumentaram de 117,13 \pm 80,98 mg/dL para 227,46 \pm 173,65 mg/dL no decorrer do estudo.

O tratamento com extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* na dose de 70mg (G2) e 150mg (G3) nos animais normais não demonstraram alterações no colesterol sanguíneo, assim como o tratamento com atorvastatina (G4), apesar de apresentar valor de 39,78 \pm 8,13mg/dL (reduzindo 35,01%), aos 15 dias.

Os animais com hipercolesterolemia induzida apresentaram diferentes respostas com o tratamento. O tratamento com extrato de *C. brasiliense* na dose de 70mg para os animais doentes (G6) não ocasionou redução do colesterol total para níveis menores que o grupo hipercolesterolêmico (G5) aumentando seus níveis

significativamente ao final do experimento. Ao passo que, o tratamento com extrato na dose de 150mg (G7) inibiu o aumento do colesterol, apresentando valor clinicamente favorável reduzindo 28,04% ao final do experimento.

Para o tratamento com atorvastatina nos animais com hipercolesterolemia (G8), observou-se ao final do experimento eficiente redução dos níveis de colesterol plasmático através da inibição da HMG-CoA que catalisa a síntese de colesterol. Obteve-se redução progressiva nos níveis de colesterol sanguíneo em relação ao grupo hipercolesterolêmico (G5), sendo esse valor diminuído de $117,13 \pm 80,98$ mg/dL para $92,26 \pm 56,02$ mg/dL (-21,23%) aos 15 dias e de $227,46 \pm 173,65$ mg/dL versus $118,85 \pm 92,44$ mg/dL (-47,74%) aos 30 dias, reduzindo-se, assim, progressivamente os níveis de colesterol.

A hiperlipidemia em concentrações aumentadas de colesterol e lipoproteínas ricas em triacilgliceróis é considerada a causa de arteriosclerose com dados epidemiológicos e experimentais indicando que dieta contendo altos níveis de colesterol está associada ao desenvolvimento de hipercolesterolemia (Ballantyne *et al.*, 2000).

A indução de hiperlipidemia em modelos animais, em particular a hipercolesterolemia, pela dieta rica em colesterol, tem sido sugerida por muitos cientistas como um modelo seguro para aterosclerose em humanos (Arafa, 2005). Aterosclerose pode ser induzida em qualquer espécie animal se o nível de colesterol sanguíneo aumentar suficientemente. Em algumas espécies, como o rato ou o cão, é difícil encontrar nível de colesterol satisfatoriamente alto, mas, quando este aumenta para faixa de 300-800mg/dL é possível observar o desenvolvimento da aterosclerose. Ao contrário de coelhos que são bem mais sensíveis à dieta rica em colesterol e acumula grande quantidade no plasma. Entretanto, hipercolesterolemia não é somente o fator contribuinte para aterosclerose e suas complicações, apesar de melhor estabelecer possivelmente o melhor elemento necessário na patogênese (Steinberg, 2005).

No experimento, a hipercolesterolemia foi induzida com adição de 0,5g de colesterol na ração/diária, sendo que 0,5% e 1% de acréscimo de colesterol na dieta induzem similares graus de hipercolesterolemia (Sun *et al.*, 2000).

O aumento nos níveis de colesterol sanguíneo em 297,31% aos 30 dias foi extremamente significativo para o modelo de hipercolesterolemia testado tendo sido

proveitoso para avaliação do extrato de *C. brasiliense* interferindo na absorção, degradação, excreção do colesterol ou até na biossíntese do colesterol.

No experimento, optou-se por induzir hipercolesterolemia progressivamente associada ao tratamento como realizado num dos testes de Xie *et al.*, (2007) para avaliar mecanismos hipolipidêmicos. Dessa forma, conseguiu-se avaliar a eficiência do tratamento para inibir o aumento da concentração sanguínea do colesterol, visto que, a dieta hipercolesterolêmica foi mantida durante todo o período experimental.

No estudo, o tratamento com *C. brasiliense* inibiu o aumento dos níveis de colesterol, causado por dieta hipercolesterolêmica, sugerindo possivelmente necessidade de maior tempo para redução do colesterol com extrato na dose de 150mg, diferentemente do estudo com extrato de Kangen-Karyu (Yokosawa *et al.*, 2006) em que o efeito anti-hipercolesterolêmico não foi dose dependente para proteger contra dieta hipercolesterolêmica.

Uma possível explicação para efeito hipolipidêmico do extrato que contém princípios ativos é que este pode aumentar a taxa de catabolismo do colesterol. Isso pode ocorrer pelo aumento da atividade da enzima hepática 7- α -hidroxilase que é a taxa limitante da biossíntese de ácido biliar e, assim, há estímulo para a conversão do colesterol a ácido biliar, uma importante via para eliminação do colesterol pelas fezes (Xu *et al.*, 2000). Outro plausível mecanismo pode ter sido inibição da absorção do colesterol, detectável com elevação de colesterol total fecal como visto por Yokozawa *et al.* (2006).

Níveis de lipídeos plasmáticos são determinados pela absorção exógena e síntese de lipídeos endógenos e metabolismo, os quais usualmente envolvem alvos reguladores reduzindo risco de doença cardiovascular (Yoshida, 2003).

A estatina, fármaco utilizado como padrão de referência, inibe a síntese endógena de colesterol pela inibição da HMGCoA redutase e, dessa forma, seletivamente pode ativar a lipase lipoprotéica. No experimento realizado o tratamento com atorvastatina por um período de 30 dias foi capaz de inibir o aumento do colesterol ao reduzir em 30 dias de tratamento concomitantemente a administração de colesterol adicionado à ração.

Para o parâmetro triacilgliceridemia analisado no experimento os resultados estão apresentados na tabela 10.

Tabela 10: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense* sobre o triacilglicerol em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e hiperlipidêmicos

Grupos	15 dias	Variação (%)	30 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	99,83 \pm 51,32a		146,18 \pm 76,02a	
G2 (Normal + EC70)	108,26 \pm 32,59a	+ 8,44	85,51 \pm 15,27a	- 41,50
G3 (Normal + EC150)	153,66 \pm 54,08a	+ 53,92	150,05 \pm 81,80a	+ 2,64
G4 (Normal + Atorvastatina)	93,00 \pm 34,22a	- 6,84	94,48 \pm 72,91a	- 35,36
G5 (Doente)	179,83 \pm 72,80b*	+ 80,13	264,56 \pm 190,51a*	+ 80,98
G6 (Doente + EC70)	109,11 \pm 29,90a	- 39,32	92,18 \pm 28,42a [#]	- 65,15
G7 (Doente + EC150)	151,38 \pm 58,33a	- 15,82	116,25 \pm 54,83a [#]	- 56,05
G8 (Doente + Atorvastatina)	99,18 \pm 25,53a	- 44,84	62,91 \pm 38,37a [#]	- 76,22

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.
 As médias com (*) na coluna diferem do grupo normal (G1) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.
 As médias com (#) na coluna diferem do grupo doente (G5) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

Os animais com hipercolesterolemia induzida (G5) demonstraram níveis de triacilgliceróis aumentados em relação ao grupo normal (G1) e ao longo do período experimental.

O grupo normal com extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* na dose de 70mg (G2) diminuiu (41,50%) aos 30 dias de tratamento, mas, esse valor não foi expressivo, e, também em relação à variação ao longo do tempo. Já o tratamento do extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* na dose de 150mg (G3) este manteve seu valor, assim como o grupo de animais tratados com estatina (G4) que não apresentaram alterações significativas em relação ao grupo normal (G1) e no decorrer do tempo avaliado.

Em relação aos grupos hipercolesterolêmicos, os tratamentos com extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* foram eficazes em reduzir os níveis de triacilgliceróis. A dose de 70mg do extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* (G6) foi mais eficiente que o tratamento na maior dosagem (G7), ao diminuir 65,1% aos 30 dias, valor esse significativo comparando-se ao grupo hipercolesterolêmico (G5), embora o tratamento com extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* de 150mg (G7) também

reduziu triacilgliceróis em 56,05% com 30 dias de tratamento. O tratamento com atorvastatina reduziu triacilgliceróis drasticamente (76,22%). Todos os tratamentos nos grupos hipercoleterolêmicos foram capazes de reduzir acentuadamente a hipercolesterolemia, alcançando níveis inferiores ao observado nos animais do grupo normal (G1), portanto com grande eficiência para tratamento farmacológico.

A hipertriacilgliceridemia detectada no modelo estudado permitiu avaliar o efeito do extrato da planta como eficiente redutor de triacilglicerol, diminuindo acentuadamente para valores inferiores ao apresentado para animais do grupo normal. A lipase que participa da função central na degradação de triacilgliceróis não foi alterada com o tratamento, sugerindo que *C. brasiliense* não age diretamente sobre a enzima, devendo o mecanismo hipotrigliceridemiante ser diferente da ação enzimática para quebra de triacilgliceróis a ácidos graxos livres (tabela 11).

Os valores para atividade da enzima lipase avaliados no experimento estão apresentados na tabela 11.

Tabela 11: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense* sobre a lipase em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e hiperlipidêmicos

Grupos	15 dias	Variação (%)	30 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	78,74 \pm 2,01a		70,26 \pm 2,44a	
G2 (Normal + EC70)	70,31 \pm 10,66a	- 10,70	73,47 \pm 2,38a	+ 4,56
G3 (Normal + EC150)	70,64 \pm 14,01a	- 10,28	75,91 \pm 8,06a	+ 8,04
G4 (Normal + Atorvastatina)	76,26 \pm 4,45a	- 3,14	73,89 \pm 2,47a	+ 5,16
G5 (Doente)	72,05 \pm 13,56a	- 8,49	76,35 \pm 5,99a	+ 8,66
G6 (Doente + EC70)	74,47 \pm 7,95a	+ 3,35	73,22 \pm 6,88a	- 5,92
G7 (Doente + EC150)	67,82 \pm 15,83a	- 5,87	72,37 \pm 12,51a	- 4,09
G8 (Doente + Atorvastatina)	77,78 \pm 4,10a	+ 7,95	71,83 \pm 10,87a	- 5,21

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

De acordo com os resultados evidenciados, não houve alteração significativa na atividade enzimática da lipase para os diferentes grupos normais e doentes tratados e não tratados, portanto, demonstrando que a atividade da enzima não sofreu influência da hipercolesterolemia induzida, assim como do tratamento com os extratos da planta nas duas dosagens e da atorvastatina para comparação do possível efeito terapêutico.

O valor de creatinina foi avaliado para os diferentes tratamentos experimentais na tabela 12.

Tabela 12: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C.brasiliense* sobre a creatinina em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e hiperlipidêmicos

Grupos	15 dias	Variação (%)	30 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	1,99 \pm 0,36a		2,02 \pm 0,15a	
G2 (Normal + EC70)	2,09 \pm 0,32a	+ 5,02	2,12 \pm 0,36a	+ 4,95
G3 (Normal + EC150)	2,03 \pm 0,40a	+ 2,01	2,25 \pm 0,26a	+ 11,38
G4 (Normal + Atorvastatina)	1,97 \pm 0,38a	- 1,00	2,05 \pm 0,22a	+ 1,48
G5 (Doente)	1,82 \pm 0,31a	- 8,54	2,01 \pm 0,17a	- 0,49
G6 (Doente + EC70)	1,97 \pm 0,35a	+ 8,24	1,96 \pm 0,25a	- 2,48
G7 (Doente + EC150)	2,30 \pm 0,45a	+ 26,37	2,28 \pm 0,28a	+13,43
G8 (Doente + Atorvastatina)	2,02 \pm 0,32a	+ 10,98	2,09 \pm 0,21a	+ 3,98

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

Os resultados obtidos para creatinina não demonstraram alteração com a hipercolesterolemia induzida, mantendo o grupo doente sem tratamento (G5) a mesma concentração observada nos níveis de creatinina do grupo normal (G1) e ao longo do tempo.

Os tratamentos aplicados nas diferentes dosagens de 70 e 150mg do extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* tanto para os animais normais quanto para os animais com hipercolesterolemia induzida não apresentaram variações significativas para a creatinina sérica assim como no tratamento com atorvastatina. No entanto, discreto aumento na concentração de creatinina foi observado para o tratamento com extrato na dose de 150mg para animais doentes (G7) aos 15 e 30 dias com valores de 2,30 \pm 0,45 mg/dL e 2,28 \pm 0,28 mg/dL, respectivamente, assim como para o grupo (G3) com valor de 2,25mg/dL \pm 0,26 ao final do experimento.

A velocidade de excreção da creatinina é relativamente constante e sua produção não é influenciada pelo metabolismo protéico ou outros fatores externos, sendo a concentração da creatinina sérica uma referência para avaliar a função renal. Qualquer condição que reduz a velocidade de filtração glomerular promove uma menor excreção urinária de creatinina, com conseqüente aumento da mesma na concentração plasmática. Portanto, valores aumentados de creatinina indicam a

deterioração da função renal, sendo, diante disso, provável que extrato de *C. brasiliense*, juntamente com a dieta hipercolesterolêmica, esteja provocando alteração renal na dose de 150mg. Em hiperlipidemia induzida com alto teor de gordura e colesterol na dieta de ratos também não se observou aumento de creatinina plasmática. Proteinúria em ratos hiperlipidêmicos é aumentada significativamente em relação a normolipidêmicos correlacionando com progressiva doença tubulointersticial (Scheuer *et al.*, 2000).

A tabela 13 apresenta os resultados para proteínas totais dosadas nos diferentes tratamentos do estudo.

Tabela 13: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C.brasiliense* sobre as proteínas totais em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e hiperlipidêmicos

Grupos	15 dias	Variação (%)	30 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	4,58 \pm 1,71b		5,68 \pm 0,72a	
G2 (Normal + EC70)	5,32 \pm 0,87a	+ 16,15	5,09 \pm 0,37a	- 10,38
G3 (Normal + EC150)	6,03 \pm 0,60a*	+ 31,65	5,86 \pm 0,39a	+ 3,16
G4 (Normal + Atorvastatina)	4,94 \pm 1,07a	+ 7,86	5,21 \pm 0,60a	- 8,27
G5 (Doente)	5,54 \pm 1,07a	+ 20,96	5,84 \pm 0,37a	+ 2,81
G6 (Doente + EC70)	5,80 \pm 0,60a	+ 4,69	5,06 \pm 0,23a	- 13,35
G7 (Doente + EC150)	5,95 \pm 0,88a	+ 7,40	5,16 \pm 0,62a	- 11,64
G8 (Doente + Atorvastatina)	6,02 \pm 0,60a	+ 8,66	5,19 \pm 0,56a	- 11,13

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. As médias com (*) na coluna diferem do grupo normal (G1) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

Proteínas totais plasmáticas do grupo com hipercolesterolemia induzida (G5) não apresentou variação significativa em relação ao grupo normal sem tratamento (G1).

Para o tratamento com extrato de *C. brasiliense* nos animais normais, a dosagem de 150mg (G3) aplicada com 15 dias de tratamento indicou aumento significativo de 31,6% nos níveis de proteínas totais em relação ao grupo (G1), sendo esse aumento não observado com o tratamento do extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* na dosagem de 70mg (G2) e com atorvastatina (G4).

Nos animais com hipercolesterolemia induzida o tratamento com extrato *C. brasiliense* na dose de 70mg (G6) e 150mg (G7) de *C. brasiliense* aplicados nos

animais não alteraram a concentração de proteínas totais em relação aos animais doentes sem tratamento (G5) e ao longo do tempo, bem como o tratamento com atorvastatina (G8). Observou-se, no entanto, que houve reduções aos 30 dias nos níveis de proteínas totais para os grupos (G6), (G7) e (G8).

Níveis de proteína total plasmática não foram alterados por dieta rica em colesterol no experimento como visto em outro estudo em que ratos com dieta rica em gordura por dias não modificaram seus níveis de proteína total (Ghasi *et al.*, 2000). Nesse estudo, esses níveis denotaram possível efeito do extrato de *C. brasiliense* em alterar concentração de proteínas, já que assim como a albumina, estes valores aumentaram significativamente no tratamento com dose de 150mg do extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* (G3) em animais normais. Esse aumento plasmático de proteínas pode indicar aumento do catabolismo protéico por algum componente presente na planta só evidenciando resposta na maior dosagem de 150mg, conseqüentemente pode estar relacionado a algum efeito tóxico.

Os valores avaliados para albumina plasmática estão apresentados na tabela 14 para os diferentes tratamentos nos animais controles normais e para os animais com hipercolesterolemia induzida.

Tabela 14: Efeito do extrato hidroalcoólico das cascas de *C. brasiliense* sobre a albumina em mg/dL \pm desvio padrão em coelhos normais e hiperlipidêmicos

Grupos	15 dias	Variação (%)	30 dias	Variação (%)
G1 (Normal)	3,36 \pm 0,68b		3,84 \pm 0,44a	
G2 (Normal + EC70)	3,72 \pm 0,43a	+ 10,71	3,96 \pm 0,13a	+ 3,12
G3 (Normal + EC150)	3,99 \pm 0,23a*	+ 18,75	4,31 \pm 0,16a	+ 12,23
G4 (Normal + Atorvastatina)	3,69 \pm 0,61a	+ 9,82	3,95 \pm 0,45a	+ 2,86
G5 (Doente)	3,87 \pm 0,44a	+ 15,17	4,00 \pm 0,31a	+ 4,16
G6 (Doente + EC70)	4,00 \pm 0,31a	+ 3,35	3,66 \pm 0,39a	- 4,5
G7 (Doente + EC150)	3,61 \pm 0,40a	- 6,71	3,95 \pm 0,45a	- 8,5
G8 (Doente + Atorvastatina)	3,89 \pm 0,41a	+ 0,51	3,94 \pm 0,21a	- 1,5

As médias seguidas de uma mesma letra na linha não diferem entre si ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey. As médias com (*) na coluna diferem do grupo normal (G1) ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Dunnett.

Assim como no parâmetro proteínas totais, a proteína albumina plasmática não variou com a hipercolesterolemia induzida comparando os animais do grupo

doente (G5) com os animais do grupo normal (G1), e, em relação ao tempo de experimentação.

Aos 15 dias de tratamento o grupo normal tratado com extrato na dose de 150mg (G3) aumentou significativamente os níveis de albumina em (18,7%) em relação ao grupo normal (G1). Aos 30 dias, também houve aumento em (12,23%), porém esses valores não foram significativos.

Atorvastatina utilizada no tratamento dos animais normais (G4) acompanhou a tendência de aumento dos níveis de albumina plasmática visualizados com o tratamento dos extratos nas diferentes dosagens, porém, a variação também não foi significativa.

Os valores para albumina plasmática nos animais com hipercolesterolemia induzida tratados com extrato de *C. brasiliense* nas diferentes dosagens de 70 e 150mg, (G6) e (G7), respectivamente, não apresentaram variação significativa em relação ao grupo doente (G5) bem como no decorrer do período experimental. O tratamento com atorvastatina (G8), também não alterou os níveis de albumina plasmática avaliados ao longo do tempo e comparando-se com o grupo doente (G5).

Em animais com hipercolesterolemia não foi observado alteração nos níveis de albumina embora em outro estudo modelo de hipercolesterolemia induzida reduziu-se significativamente albumina em relação aos animais do grupo normal (Ghasi, Nwobodo e Ofili, 2000). Como o tratamento com extrato hidroalcoólico de *C. brasiliense* na dose de 150mg (G4) aumentou significativamente os níveis de albumina nos animais normais, isto pode indicar inicialmente um desequilíbrio para a utilização da albumina com o transporte plasmático de substâncias bioativas presentes no extrato de *C. brasiliense*.

Limitações do estudo: A descoberta encontrada deve ser considerada no contexto de certas limitações. Primeiramente, a necessidade de screening de doses para se determinar o possível efeito biológico na faixa de sensibilidade da estrutura afetada, sendo a intensidade do efeito diretamente proporcional à sua concentração, portanto, de acordo com Range *et al.* (2003) a regra principal é que a dose com a menor quantidade possível de medicamento deve ser utilizada para produzir o efeito desejado e sem se observarem reações adversas e efeitos colaterais. Em segundo lugar, a diferenciação de estudo progressivo, em que a indução de hipercolesterolemia se desenvolveu simultaneamente ao tratamento dos extratos

testados produzindo efeito terapêutico inibindo a absorção do colesterol da dieta ou sugerindo inibição da síntese endógena do colesterol. Assim, houve julgamento clínico com maior relevância para avaliar efeito preventivo, que propriamente quando o quadro de hipercolesterolemia já estivesse instalado. Em terceiro lugar, a dosagem de lipoproteínas e de HMG-Coa reductase poderiam responder a variações obtidas com o tratamento da planta no metabolismo bioquímico dos lipídeos.

4.4 Avaliação histológica em hiperlipidemia

Os animais normais sem tratamento apresentaram padrão histopatológico hepático compatível com normalidade (Figura 12A).

Animais com hipercolesterolemia induzida apresentaram esteatose hepática, acompanhado por processo inflamatório moderado (Figura 12B).

Extrato de *C. brasiliense* utilizado alterou o aspecto histológico hepático atuando de forma dependente nos animais normais (Figura 12C e E). Já o tratamento com extrato de *C. brasiliense*, nas duas dosagens, em animais doentes não melhorou o quadro histológico ao se comparar o fígado dos animais normais sem tratamento com os doentes (Figura 12D e F).

A estatina, utilizada como fármaco de mercado padrão para comparação dos tratamentos, promoveu o aparecimento de focos inflamatórios moderados e degeneração discreta no fígado e ainda melhorou o quadro de esteatose observada nos animais doentes sem tratamento (Figura 12G e H).

A análise histológica dos rins dos animais normais não demonstrou alterações, ao contrário dos animais com hipercolesterolemia induzida que apresentaram discretos focos inflamatórios glomerulares.

Quanto aos grupos normais tratados com extrato de *C. brasiliense* de ambas as doses, não foram observadas alterações renais. No entanto, nos animais doentes visualizaram-se congestão, focos inflamatórios discretos e degenerações tubulares denotando que a hipercolesterolemia pode ter sido a responsável por tais alterações.

No rim, a atovastatina ocasionou degeneração hidrópica tubular nos animais normais e presença de focos inflamatórios acentuados em relação aos doentes, além de apresentar degeneração tubular não visualizada nos animais dos grupos com hipercolesterolemia induzida sem tratamento.

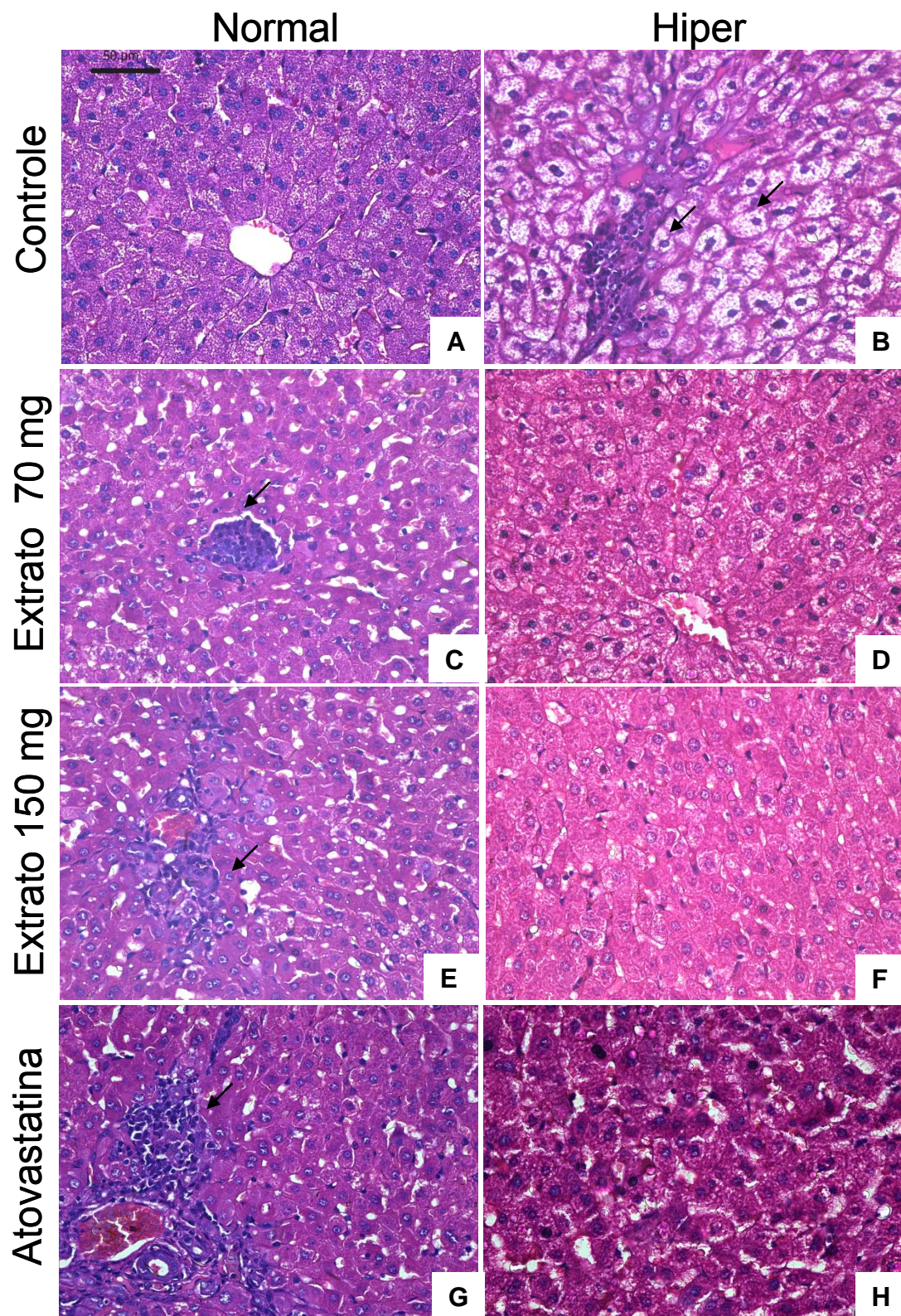


Figura 12: Fotomicrografias do fígado de animais normais e submetidos a dieta hiperlipidêmica. (A) Normal: aspecto histológico normal; (B) Hiper: esteatose acompanhada por inflamação moderada; (C) Normal tratado com extrato na dose de 70 mg: inflamação discreta; (D) Hiper tratado com extrato na dose de 70 mg: reversão da esteatose; (E) Normal tratado com extrato na dose de 150 mg: inflamação moderada; (F) Hiper tratado com extrato na dose de 150 mg: reversão da esteatose; (G) Normal tratado com estatina: inflamação moderada; (H) Hiper tratado com estatina: reversão da esteatose. Hematoxilina e Eosina. Barra= 50 micrômetros.

Os resultados obtidos demonstraram que a hiperlipidemia induzida em coelhos com acréscimo de 0,5% de colesterol por 30 dias na ração ocasionou degeneração como demonstrado em pacientes hipercolesterolêmicos, onde níveis elevados de lipídeos plasmáticos estão associados a esteatose (Tacikowski *et al.*, 2002).

Um estudo com planta do mesmo gênero *C. inophyllum* indicou que a folha dessa planta pode ser usada para diminuir os níveis de colesterol sanguíneo devido ao alto conteúdo de ácidos graxos não saturados (Ajayi *et al.*, 2008). No entanto, ratos alimentados com *C. inophyllum* apresentaram discreta congestão cortical renal, degeneração tubular multifocal renal e os hepatócitos mostraram-se intensamente congestionados com necrose hepática periportal, infiltração de neutrófilos e áreas de hiperplasia de células de Kupfer (Ajayi *et al.*, 2008).

Hiperlipidemia e hipercolesterolemia levam ao desenvolvimento de glomerulosclerose e danos tubulointersticiais renais, indicando que o estresse oxidativo é o fator patogênico principal na indução de nefropatia. Em coelhos hipercolesterolêmicos, o dobro da atividade de xantina oxidase no plasma foi observado por White *et al.*, (1996) aumentando a produção de superóxido nos anéis dos vasos aórticos.

Vários fatores metabólicos e hemodinâmicos têm contribuído para a progressão de doença renal em modelos animais e humanos. Hiperlipidemia especialmente hipercolesterolêmicos pode induzir ou exacerbar que lipídeos e lipoproteínas afetam não somente o glomérulo mas também os túbulos. Após hiperlipidemia induzida em ratos (Scheuer *et al.*, 2000) observou-se aumento de monócitos e macrófagos, em células mesangiais em segmentos glomerular, já que o experimento abrangia 150 dias. Provavelmente o período de experimento empregado nesse trabalho não tenha sido suficiente para o desenvolvimento de alterações morfológicas renais mais exuberantes.

CONCLUSÕES

5.1 Experimento em diabetes

Nesse estudo pode-se concluir que o extrato das plantas *C. brasiliense*, *C. perrottetii* e *R. paraensis*, associadas na dose de 100 mg, apresenta efeito hipoglicêmico em animais com diabetes induzida por aloxano e promovem melhoria das alterações histológicas hepáticas e renais.

Ocorreu aumento nos níveis de glicose nos coelhos normais tratados com extrato das plantas bem como com diabinese. Além disso, histologicamente o extrato utilizado demonstrou degeneração e processo inflamatório dose-dependente no fígado e rim indicando comprometimento devido a toxicidade dessas plantas.

O estudo não evidenciou alterações significativas nos parâmetros bioquímicos (colesterol, proteínas totais e albumina) assim como na atividade da enzima lipase nos diferentes tratamentos em animais normais e diabéticos.

A dosagem de triacilglicerol esteve associada à redução de glicose no grupo doente tratado com a dose de 100mg do extrato, reduzindo em 36,65% em 30 dias.

A hemoglobina glicosilada não foi um marcador eficiente para avaliar evolução do quadro clínico dos animais no período de tempo utilizado.

O funcionamento renal avaliado através da creatinina dosada no grupo tratado com a maior dose (100mg) do extrato das plantas em animais doentes demonstrou indícios de alteração na taxa de filtração glomerular, embora não significativamente, demonstrado pelo aumento de 27,32% nos níveis de creatinina.

Foram observadas alterações hepáticas e renais demonstradas pelo tratamento com as três plantas, tal qual é usada na medicina popular implicando em toxicidade dose-dependente.

5.2 Experimento em hiperlipidemia

O tratamento com o extrato de *C. brasiliense* diminuiu em 28,04% aos 30 dias o colesterol na dose de 150mg, sendo esse dado clinicamente relevante, embora não estatisticamente significativo.

O extrato hidroalcoólico da casca de *Calophyllum brasiliense* tem acentuada atividade hipotrigliceridemiante em modelo animal de hipercolesterolemia induzida sendo terapeuticamente mais efetivo na dose de 70 mg, não sendo esse efeito atribuído ao aumento da atividade da enzima lipase, que teve seus valores mantidos.

A dose do extrato da casca de *C. brasiliense* inibiu progressivamente o aumento da colesterolemia sendo, portanto, sugerido a continuidade do tratamento por maior tempo para que esses valores possam ser significativos.

A creatinina do grupo tratado com 150mg em animais doentes aumentou 26,32% e 13,43%, indicando possível dano renal confirmado pela análise histológica.

O tratamento na dose de 150mg de extrato das cascas de *C. brasiliense* para os animais do experimento apresentaram respostas para as proteínas dosadas com indícios de alteração do funcionamento renal e alteração no metabolismo das proteínas.

Lesões focais brandas e moderadas foram encontradas no fígado e rim de coelhos tratados com *Calophyllum brasiliense* sugerindo que a planta tem efeitos deletérios teciduais nas doses testadas, sendo estes dose-dependente.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abesundara KJM, Matsui T, Matsumoto K. α -Glucosidase inhibitory activity of some Sri Lanka plant extracts, one of which, *Cassia auriculata*, exerts a strong antihyperglycemic effect in rats comparable to the therapeutic drug acarbose. J Agric. Food Chem. 2004;52:2541-2545.
- Adachi T, Mori C, Skurai K, Shihara N, Tsuda K, Yasuda K. Morphological changes and increased sucrase and isomaltase activity in small intestines of insulin-deficient and type 2 diabetic rats. Endocr J. 2003;50(3):271-9.
- Ahmed N, Babaei-Jadidi R, Howell SK, Thornalley PJ, Beisswenger PJ. Glycated and oxidized protein degradation products are indicators of fasting and postprandial hyperglycemia in Diabetes. Diabetes Care 2005;28(10):2465-71.
- Ajayi IA, Oderinde RA, Taiwo VO, Agbedana EO. Short-term toxicological evaluation of *Terminalia cattappa*, *Pentaclethra macrophylla* and *C. inophyllum* seed oils in rats. Food Chemistry 2008;106:458-465.
- Al-Azzawie HF, Alhamdani MSS. Hypoglycemic and antioxidant effect of oleuropein in alloxan-diabetic rabbits. Life Sciences 2006;78:1371-1377.
- American Diabetes Association. Standards of medical care in Diabetes – 2006. Diabetes Care 2006;29(Suppl 1):54-42.
- American Diabetes Association. Diagnosis and classification of Diabetes mellitus. Diabetes Care 2005;28:S37-S42.
- American Diabetes Association. Diabetic nephropathy. Diabetes Care 2003;26:S94-S98.
- American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. Diabetes Care 2004;27(1):S15-S35.
- Arafa HMM. Curcumin attenuates diet-induced hypercholesterolemia in rats. Med Sci Monit 2005;11(7):BR228-234.
- Aragona M, Giannarelli R, Del Prato S. Intensive insulin treatment and postprandial control in Type 1 Diabetes. Acta Biomed. 2005;76:26-30.
- Arun C, Stoddart J, Mackin P, MacLeod J, New JP, Marshall SM. Significance of microalbuminuria in long-duration type 1 Diabetes. Diabetes Care 2003;26(7):2144-2149.
- Asano N, Yamauchi T, Kagamifuchi K, Shimizu N, Takahashi S, Takatsuka H, Ikeda

- K, Kizu H, Chuakul W, Kettawan A, Okamoto T. Iminosugar-producing Thai medicinal plants. *J. Nat. Prod.* 2005;68:1238-1242.
- Assmann G, Gotto AMJr. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation.* 2004;109:III8-14.
- Aybar M, Riera ANS, Grau A, Sánchez S. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2001;74:125-132.
- Balk E, Chung M, Lichtenstein A, Chew P, Kupelnick B, Lawrence A, DeVine D, Lau J. Effects of omega-3 fatty acids on cardiovascular risk factors and intermediate markers of cardiovascular disease. *Evid Rep Technol Assess (Summ).* 2004;(93):1-6.
- Ballantyne CM, Grundy SM, Oberman A, Kreisberg RA, Havel RJ, Frost PH, Haffner SM. Hyperlipidemia: diagnostic and therapeutic perspectives. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2000;85(6):2089-2112.
- Baynes JW, Thorpe SR. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. *Diabetes.* 1999;48(1):1-9
- Bell DSH. Do sulfonylurea drugs increase the risk of cardiac events? *CMJA* 2006;174(2):185-186.
- Berrougui H, Ettaib A, Herrera Gonzalez MD, Alvarez de Sotomayor M, Bennani-Kabchi N, Hmamouchi M. Hypolipidemic and hypocholesterolemic effect of argan oil (*Argania spinosa* L.) in Meriones shawi rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2003;89(1):15-18.
- Bhattacharya S, Dey D, Roy SS. Molecular mechanism of insulin resistance. *J Biosci* 2007;32:405-413.
- Blum A, Simsolo C, Hasin Y. 3-Hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A (HMG-CoA) reductase inhibitors (statins), atherosclerosis and coronary syndromes. *Atherosclerosis* 2004;175(1):1-5.
- Bolli GB, Di Marchi RD, Park GD, Pramming S, Koivisto VA. Insulin analogues and their potential in the management of Diabetes mellitus. *Diabetologia.* 1999;42(10):1151-67.
- Borba AM, Macedo M. Plantas medicinais usadas para a saúde bucal pela comunidade do bairro Santa Cruz, Chapada dos Guimarães, MT, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 2006;20(4):771-782.
- Bosco A, Lerário AC, Soriano D, Dos Santos RF, Massote P, Galvão D, Franco AC,

- Purisch S, Ferreira AR. Diabetic retinopathy Arq Bras Endocrinol Metabol. 2005;49(2):217-27.
- Bunn HF, Haney DN, Kamin S, Gabbay KH, Gallop PM. The biosynthesis of human hemoglobin A1c. Slow glycosylation of hemoglobin in vivo. J Clin Invest. 1976;57(6):1652-9.
- Burge MR, Hardy KJ, Schade DS. Short term fasting is a mechanism for the development of euglycemic ketoacidosis during periods of insulin deficiency. Journal of clinical Endocrinology and Metabolism 1993;76(5):1192-1198.
- Busik JV, Hootman SR, Greenidge CA, Henry DN. Glucose-specific regulation of aldose reductase in capan-1 human pancreatic duct cells In vitro. J Clin Invest. 1997;100(7):1685-92.
- Bwititi P, Musabayane CT, Nhachi CFB. Effects of *Opuntia megacantha* on blood glucose and kidney function in streptozotocin diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology 2000;69:247-252.
- Calisti L, Tognetti S. Measure of glycosylated hemoglobin. Acta Biomed 2005;76(3):59-62.
- Calixto JB. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). Brazilian Journal of Medical and Biological Research 2000;33:179-189.
- Can A, Akev N, Ozsoy N, Bolkent S, Arda BP, Yanardag R, Okyar A. Effect of *Aloe vera* leaf gel and pulp extracts on the liver in type-II diabetic rat model. Biol. Pharm. Bull. 2004;27(5):694-698.
- Chakrabarti R, Vikramadithyan RK, Mullanti R, Sharma VM, Jagadheshan H, Rao YN, Sairam P, Rajagopalan R. Antidiabetic and hypolipidemic activity of *Helicteres isora* in animal models. Journal of Ethnopharmacology 2002;81:343-349.
- Cheeke PR. Alimentación y nutrición del conejo. Editora Acribia, S.A. Zaragoza (España), 1995, 429 p.
- Cheng AY, Fantus IG. Oral antihyperglycemic therapy for type 2 Diabetes mellitus. CMAJ 2005;172(2):213-26.
- Cline GW, Petersen KF, Krssak M, Shen J, Hundal RS, Trajanoski Z, Inzucchi S, Dresner A, Rothman DL, Shulman GI. Impaired glucose transport as a cause of decreased insulin-stimulated muscle glycogen synthesis in type 2 Diabetes. N

Engl J M 1999;341:240-6.

Contreras C, Román R, Pérez C, Alarcón F, Zavala M, Pérez S. Hypoglycemic activity of a new carbohydrate isolated from the roots of *Psacalium peltatum* Chem Puarm. Bull 2005;53(11):1408-1410.

Cottiglia F, Dhanapal B, Sticher O, Heilmann J. New chromanone acids with antibacterial activity from *Calophyllum brasiliense*. J Nat Prod. 2004;67(4):537-41.

Criqui MH, Golomb BA. Epidemiologic aspects of lipid abnormalities. Am J Med. 1998;105(1A):48S-57S.

Davis HR, Veltri EP. Zetia: inhibition of Niemann-Pick C1 Like 1 (NPC1L1) to reduce intestinal cholesterol absorption and treat hyperlipidemia. J Atheroscler Thromb. 2007;14(3):99-108.

DeBlas JC. Alimentación del conejo. 1 ed. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, 1984, 215p.

Dixon JL, Stoops JD, Parker JL, Laughlin MH, Weisman GA, Sturek WM. Dyslipidemia and vascular dysfunction in diabetic pigs fed an atherogenic diet. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1999;19:2981-2992.

Emendörfer F, Emendörfer F, Bellato F, Noldin VF, Niero R, Cechinel-Filho V, Cardozo AM. Evaluation of the relaxant action of some Brazilian medicinal plants in isolated guinea-pig ileum and rat duodenum. J Pharm Pharm Sci. 2005;8(1):63-8.

Ferreira SH, Barata LES, Salles SLM, Queiroz SRR, Corazza R, Farias RC. Medicamentos a partir de plantas medicinais no Brasil. 1998 Livro publicado pela Academia Brasileira de Ciências. 131p.

Ferreira WM. A coprofagia em coelhos. Cadernos técnicos da Escola de Veterinária da UFMG, Belo Horizonte, v.2, p. 41-54, 1987.

Fernandes NP, Lagishetty CV, Panda VS, Naik SR. An experimental evaluation of the antidiabetic and antilipidemic properties of a standardized *Momordica charantia* fruit extract. BMC Complement Altern Med. 2007;24;7:29.

Fong DS, Aiello LP, Ferris FL 3rd, Klein R. Diabetic retinopathy. Diabetes Care. 2004;27(10):2540-53.

Forreto E. Uma nuerva espécie mexicana de *Rourea* (Connaraceae). *Caldasia* 2007;29(1):19-21.

Fung MA, Frohlich JJ. Common problems in the management of hypertriglyceridemia. CMAJ. 2002;167(11):1261-6.

- Ganji SH, Tavintharan S, Zhu D, Xing Y, Kamanna VS, Kashyap ML. Niacin noncompetitively inhibits DGAT₂ but not DGAT₁ activity in HepG2 cells. *Journal of Lipid Research* 2004;45:1835-1845.
- Gastaldelli A, Miyazaki Y, Mahankali A, Berria R, Pettiti M, Buzzigoli E, Ferrannini E, DeFronzo RA. The effect of pioglitazone on the liver. *Diabetes Care* 2006;29(10):2275-281.
- Ghasi S, Nwobodo E, Ofili JO. Hypocholesterolemic effects of crude extract of leaf of *Moringa oleifera* Lam in high-fat diet fed wistar rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2000;69(1):21-25.
- Gomes APF, Carmo MGT. Dislipidemia pós-prandial e doença cardiovascular. *Rev Bras Nutr Clin* 2006;21(1):60-71.
- Greevcka L, Polenakovic. Early histopathological changes in diabetic nephropathy. *Neohrol Dial Transplant* 2001;16(Suppl 6):88-89.
- Gribble FM, Davis TM, Higham CE, Clark A, Ashcroft FM. The antimalarial agent mefloquine inhibits ATP-sensitive K-channels. *Br J Pharmacol.* 2000;131(4):756-60.
- Gross ML, Ritz E, Schoof A, Adamczak M, Koch A, Tulp O, Parkman A, El-Shakmak AE, Szabo A E Amann K. Comparison of renal morphology in the streptozotocin and the SRR/N-cp models of Diabetes. *Laboratory investigation* 2004;84:452-464.
- Grover JK, Vats V, Rathi SS, Dawar R. Traditional Indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2001;76:233-238.
- Grover JK, Yadav S, Vats Vikrant. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Brassica juncea* diet and their effect on hepatic glycogen content and the key enzymes of carbohydrate metabolism. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2002;241:95-101.
- Grover JK, Yadav SP, Vats V. Effect of feeding *Murraya koeingii* and *Brassica juncea* diet kidney functions and glucose levels in streptozotocin diabetic mice. *Journal of Ethnopharmacology* 2003;85:1-5.
- Guimarães PR, Galvão AMP, Batista CM, Azevedo GS, Oliveira RD, Lamounier RP, Freire N, Barros AMD, Sakurai E, Oliveira JP, Vieira EC, Alvarez-Leite JI. Eggplant (*Solanum melongena*) infusion has a modest and transitory effect on

- hypercholesterolemic subjects. *Braz J Med Biol Res* 2000;33(9):1027-1036.
- Guyton & Hall (2006). *Tratado de Fisiologia Médica – 11ª edição*, Elsevier (1ª ed. Brasileira).
- Gylling H, Tuominen JA, Koivisto VA, Miettinen TA. Cholesterol metabolism in type 1 Diabetes. *Diabetes* 2004;53(9):2217-22.
- Haber EP, Curi R, Carvalho CRO, Carpinelli AR. Secreção da insulina: Efeito autócrino da insulina e modulação por ácidos graxos. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2001;45(3):219-227
- He Z-D, Ma C-Y, Tan GT, Sydara K, Tamez P, Sounhoong B, Bouamanivong S, Soejarto DD, Pezzuto JM, Fong HHS, Zhang H-J. Rourinoside and Rouremin, antimalarial constituents from *Rourea minor* *Phytochemistry* 2006;67:1378-1384.
- Hodgson B MI, Ossa A JC, Velas F N, Urrejola N P, Arteaga L I A. Clinical picture at the onset of type 1 Diabetes mellitus in children. *Rev Med Chil* 2006;134(12):1535-40.
- Hudgins LC. Effect of high-carbohydrate feeding on triglyceride and saturated fatty acid synthesis. *P.S.E.B.M.* 2000;225:178-183.
- Huerta-Reyes M, Basualdo MC, Abe F, Jimenez-Estrada M, Soler C, Reyes-Chilpa R. HIV-1 inhibitory compounds from *Calophyllum brasiliense* leaves. *Biol Pharm Bull.* 2004;27(9):1471-5.
- Ikwaki K, Tohyama J-I, Nakata Y, Wakikawa T, Kido T, Mochizuki S. Fenofibrate effectively reduces remnants, and small dense LDL, and increases HDL particle number in hypertriglyceridemic men – A nuclear magnetic resonance study. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2004;11:278-285.
- Ikonen E. Mechanisms for cellular cholesterol transport: defects and human disease. *Physiol Rev* 2006;86(4):1237-1261.
- Isomoto S, Kondo C, Yamada M, Matsumoto s, Higashiguchi O, Horio Y, Matsuzawa Y, Kurachi Y. A novel sulfonyleurea receptor forms with BIR (Kir6.2) a smooth muscle type ATP-sensitive K⁺ channel. *J Biol Chem.* 1996;271(40):24321-4
- Ito C, Itoigawa M, Mishina Y, Filho VC, Mukainaka T, Nishino H, Furukawa H.

- Chemical constituents of *Calophyllum brasiliensis*: structure elucidation of seven new xanthenes and their cancer chemopreventive activity. *J Nat Prod.* 2002;65(3):267-72.
- Ito C, Itoigawa M, Mishina Y, Filho VC, Enjo F, Tokuda H, Nishino H, Furukawa H. Chemical constituents of *Calophyllum brasiliense*. 2. Structure of three new coumarins and cancer chemopreventive activity of 4-substituted coumarins. *J Nat Prod.* 2003;66(3):368-71.
- Jayakar B, Sresh B. Antihyperglycemic and hypoglycemic effect of *Aporosa lindleyana* in normal and alloxan induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2003;84:247-249.
- Jensen J, Jebens E, Brennesvik EO, Ruzzin J, Soos MA, Engebretsen EM, O'Rahilly S, Whitehead JP. Muscle glycogen inharmoniously regulates glycogen synthase activity, glucose uptake, and proximal insulin signaling. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2006;290(1):E154-E162.
- Jiang G, Zhang BB. Glucagon and regulation of glucose metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003;284:E671-E678.
- Jiménez G, Hasegawa M, Rodriguez M, Estrada O, Méndez J, Castillo A, Gonzalez-Mujica F, Motta N, Vásquez J, Romero-Veddhione E. Biological screening of plants of the Venezuelan amazons. *Journal of Ethnopharmacology* 2001;77:77-83.
- Jin DQ, Li G, Kim JS, Yong CS, Kim JA, Huh K. Preventive effects of *Laminaria japonica* aqueous extract on the oxidative stress and xanthine oxidase activity in streptozotocin induced diabetic rat liver. *Biol. Pharm. Bull.* 2004;27(7):1037-1040.
- Johnston PS, Lebovitz HE, Coniff RF, Simonson DC, Raskin P, Munera CL. Advantages of α -glucosidase inhibition as monotherapy in elderly type 2 diabetic patients. *J Clin Endocrinol Metab* 1998;83:1515-1522.
- Jung CH, Zhou S, Ding GX, Kim JH, Hong MH, Shin YC, Kim GJ, Ko SG. Antihyperglycemic activity of herb extracts on streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 2006;70(10):2556-2559.
- Kamalakkannan N, Prince PSM. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. *Pharmacology & Toxicology* 2006;98:97-103.
- Kang KA, Chae S, Koh YS, Kim JS, Lee JH, You HJ, Hyun JW. Protective effect of *Puerariae Radix* on oxidative stress induced by hydrogen peroxide and

- streptozotocin. Biol. Pharm. Bull. 2005;28(7):1154-1160.
- Kasiviswanath R, Ramesh A, Kumar KE. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Gmelina asiatica* Linn. in normal and in alloxan induced diabetic rats. Bio. Pharm. Bull. 2005;28(4):729-32.
- Kelly MA, Rayner ML, Mijovic CH, Barnett AH. Molecular aspects of type 1 Diabetes. J Clin Pathol 2003;56:1-10.
- Kershaw EE, Hamm JK, Verhagen LA, Peroni O, Katic M, Flier JS. Adipose triglyceride lipase: function, regulation by insulin, and comparison with adiponutrin. Diabetes 2006;55:148-157.
- Kleeman R, Kooistra T. HMG-Coa reductase inhibitors: effects on chronic subacute inflammation and onset of atherosclerosis induced by dietary cholesterol. Curr Drug Targets Cardiovasc Haematol Disord. 2005;5(6):441-53.
- Kimura S, Ito C, Jyoko N, Segawa H, Kuroda J, Okada M, Adachi S, Nakahata T, Yuasa T, Filho VC, Furukawa H, Maekawa. Inhibition of leukemic cell growth by a novel anti-cancer drug (GUT-70) from calophyllum brasiliense that acts by induction of apoptosis. Int J Cancer. 2005;113(1):158-65.
- Kreisber RA, Oberman A. Medical management of hyperlipidemia/dyslipidemia. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism 2003;88(6):2445-2461.
- Kudzma DJ. Effects of thiazolidinediones for early treatment of type 2 Diabetes mellitus. The Am J Manag Care 2002;8:S472-482.
- Kurian GA, Philip S, Varguese T. Effect of aqueous extract of the *Desmodium gangeticum* DC root in the severity of myocardial infarction. Journal of Ethnopharmacology 2005;97(3):457-461.
- Kurihara H, Fukami H, Kusumoto A, Toyoda Y, Shibata H, Matsui Y, Asami S, Tanaka T. Hypoglycemic action of *Cyclocarya paliurus* (Batal.) Iljinskaja in normal and diabetic mice. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2003;67(4):877-880.
- Kuritzky L. Addition of basal insulin to oral and diabetic agent direct approach to type 2. Diabetes therapy. Med Gen Med 2006;8(4):34.
- Laakson M. Hyperglycemia and cardiovascular disease in type 2 Diabetes. Diabetes.

1999;48(5):937-42.

Laar VFA, Lucassen PL, Akkermans RP, Lisdonk VEH, Rutten GE, Weel VC. Alpha-glucosidase inhibitors for patients with type 2 Diabetes: results from a Cochrane systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care* 2005;28(1):154-63

Latha M, Pari L. Effect of an aqueous extract of *Scoparia dulcis* on blood glucose, plasm insulin and some polyol pathway enzymes in experimental rat Diabetes. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research* 2004;37:577-586.

Lebas F. Alimentación de los conejos. In: Alimentación de los animales monogástricos. 1 ed. Madrid, Ediciones Mundi-Prensa, p. 95-101, 1985.

Lee RT, Libby P. The unstable atheroma. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17(10):1859-67.

Lehninger A, Nelson D, Cox M. *Princípios de Bioquímica*; Editora Sarvier; 2007; 4a. Edição.

Lewis GF, Rade DJ. New insights into the regulation of HDL metabolism and reverse cholesterol transport. *Circulation Research* 2005;96:1121-1232.

Li W, Dai YH, Yu YH, Li L, Wu CM, Luan WW, Meng WW, Zhang XS, Deng YL. Antihyperglycemic effect of *Cephalotaxus sinensis* leaves and GLUT-4 translocation facilitating activity of its flavonoid constituents. *Biol. Pharm. Bull.* 2007;30(6):1123-29.

Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation* 2002;105(9):1135-43.

Liu E, Eisenbarth GS. Type 1A Diabetes mellitus-associated autoimmunity. *Endocrinol Metab clin north Am* 2002; 31;391-410.

Liu GX, Ou Dm, Li LX, Chen LX, Huang HL, Liao DF, Tang CS. Probucol inhibits oxidized-low density lipoprotein-induced adhesion of monocytes to endothelial cells in vitro. *Acta Pharmacol Sin.* 2002;23(6):516-22.

Liu J, Sun H, Duan W, Mu D, Zhang L. Maslinic acid reduces blood glucose in KK-Ay

- mice. Biol Pharm Bull. 2007;30(11):2075-8.
- Lopes RD, Neves LB, D'Almeida V, Souza GM, Gabriel Jr A. Total plasmatic homocysteine and von Willebrand factor in experimental *Diabetes mellitus*. Arq Bras Cardiol 2007;88(4):373-377.
- Luna B, Feinglos MN. Oral agents in the management of type 2 Diabetes mellitus. America Am Fam Physician. 2001;63(9):1747-56.
- Mai TT, Chuyen NV. Anti-hyperglycemic activity of an aqueous extract from flower buds of *Cleistocalyx operculatus* (Roxb.) Merr and Perry. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2007;71(1):69-76.
- Maiti R, Das UK, Ghosh D. Attenuation of hyperglycemia and Hyperlipidemia in streptozotocin induced diabetic rats by aqueous extract of seed of *Tamarindus indica*. Biol Pharm. Bull 2005;28(7):1172-1176.
- Marcondes JAM. Diabete melito: Fisiopatologia e tratamento. Rev Fac Ciênc Méd. Sorocaba 2003;5(1):18-26.
- Maron DJ, Lu GP, Cai NS, Wu ZG, Li YH, Chen H, Zhu JQ, Jin XJ, Wouters BC, Zhao J. Cholesterol-lowering effect of a theaflavin-enriched green tea extract. Arch Intern Med 2003;163:1448-53.
- Maroo J, Vasu VT, Aalinkeel R, Gupta S. Glucose lowering effect of aqueous extract of *Encicostemma littorale* Blume in Diabetes: a possible mechanism of action. Journal of Ethnopharmacology 2002;81:317-320.
- McLetchie NG. Alloxan Diabetes: a discovery, albeit a minor one. J R Coll Physicians Edinb 2002;32(2):134-42.
- Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência farmacêutica. Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos. Brasília: 2006. Editora MS 60p.
- Ministério da Saúde. Hipertensão Arterial Sistêmica (HAS) e Diabetes Mellitus (DM): Protocolo/ Departamento de Atenção Básica. Área Técnica de Diabetes e Hipertensão Arterial, 2001.
- Miura T, Nosaka K, Ishii H, Ishida T. Antidiabetic effect of Nitobegiku, the herb

- Tithonia diversifolia*, in KK-Ay diabetic mice. Biol. Pharm. Bull. 2005;28(11):2152-2154.
- Montagut JE. Estudio cuantitativo de la permeabilidad de la barrera hematoacuosa ocular como índice de actividad de la retinopatía diabética proliferativa. Tese de doutorado. Barcelona 2003. 183p.
- Morales JF. Una nueva especie de *Connarus* (Connaraceae) para Costa Rica. *Rodriguésia* 2007;58(1):45-48.
- Mudaliar S, Henry RR. New oral therapies for type 2 Diabetes mellitus: The glitazones or insulin sensitizers. *Annu Rev Med.* 2001;52:239-57.
- Mukai E, Ishida H, Kato S, Tsuura Y, Fujimoto S, Takahashi AI, Horie M, Tsuda K, Seino Y. Metabolic inhibition impairs ATP-sensitive K⁺ channel block by sulfonylurea in pancreatic β -cells. *Am J Physiol* 1998;274:E38-E44.
- Murali B, Upadhyaya UM, Goyal RK. Effect of chronic treatment with *Enicostemma littorale* in non-insulin-dependent diabetic (NIDDM) rats. *J Ethnopharmacol.* 2002;81(2):199-204. Erratum in: *J Ethnopharmacol.* 2003;85(2-3):299.
- Murphy EJ, Dayern TJ, Shakil AO, Shick L, Masharani U, Chow H, Freise C, Lee WM, Bass NM. Troglitazone-induced fulminant hepatic failure. Acute Liver Failure Study Group. *Dig Dis Sci.* 2000;45(3):549-53.
- Murugest K, Yeligar V, Dash DK, Sengupta P, Maiti BC, Maity TK. Antidiabetic, antioxidant and hyperlipidemic status of *Heliotropium zeylanicum* extract on streptozotocin induced Diabetes in rats. *Biol. Pharm. Bull.* 2006;29(11):2202-2205.
- Na M, Kim KA, Oh H, Kim BY, Oh WK, Ahn JS. Protein tyrosine phosphatase 1B inhibitory activity of amentoflavone and its cellular effect on tyrosine phosphorylation of insulin receptors. *Biol. Pharm. Bull* 2007;30(2):379-381.
- Nagarajan NS, Murugesh N, Kumaresan PT, Radha N, Murali A. Antidiabetic and antihyperlipemic effects of *Cleome felina*. *Fitoterapia* 2005;76:310-315.
- Nakashima Y. Treatment of hyperlipidemia. *Internal Medicine* 2000;39(10):765-772.
- Nammi S, Boini MK, Lodagala SD, Behara RBS. The juice of fresh leaves of *Catharanthus roseus* Linn. reduces blood glucose in normal and alloxan diabetic

- rabbits. BMC Complement Altern Med. 2003;3:4.
- Nascimento NR, Lessa LM, Kerntopf MR, Sousa CM, Alves RS, Queiroz MG, Price J, Heimark DB, Lerner J, Du X, Brownlee M, Gow A, Davis C, Fonteles MC. Inositols prevent and reverse endothelial dysfunction in diabetic rat and rabbit vasculature metabolically and by scavenging superoxide. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006;103(1):218-23.
- National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final report. Circulation 2002;106(25):3143-421.
- Nisbet JC, Sturtevant JM, Prins JB. Metformin and serious adverse effects. Med J Aust. 2004;180(2):53-4.
- Nogueira RA. Coprofagia em coelhos. Informe Agropecuário, v. 159, p. 14-15, 1989.
- Noldin ,VF, Isaias DB, Cechinel Filho V. Gênero *Calophyllum*: importância química e farmacológica. Quim Nova 2006;29(3):549-554.
- Nunes GLS. Avaliação da função renal em pacientes hipertensos. Rev Bras Hipertens 2007;14(3):162-166.
- Oh RC, Lanier JB. Management of hypertriglyceridemia. Am Fam Physician. 2007;75(9):1365-71.
- Ojewole JA. Hypoglycaemic and hypotensive effects of *Harpephyllum caffrum* Bernh ex CF Krauss (*Anacardiaceae*) stem –bark aqueous extract in rats. Cardiovascular Topics 2006;17(2):67-72.
- Pejic RN, Lee DT. Hypertriglyceridemia. J Am Board Fam Med. 2006;19(3):310-316.
- Perfetti R, Ahmad A. Novel sulfonylurea and non-sulfonylurea drugs to promote the secretion of insulin. Trends Endocrinol Metab 2000;11(6):218-23.
- Proks P, Ashcroft FM. Phentolamine block of KATP channels is mediated by Kir6.2. Proc Natl Acad Sci U S A. 1997;94(21):11716-20.
- Proks P, Reimann F, Green N, Gribble F, Ashcroft F. Sulfonylurea stimulation of insulin secretion. Diabetes 2002;51:S368-S376.

Rajasekaram S, Sivagnanam K, Subramanian S. Antioxidant effect of *Aloe vera* gel extract in streptozotocin induced Diabetes in rats. *Pharmacological Reports* 2005;57:90-96.

Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Farmacologia*. Editora Elsevier; 2003 5^a Ed.

Rao BK, Sudarshan PR, Rajasekhar MD, Nagaraju N, Rao CA. Antidiabetic activity of *Terminalia pallida* fruit in alloxan induced diabetic rats. *J of Ethnopharmacology* 2003;85:169-172.

Raskin P, Clements RS Jr. The use of human insulin derived from baker's yeast by recombinant DNA technology. *Clin Ther.* 1991;13(5):569-78.

Rates SMK. Plants as source of drugs. *Toxicon* 2001;39:603-613.

Ravi K, Ramachandran B, Subramanian S. Protective effect of *Eugenia jambolana* seed Kernel on tissue antioxidants in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biol Pharm Bull* 2004;27(8):1212-1217.

Reihner E, Angelin Bo, Rudling M, Ewerth S, Björkhem I, Einarsson K. Regulation of hepatic cholesterol metabolism in humans: stimulatory effects of cholestyramine on HMG-CoA reductase activity and low density lipoprotein receptor expression in gallstone patients. *Journal of Lipid Research* 1990;31(12):2219-26.

Rekhter MD, Hicks GW, Brammer DW, Hallak H, Kindt E, Chen J, Rosebury WS, Anderson MK, Kuipers PJ, Ryan MJ. Hypercholesterolemia causes mechanical weakening of rabbit atheroma. *Cir Res* 2000;86:101-108.

Reyes-Chilpa R, Baggio CH, Alavez-Solano D, Estrada-Muniz E, Kauffman FC, Sancez RI, Mesia-Vela S. Inhibition of gastric H⁺,K⁺-ATPase activity by flavonoids, coumarins and xanthenes isolated from Mexican medicinal plants. *J Ethnopharmacol.* 2006;105(1-2):167-72.

Reyes-Chilpa R, Estrada-Muniz E, Apan TR, Amekraz B, Aumelas A, Jankowski CK, Vázquez-Torres M. Cytotoxic effects of mammea type coumarins from *Calophyllum brasiliense*. *Life Sci.* 2004;75(13):1635-47.

Rohlfing CL, Wiedmeyer H-M, Little RR, England JD, Tennill A, Goldstein DE. Defining the relationship between plasma glucose and Hemoglobina glicosilada. *Diabetes Care* 2002;25(2):275-278.

- Ross G. Gestational Diabetes. *Aust Fam Physician* 2006;35(6):392-6.
- Rutishauser J. The role of statins in clinical medicine--LDL--cholesterol lowering and beyond. *Swiss Med Wkly.* 2006;136(3-4):41-9.
- Sabu MC, Kuttan R. antidiabetic activity of medicinal plants and its relationship with their antioxidant property. *Journal of Ethnopharmacology* 2002;81:155-160.
- Sacks DB, Bruns DE, Goldstein DE, Maclaren NK, McDonald JM, Parrott M. Guidelines and recommendations for laboratory analysis in the diagnosis and management of Diabetes mellitus. *Clinical Chemistry* 2002;48(3):436-472.
- Santos AC, Barros H. Impact of metabolic syndrome definition on prevalence estimates: a study in a Portuguese community. *Diab Vasc Dis Res.* 2007;4(4):320-7.
- Santos JE, Guimarães AC, Diament J. Consenso Brasileiro Sobre Dislipidemias Detecção, Avaliação e Tratamento. *Arq Bras Endocrinol Metab* 1999;43(4):287-305.
- Santos RD. Pharmacologia of nicin or nicotinic acid. *Arq Bras Cardiol* 2005;85(5):17-19.
- Saravana S, Srikumar R, Manilandan S, Jeya Parthasarathy N, Sheela Devi R. Hypolipidemic effect of triphala in experimentally hypercholesterolemic rats. *The Pharmaceutical Society of Japan* 2007;127(2):385-388.
- Sartori NT, Canepelle D, de Sousa PTJr, Martins DT. Gastroprotective effect from *Calophyllum brasiliense* Camb. bark on experimental gastric lesions in rats and mice. *J Ethnopharmacol.* 1999;67(2):149-56.
- Sato KL, Migliaccio V, Carmo JM, Oliveti MCDDBB, Ferreira RS, Fazan VPS. Diabetes como modelo de neuropatia autonômica. *Medicina Ribeirão Preto* 2006;39(1):28-38.
- Scheen AJ. Diabetes mellitus in the elderly: insulin resistance and/or impaired insulin secretion? *Diabetes Metab* 2005;31(2):2498-502.

Scheuer H, Gwinner W, Hohbach J, Gröne EF, Brandes RP, Malle E, Olbricht CJ, Walli AK, Gröne H-J. Oxidant stress in hyperlipidemia-induced renal damage. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;278:F63-F74.

Schmid HA. Impacto cardiovascular da neuropatia autonômica do *Diabetes mellitus*. *Arq Bras Endocrinol Metab* 2007;51:232-243.

Seidl PR. Pharmaceuticals from natural products: current trends. *An Acad Bras Cienc* 2002;74(1):145-150.

Shan JJ, Yang M, Ren JW. Anti-diabetic and hypolipidemic effects of aqueous-extract from the flower of *Inula japonica* in alloxan-induced diabetic mice. *Biol. Pharm. Bull.* 2006;29(3):455-459.

Sharma SB, Nasir A, Prabhu KM, Murthy PS, Dev H. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan diabetic rabbits. *Journal of Ethnopharmacology* 2003;85:201-206.

Shimabukuro M, Zhou YT, Levi M, Unger RH. Fatty acid-induced beta cell apoptosis: a link between obesity and Diabetes. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998;95(5):2498-502.

Shimizu K, Ozaki M, Iino A, Nakajyo S, Urakawa N, Atsuchi M. Structure-activity relationships of triterpenoid derivatives extracted from *Gymnema inodorum* leaves on glucose absorption. *Jpn J Pharmacol.* 2001;86(2):223-9.

Shirwaikar A, Rajendran K, Kumar CD, BodLa R. Antidiabetic activity of aqueous leaf extract of *Annona squamosa* in streptozotocin-nicotinamide type 2 diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology* 2004;91:171-175.

Simsolo RB, Ong JM, Saffari B, Kern PA. Effect of improved Diabetes control on the expression of lipoprotein lipase in human adipose tissue. *Journal of Lipid Research* 1992;33:89-95.

Siqueira AF, Abdalla DS, Ferreira SR. LDL: from metabolic syndrome to instability of the atherosclerotic plaque. *Arq Bras Endocrinol Metabol.* 2006;50(2):334-43.

Siqueira AF, de Almeida-Pititto B, Ferreira SR. Cardiovascular disease in Diabetes mellitus: classical and non-classical risk factors. *Arq Bras Endocrinol Metabol.*

2007;51(2):257-67.

Skyler JS. Diabetes mellitus: pathogenesis and treatment strategies. *J Med. Chem.* 2004;47:4113-4117.

Smits P, Tack CJ. Metformin: evidence-based versus rational pharmacotherapy. *Neth J Med* 2002;60(6):228-30.

Staels B, Dallongeville J, Auwerx J, Shoonjans K, Leitersdorf E, Fruchart J. Mechanism of action of fibrates on lipid and lipoprotein metabolism. *Circulation* 1998;98:2088-2093.

Stancu C, Sima A. Statins: mechanism of action and effects. *J Cell Mol Med.* 2001;5(4):378-87.

Steffes MW, Basgen J. Evaluation of glomerular lesions in Diabetes mellitus. *Kidney International* 2000;58:2592-2593.

Stein EA, Myers GL. National Cholesterol Education Program recommendations for triglyceride measurement: executive summary. The National Cholesterol Education Program Working Group on Lipoprotein Measurement. *Clin Chem.* 1995;41(10):1421-6.

Steinberg D. Hypercholesterolemia and inflammation in atherogenesis: two sides of the same coin. *Md Nutr Food Res* 2005;49:995-998.

Stein EA, Myers GL. Lipídeos, apolipoproteínas e lipoproteínas. In: Burtis, Carl A.; Ashwood, Edward R. *Tietz: fundamentos de química clínica. 4. ed. Rio de Janeiro: ABDR, 1998. p. 364-388*

Stitt AW, Curtis TM. Advanced glycation and retinal pathology during diabetes. *Pharmacol Rep.* 2005;57 Suppl:156-68.

Stocker R, Keaney JF Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev.* 2004;84(4):1381-478.

Stratton IM, Adler AI, Neil HAW, Matthews DR, Manley SE, Cull CA, Hadden D, Turner RC, Holman RR. Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 Diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BM* 2000;321:405412.

Sun Y-P, Lu NC, Parmley WW, Hollenbeck CB. Effects of cholesterol diets on vascular function and atherogenesis in rabbits. *P S E B M* 2000;224:166-171.

Sunaga Y, Inagaki N, Gono T, Yamada Y, Ishida H, Seino Y, Seino S. Troglitazone but not pioglitazone affects ATPsensitive K(+) channel activity. *Eur J Pharmacol.* 1999;17;381(1):71-6.

Suryanarayana P, Kumar PA, Saraswat M, Petrash JM, Reddy GP. Inhibition of aldose reductase by tannoid principles of *Emblica officinalis*: Implications for the prevention of sugar cataract. *Molecular Vision* 2004;10:148-54.

Suzuki R, Okada Y, Okuyama T. The favorable effect of style of *Zea mays* L. on streptozotocin induced diabetic nephropathy. *Biol. Pharm. Bull.* 2005;28(5):919-920.

Szkudelski T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas. *Physiol Res* 2001;50:536-46.

Tacikowski T, Dzieniszewski J, Nowicka G, Ciok J. Comparative analysis of lipid profiles assessed by ultracentrifugation in patients with various hyperlipoproteinaemia types in correlation with hepatic steatosis. *Med Sci Monit* 2002;8(10):CR697-701.

Taskinen MR. Diabetic dislipidaemia: from basic research to clinical practice. *Diabetologia* 2003;46:733-749.

Tavangar K, Murata Y, Pedersen ME, Goers JF, Hoffman AR, Kraemer FB. Regulation of lipoprotein lipase in the diabetic rat. *J Clin Invest* 1992;90:1672-1678.

Toledo FGS, Sniderman AD, Kelley DE. Influence of hepatic steatosis (fatty liver) on severity and composition of dyslipidemia in type 2 Diabetes. *Diabetes Care* 2006;29(8):1845-50.

Tripathi BK, Srivastava AK. Diabetes mellitus: Complications and therapeutics. *Med Sci Monit* 2006;12(7):RA130-147.

Tunaru S, Kero J, Schaub A, Wufka C, Blaukat A, Pfeffer K, Offermanns S. PUMA-G and HM74 are receptors for nicotinic acid and mediate its anti-lipolytic effect. *Nat*

- Med. 2003;9(3):352-5.
- Ulicná O, Vancová O, Bozek P, Carsky J, Sebeková K, Boor P, Nakano M, Greksák M. Rooibos tea (*Aspalathus linearis*) partially prevents oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. *Physiol. Res.* 2006;55:157-164.
- Veiga Jr VF, Pinto AC. Plantas medicinais: cura segura? *Quim Nova* 2005;28(3)519-528.
- Veldman BA, Vervoort G. Pathogenesis of renal microvascular complications in diabetes mellitus. *Neth J Med.* 2002;60(10):390-6.
- Vetrichelvan T, Jegadeesan M, Devi BAU. Anti-diabetic activity of alcoholic extract of *Celosia argentea* Linn. seeds in rats. *Biol. Pharm. Bull* 2002;25(4):526-528.
- Viana GS, Medeiros AC, Lacerda AM, Leal LK, Vale TG, Matos FJ. Hypoglycemic and anti-lipemic effects of the aqueous extract from *Cissus sicyoides*. *BMC Pharmacol.* 2004;4:9.
- Vijayakumar MV, Singh S, Chhipa RR, Bhat MK. The hypoglycaemic activity of fenugreek seed extract is mediated through the stimulation of an insulin signaling pathway. *British Journal of Pharmacology* 2005;146:41-48.
- Virdi J, Sivakami S, Shahani S, Suthar AC, Banavalivar MM, Biyani MK. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia* *Journal of Ethnopharmacology* 2003;88:107-111.
- Xie JT, Wang CZ, Wang AB, Wu J, Basila D, Yuan CS. Antihyperglycemic effects of total ginsenosides from leaves and stem of *Panax ginseng*. *Acta Pharmacologica Sinica* 2005;26(9):1104-1110.
- Xie W, Wang W, Su H, Xing D, Cai G, Du L. Hypolipidemic mechanisms of *Ananas comosus* L. leaves in mice different from fibrates but similar to statins. *J Pharmacol Sci* 2007;103:267-274.
- Xu G, Shneider BL, Shefer S, Nguyen LB, Batta AK, Tint GS, Arrese M, Thevananther S, Ma L, Stengelin S, Kramer W, Greenblatt D, Pcolinsky M, Salen G. Ileal bile acid transport regulates bile acid pool, synthesis, and plasma cholesterol levels differently in cholesterol-fed rats and rabbits. *J Lipid Res.* 2000 Feb;41(2):298-304.

- Watala C, Boncler M, Gresner P. Blood platelet abnormalities and pharmacological modulation of platelet reactivity in patients with Diabetes mellitus. *Pharmacological Reports* 2005;57:42-58.
- White CR, Darley-Usmar V, Berrington WR, McAdams M, Gore JZ, Thompson JA, Parks DA, Tarpey MM, Freeman B. Circulantin plasma xanthine oxidase contributes to vascular dysfunction in hypercholesterolemic rabbits. *Proc Natl Acad Sci* 1996;93:8745-8749.
- Wild S, Roglic G, Green A, Sicree R, King H. Global prevalence of Diabetes. *Diabetes Care* 2004;27(5):1047-1053.
- Wolffenbuttel BH. Repaglinide--a new compound for the treatment of patients with type 2 Diabetes. *Neth J Med.* 1999;55(5):229-34.
- World Health Organization 2003. *Screening for type 2 Diabetes, report of a World Health Organization and International Diabetes Federation meeting.*
- Yokozawa T, Cho EJ, Sasaki S, Satoh A, Okamoto T, Sei Y. The protective role of chinese prescription kangen-karyu extract on diet-induced hypercholesterolemia in rats. *Biol Pharm bull* 2006;29(4):760-765.
- Yoshida M. Potential role of statins in inflammation and atherosclerosis. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis* 2003;10:140-144.

ANEXOS

Classificação etiológica da Diabetes mellitus

I- Tipo 1 (destruição da célula- β , usualmente conduzindo para absoluta deficiência de insulina).

II- Tipo 2 (pode ocorrer da faixa de predominantemente resistência à insulina com deficiência de insulina relativa para predominantemente defeito secretório com resistência periférica à insulina)

III- Outros tipos específicos

A. Defeito genéticos da função na célula- β

- 1) Cromosoma 12 (MODY3)
- 2) Cromosoma 7 (MODY2)
- 3) Cromosoma 20 (MODY1)
- 4) Cromosoma 13 (MODY4)
- 5) Cromosoma 17 (MODY 4)
- 6) Cromosoma 2 (MODY6)
- 7) Mitochondrial DNA
- 8) Outros

B. Defeito genético na ação da insulina

- 1) Resistência à insulina tipo A
- 2) Leprechaunismo
- 3) Síndrome de Rabson-Mendenhall
- 4) Diabetes lipoatrfica
- 5) Outras

C. Doenças do pâncreas exócrino

- 1) Pancreatite
- 2) Pancreatectomia/trauma
- 3) Neoplasia
- 4) Fibrose cística
- 5) Hemocromatose
- 6) Pancreatopatia fibrocálculos
- 7) Outras

D. Endocrinopatias

- 1) Acromegalia
- 2) Síndrome de Cushing's
- 3) Glucagonoma
- 4) Feocromocitoma
- 5) Hipertireoidismo
- 6) Somatostatinaoma
- 7) Aldosteronoma
- 8) Outras

E. Indução química ou Medicamentosa

- 1) Vacor
- 2) Pentamidina
- 3) Ácido nicotínico
- 4) Glicocorticóides
- 5) Hormônio da Tireóide
- 6) Diazoxide
- 7) Agonistas beta adrenérgicos
- 8) Tiazidas
- 9) Dilantin
- 10) A-Interferon
- 11) Outros

F. Infecções

- 1) Rubéola congênita
- 2) Citomegalovírus
- 3) Outros

G. Outras síndromes genéticas (algumas vezes associada a Diabetes)

- 1) Síndrome de Down's
- 2) Síndrome de Turner
- 3) Síndrome de Klinefelter's
- 4) Síndrome de Wolfram's
- 5) Distrofia miotônica
- 6) Outras

H. Diabetes mellitus gestacional

Efeitos dos medicamentos hipoglicemiantes e hipolipidemiantes utilizados comercialmente

DIABETES	Tipos	Efeitos	Efeitos adversos
Estimulantes da célula-β	Sulfoniluréias Gliburide Tolbutamida Clorpropamida Glipizida Glimepirida	Estimulam a secreção de insulina em resposta à refeição ↓ glicose plasmática em jejum de 3,3 a 3,9 mmol/L ou 60 a 70mg/dL ↓ hemoglobina glicosilada em 0,8 a 2,0%	Hipoglicemia Ganho de peso
	Glinidas Repaglinida Nateglinida	Estimula a secreção de insulina em resposta à elevação aguda da glicose ↓ glicose plasmática em jejum de 3,6 a 4,2 mmol/L ou 65 a 75mg/dL ↓ hemoglobina glicosilada em 0,5 a 2,0%	Hipoglicemia se for ingerido fora do horário das refeições
Sensibilizadores da ação da insulina	Biguanidas Metformina	↓ da produção hepática de glicose ↓ glicose plasmática em jejum de 2,8 a 3,9 mmol/L ou 50 a 70mg/dL ↓ hemoglobina glicosilada em 1,5 a 2,0%	Flatulência, diarreia, desconforto abdominal, raramente acidose láctica
	Troglitazonas Rosiglitazona Pioglitazona	Facilita a captação periférica de glicose ↓ glicose plasmática em jejum de 1,4 a 2,8 mmol/L ou 25 a 50mg/dL ↓ hemoglobina glicosilada em 0,5 a 1,5%	Contra-indicado na presença de doença hepática ou insuficiência cardíaca
Inibidores da α-glicosidase	Acarbose Miglitol	Bloqueio enzimático da conversão de carboidratos no intestino impedindo sua absorção ↓ níveis de glicose plasmática em jejum de 1,9 a 2,2 mmol/L ou 35 a 40mg/dL ↓ hemoglobina glicosilada em 0,7 a 1,0%	Flatulência, diarreia e desconforto abdominal

Marcondes, 2003; Luna & Feinglos, 2001; Cheng & Fantus, 2005.

HIPERLIPIDEMIA	Tipos	Efeitos				Efeitos adversos
		Colesterol	LDL	TG	HDL	
Inibidores da HMG Co-A redutase	Estatinas	↓ 15-30%	↓ 20-40%	↓ 10-20%	↑ 5-15%	Miopatia, rabdomiólise, níveis elevados de enzimas hepáticas
Sequestrantes de Ácido biliar	Colestiramina Colesevelan Colestipol	↓ 15-25%	↓ 15-30%	-	↑ 3-5%	
Ácido nicotínico	Niacina	↓ 15-25%	↓ 15-25%	↓ 20-50%	↑ 15-35%	Pode estar associado à doença péptica, náusea, sensação de má digestão, prurido e enrubescimento cutâneo.
Inibidor da absorção de colesterol	Ezetimiba		↓ 15-20%			
Fibratos	Benzafibrato Cipofibrato Genfibrozil Fenofibrato Clofibrato	↓ 5-15%	↓ 10-15%	↓ 20-50%	↑ 10-15%	Distúrbios digestórios, coletíase, miosite e aumento de enzimas hepáticas Pode induzir disfunção renal
Probucol		↓ 11-22%	↓ 8-17%		↓ 22-40%	
Omega-3	EPA/DHA		↑ 5-10%	↓ 30-40%	↑ 5-10%	Desordem digestória

Nakashima, 2000; Schulz, 2006; Oh & Lanier, 2007.

Plantas com atividade antidiabética	Parte da planta utilizada/dosagem	Principais constituintes	Modelo testado	Duração do tratamento	Efeito	Referência
<i>Aloe vera</i> (Liliaceae)	Extrato alcoólico do gel da folha (300mg/Kg)	Antraquinona glicosídica, Polissacarídeos,	Estudo <i>in vitro</i> Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ (55mg/Kg)	21 dias	↓ Glicemia e Hemoglobina glicosilada, TBARS e H ₂ O ₂ ↑ Hemoglobina e GSH ↑ SOD e CAT GPx e GST no fígado e no rim	Rajasekaran <i>et al.</i> , 2005
	Extrato da polpa (500mg/Kg) e gel da folha (63mg/Kg)	Aloeresinas, Glicomanans, e B-Sitosterol.	Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ (100mg/Kg)	14 dias	↑ GSH e glicosilação não enzimática em extrato da polpa ↓ Glicosilação não enzimática em extrato gel e peroxidação lipídica em extrato com polpa e danos teciduais hepáticos ↓ Atividade de ALP ↑ ALP em extrato com polpa e ↓ ALT	Can <i>et al.</i> , 2004
<i>Ananas comosus</i> (Bromeliaceae)	Extrato etanólico da folha (0,4-0,2g/Kg) e (0,01µg/ml)	Ácido p-coumárico 1-O-p, coumaroilglicerol, Ácido cafeico e 1-O-cafeoilglicerol.	Camundongos alimentados c/ frutose	3 dias	Inibiu o ↑ de triacilglicerol	Xie <i>et al.</i> , 2007
			Camundongos c/ dieta ↑ gordura Camundongo Triton WR 1339 Ratos Wistar com Diabetes induzida por Aloxano i.p. (150mg/Kg)	7 dias	Colesterol atingiu níveis normais Inibiu ↑ de lipídeos Inibiu atividade de HMGCoA reductase	
<i>Annona squamosa</i> (Annonaceae)	Extrato aquoso da folha (250-500mg/Kg)	Esteróides, Alcalóides Saponinas, Terpenos, Taninos, Substâncias fenólicas, Carboidratos, Óleo volátil e Mucilagens.	Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ (65mg/Kg) pós nicotinamida i.p. (110mg/Kg)	12 dias	↑ Glicogênio hepático e insulina plasmática Não há reações tóxicas no estudo ↓ Glicemia no teste tolerância à glicose (animais normais) ↓ TBARS pancreático Não há efeito hipoglicêmico (animais normais) ↓ Glicemia (animais doentes), colesterol total e triacilglicerol	Shirwaikar <i>et al.</i> , 2004
<i>Aspalathus linearis</i> (Fabaceae)	Extrato aquoso do chá (300mg/Kg)	-	Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.v. de STZ (45mg/Kg)	8 semanas	Não altera glicemia, Hemoglobina glicosilada e frutossamina ↓ AGE e AOPP ↓ MDA no plasma e cristalino ↓ Discreta de triacilglicerol, colesterol total, uréia e creatinina ↓ Atividade de aminotransferases Sem alteração de albumina plasmática e proteínas totais	Ulicná <i>et al.</i> , 2006
<i>Cassia auriculata</i> (Leguminosae)	Extrato metanólico da flor (4,2mg/100mg da planta)	-	Estudo <i>in vitro</i> Ratos Sprague-Dawley	7 semanas	Efeito inibitório sobre enzima α-glicosidase ↓ Resposta glicêmica com ingestão de maltose	Abesundara <i>et al.</i> , 2004

Plantas com atividade antidiabética	Parte da planta utilizada/dosagem	Principais constituintes	Modelo testado	Duração do tratamento	Efeito	Referência
<i>Cephalotaxus sinensis</i> (Cephalotaxaceae)	Extrato etanólico da folha (1,26-0,72-0,48-0,06g/Kg)	Alcalóides, Flavonóides, Biflavonóides e Diterpenos.	Estudo <i>in vitro</i> Ratos com Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ (48mg/Kg)	17 dias	↓ Glicemia (extrato com 0,48g/Kg) ↓ Consumo de comida e água Foram identificados 3 flavonóides apigenina-5-O-[α -1-ramnopiranosil-(1→4)-6-O- β -D-acetilglicopiranosideo], apigenina e apigenina-5-O-[α -1-ramnopiranosil-(1→4)-6-O- β -D-glicopiranosideo]. Flavonóides isolados facilitaram translocação de GLUT-4.	Li <i>et al.</i> , 2007
<i>Cleome felina</i> (Comperatacea)	Extrato de éter de petróleo e benzeno (300mg/Kg)	Esteróis, Alcalóides, Flavonóides e Açúcares redutores.	Ratos Wistar com Diabetes induzida por aloxano (120mg/Kg)	30 dias	↓ Hiperglicemia; ↑ Peso dos animais Restaura níveis de hemoglobina	Nagarajan <i>et al.</i> , 2005
<i>Cyclocarya paliurus</i> (Juglandaceae)	Extrato aquoso das folhas (250mg/Kg)	Saponina, Triterpenóide e Ciclocarioside A.	Estudo <i>in vitro</i> Camundongos obesos KK-A ^y	21 dias	Inibe enzima α -glicosidase Não ↓ glicemia pós-administração de 2g de glicose/120min. Contínua administração por 3 semanas melhora hiperglicemia.	Kurihara <i>et al.</i> , 2003
<i>Emblica officinalis</i> (Euphorbiaceae)	Extrato aquoso do fruto Extrato metanólico do fruto (100mg/Kg)	Tanóides Ácido gallico (epigallocatequina gallate).	Estudo <i>in vitro</i> Ratos Wistar com Diabetes induzida por aloxano i.p. (120mg/Kg)	- 11 dias	Inibiu a enzima aldose reductase em cultura de cristalino ↓ Glicemia em ratos normais e diabéticos Inibe radicais superóxidos, hidroxila e peroxidação lipídica	Surynarayan <i>et al.</i> , 2004 Sabu <i>et al.</i> , 2002
<i>Enicostemma littorale</i> (Gentianaceae)	Extrato aquoso da planta (15g/Kg)	-	Ratos Charles-Foster c/ Diabetes induzida por Aloxano i.p. (120mg/Kg)	Administração única do extrato	↑ Insulina plasmática (dose dependente) Reverte parcialmente efeito inibitório de Diazoxide 0,25mM ↑ Glicose e insulina plasmática (não requer influxo Ca ⁺⁺)	Maroo <i>et al.</i> , 2002

Plantas com atividade antidiabética	Parte da planta utilizada/dosagem	Principais constituintes	Modelo testado	Duração do tratamento	Efeito	Referência
<i>Eugenia jambolana</i> (Myrtaceae)	Extrato aquoso do fruto (200mg) Extrato etanólico de semente (50 a 200mg/Kg)	- -	Camundongo albino c/ Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ 150mg/Kg Coelhos albinos com Diabetes induzida por injeção i.v. de Aloxano (80mg/Kg)	40 dias 15 dias e 30 dias	Baixa redução de níveis de glicose plasmática Não afeta o peso corporal Previne o aumento do volume urinário, excreção de albumina urinária e hipertrofia renal. Não altera soro de creatinina ↓ Hemoglobina glicosilada, glicemia de jejum e teste de tolerância a glicose ↑ Insulina plasmática, glicogênio fígado e muscular ↓ Colesterol total, triacilglicerol, LDL, VLDL, lipídeos totais ↓ colesterol total / HDL e atividade de HMGC _o A reductase e ↑ HDL Melhora histológica das mudanças nos hepatócitos, aorta, coração e pâncreas dos animais doentes	Grover <i>et al.</i> , 2001 Sharma <i>et al.</i> , 2003
<i>Eugenia operculata</i> (Myrtaceae)	Extrato aquoso de flor (500mg/Kg)	Catequina	Estudo <i>in vitro</i> Camundongos IRC normais e ratos Wistar c/ Diabetes induzida por STZ (50mg/Kg)	8 semanas	Efeito inibitório sobre enzima α-glicosidase, maltase e sucrase. ↓ Glicose plasmática de jejum 4-6h após administração oral. Efeito antihiperglicêmico em 8 semanas ↓ Volume de urina	Mai & Chuyen, 2007
<i>Gmelina asiática</i> (Verbenaceae)	Extrato alcoólico da raiz (100-250-500mg/Kg)	Flavonóides e Ligninas	Ratos Sprague-Dawley com Diabetes induzida por aloxano (150mg/Kg)	Administração única	↓ Glicemia (dose dependente) em animais normais e doentes sendo o mecanismo provável inibição dos canais ATPase de K ⁺ em células beta pancreáticas	Kasiviswanath <i>et al.</i> , 2005
<i>Helicteresisora</i> (Sterculiaceae)	Extrato etanólico da raiz (300mg/Kg)	-	Estudo <i>in vitro</i> Camundongo albino Swiss Camundongo C57BL/Ks db/db Hamster alimentados com dieta rica em gordura	10 dias	↓ Glicose, insulina plasmática e triacilglicerol em db/db Camundongos normais não diminuem glicose ↓ Triacilglicerol e insulina plasmática ↓ TG, CT, LDL, VLDL e ↑ HDL Melhora da ativação de PPAR _γ	Chakrabart <i>et al.</i> , 2002

Plantas com atividade antidiabética	Parte da planta utilizada/dosagem	Principais constituintes	Modelo testado	Duração do tratamento	Efeito	
<i>Heliotropium zeylanicum</i> (Boraginaceae)	Extrato metanólico (150 e 300mg/Kg)	-	Estudo <i>in vitro</i> Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ (65mg/Kg)	14 dias	↓ Glicemia, colesterol total e triacilglicerol ↑ Peso corporal ↓ Consumo de comida e ingestão hídrica	Murugest <i>et al.</i> , 2006
<i>Inula japonica</i> (Asteraceae)	Extrato aquoso de flor (1000-500-250mg/Kg)	-	Camundongos com Diabetes induzida por injeção de Aloxano i.v. (60mg/Kg)	18 e 20 dias	↓ Glicose sanguínea plasmática e no teste de tolerância à glicose ↓ Triacilglicerol e albumina glicada ↑ Insulina plasmática ↑ Atividade eliminadora de ROS, DPPH, SOD e CAT Previne hipertrofia do rim e não impede atrofia do baço Efeito protetor sobre H ₂ O ₂ induzir apoptose	Shan <i>et al.</i> , 2006
<i>Laminaria japonica</i> (Laminariaceae)	Extrato aquoso do caule (100mg/Kg)	-	Estudo <i>in vitro</i> Ratos Sprague-Dawley com Diabetes induzida por injeção i.m. de STZ (55mg/Kg)	5 dias	↓ Glicose sanguínea ↓ Peroxidação lipídica hepática Suprimi atividade da xantina oxidase	Jin <i>et al.</i> , 2004
<i>Momordica charantia</i> (Curcubitaceae) e <i>Mucuna pruriens</i> (Papillonaceae)	Extrato aquoso do fruto (200mg)	-	Camundongo albino com Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ (150mg/Kg)	40 dias	Baixa redução de glicose plasmática Não altera peso corporal Previne ↑ do volume urinário, albuminúria e hipertrofia renal Não altera soro de creatinina	Grover <i>et al.</i> , 2001
<i>Olea europaea</i> (Oleaceae)	Extrato etanólico da folha	Oleuropeina (20mg/Kg)	Coelhos da raça Nova Zelândia com Diabetes induzida por Aloxano i.v. (150mg/Kg)	16 semanas	↓ Glicemia e MDA no plasma e no eritrócito Sem alteração do peso corporal ↑ GSH, beta caroteno, alfa tocoferol e acido ascórbico	Al-Azzawie & Alhamdani, 2006
<i>Paeonia suffruticosa</i> (Paeoniaceae)	Extrato etanólico da casca (50 ou 100mg/Kg)	Ácidos fenólicos, Flavonóides, Triterpenóides e Saponinas.	Ratos Sprague-Dawley com Diabetes induzida por injeção i.v. de STZ (45mg/Kg)	4 semanas	↓ TBARS ↓ Consumo da comida Suprimiu o ↑ da glicemia Suprimiu perda de peso corporal	Jung <i>et al.</i> , 2006
<i>Panax ginseng</i> (Araliaceae)	Extrato de folhas e talo (150 e 300mg/Kg)	-	Camundongo C57BL/6Job/ob	12 dias	↓ Glicemia (dose dependente) e no teste de tolerância à glicose ↓ Peso corporal	Xie <i>et al.</i> , 2005

Plantas com atividade antidiabética	Parte da planta utilizada/dosagem	Principais constituintes	Modelo testado	Duração do tratamento	Efeito	Referência
<i>Purariae radix</i> (Fabaceae)	Extrato etanólico (500mg/Kg)	Saponinas	Estudo <i>in vitro</i> Ratos Sprague-Dawley com Diabetes induzida por injeção i.v. de STZ (150mg/Kg)	12 dias	Elimina ROS e DPPA ↓ Formação de células apoptóticas ↑ Atividade de SOD e CAT ↓ Glicemia	Kang <i>et al.</i> , 2005
<i>Rhus verciflua</i> (Anacardiaceae)	Extrato etanólico da casca (50 e 100mg/Kg)	Ácidos fenólicos, Flavonóides, Triterpenóides e Saponinas	Ratos Sprague-Dawley com Diabetes induzida por injeção i.v. de STZ (45mg/Kg)	4 semanas	↓ TBARS ↓ Consumo da comida Suprimiu o ↑ da glicemia e perda de peso	Jung e tal., 2006
<i>Scoparia dulcis</i> (Scrophulariaceae)	Extrato aquoso (50-100-200mg/Kg)	-	Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.p. de STZ (45mg/Kg)	6 semanas	↓ Glicemia (dose dependente) ↑ Insulina plasmática e hemoglobina ↓ Hemoglobina glicosilada e sorbitol desidrogenase ↓ TBARS e H ₂ O ₂ e ↑ GPx GST e GSH	Latha & Pari, 2004
<i>Smallantus sonchifolius</i> (Asteraceae)	Decocção 10% das folhas 4ml/Kg (i.p.) 8ml/Kg (através do tubo gástrico)	-	Ratos Sprague-Dawley com Diabetes induzida por injeção i.p. por STZ (35mg/Kg)	30 dias	↓ Glicose plasmática em ratos normais, só 2% no tubo gástrico falha em diminuir Glicemia 8ml/Kg (i.p.) ↓ glicemia no teste de tolerância à glicose ↓ Glicemia e Insulina plasmática em 30 dias Inibição da perda de peso corporal Hipertrofia renal foi melhorada Ausência de perda de albuminúria Melhora do clearance de creatinina	Aybar <i>et al.</i> , 2001
<i>Sophora japonica</i> (Fabaceae)	Extrato etanólico da casca (50 ou 100mg/Kg)	Ácidos fenólicos, Flavonóides, Triterpenóides e Saponinas.	Ratos Sprague-Dawley com Diabetes induzida por injeção i.v. de STZ (45mg/Kg)	4 semanas	↓ TBARS ↓ Consumo da comida Suprimiu o ↑ da glicemia Suprimiu perda de peso	Jung <i>et al.</i> , 2006

Plantas com atividade antidiabética	Parte da planta utilizada/dosagem	Principais constituintes	Modelo testado	Duração do tratamento	Efeito	Referência
<i>Tamarindus indica</i> (Caesalpinaceae)	Extrato aquoso de sementes (80mg) para Diabetes branda e (120mg) para Diabetes severa	-	Ratos wistar com Diabetes induzida por injeção i.m. de STZ (4mg/Kg) para Diabetes branda e (7mg/Kg) para Diabetes severa	14 dias	↓ Glicose plasmática jejum e glicemia pós-administração i.v. de glicose ↑ Glicogênio hepático e muscular ↓ Atividade de glicose-6-fosfatase ↓ Colesterol total, triacilglicerol, VLDL, LDL, CT/HDL e LDL/HDL ↑ HDL	Maiti <i>et al.</i> , 2005
<i>Terminalia belerica</i> e <i>Terminalia chebula</i> (Combretaceae)	Extrato metanólico do fruto (100mg/Kg)	Ácido gallico (epigallocatequina gallate).	Estudo <i>in vitro</i> Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.p. de Aloxano (120mg/Kg)	11 dias	↓ Glicemia em ratos normais e diabéticos em 6h pós-administração e em 11 dias Inibe radicais superóxidos, hidroxilas e peroxidação lipídica	Sabu & Kuttan, 2002
<i>Tithonia diversifolia</i> (Asteraceae)	Extrato etanólico 80% (100 a 150mg/Kg)	-	Camundongo KK-A ^y	3 semanas	↓ Glicemia em dose única e administração por 2 e 3 semanas Não houve alteração do peso corporal ↓ Insulina plasmática e no teste de tolerância à insulina	Miura <i>et al.</i> , 2005
<i>Trigonella foenum graecum</i> (Leguminosae)	Extrato aquoso de sementes e folhas (1-5-15mg/Kg ⁻¹)	Alcalóides, Flavonóides glicosídicos e Esteróides.	Estudo <i>in vitro</i> Camundongo albino Swiss	Administração única	↓ Glicemia (dose-dependente) para níveis normais em 4h	Vijayakumar <i>et al.</i> , 2005
<i>Zea mays</i> (Poaceae)	Extrato aquoso preparado a partir do cereal (0,2g/dia)	Flavona-C-glicosídeos	Ratos Wistar com Diabetes induzida por injeção i.v. de STZ (40mg/Kg)	12 semanas	Não houve diferença no peso dos animais, glicose plasmática, frutamina e Hemoglobina glicosilada ↓ Peso do rim / peso corporal e clearance de creatinina Tendência a ↓ excreção de albumina urinária	Suzuki <i>et al.</i> , 2005

AGE Produtos de glicação avançada DPPH (1,1-Difenil-2-Picrilhidrazil)

Resumo da análise de variância dos parâmetros glicose, colesterol, HDL, triacilglicerol, lipase, creatinina, proteínas totais, albumina e hemoglobina glicosilada

Quadrados médios

Fonte de Variação (FV)	Graus Liberdade (GL)	Glicose	Colesterol	Triacilglicerol	Lipase	Creatinina	Ptn totais	Albumina	Hemogl glic
Grupo (G)	7	16584,61 NS	97,0071 NS	1790,45 NS	41,77036	0,08549226 NS	0,7851667 NS	0,2382368 NS	12,35343 NS
Resíduo (a)	40	2326,505	120,0969	3899,06	231,7633	0,1250254	0,5722604	0,163614	5,883446
Tempo (T)	1	30175,04**	328,2641**	13305,04**	51,48010 NS	0,08881667 NS	1,664267*	0,00023437 NS	66,63334**
Gx T	7	6059,24 NS	84,1309**	471,5093 NS	85,86109 NS	0,06335714 NS	0,287531 NS	0,05418914 NS	6,529547 NS
Resíduo (b)	40	3427,37	23,60234	814,6454	98,22278	0,03554208	0,3601104	0,08257479	6,601371
CV(%) parcela		25,52	32,35	59,11	21,51	16,05	12,75	10,25	35,81
CV(%) subparcela		30,98	14,34	27,02	14	8,56	10,11	7,28	37,94

** F sig 1%

* F sig 5%

Fonte de Variação (FV)	Graus Liberdade (GL)	Colesterol	Triacilglicerol	Lipase	Creatinina	Ptn totais	Albumina
Grupo (G)	7	81513,49**	24928,09**	34,37968 NS	0,1648565 NS	1,107683	0,3652714
Resíduo (a)	40	15381,02	6158,249	100,6352	0,1625717	0,6917185	0,1615671
Tempo (T)	1	22365,67**	119,6620 NS	0,2252344 NS	0,1290667 NS	0,446901	0,6834375
Gx T	7	6602,234**	5224,638 NS	82,05479 NS	0,02306667 NS	1,359992	0,1240304*
Resíduo (b)	40	2252,733	3547,645	60,63372	0,03494917	0,5581102	0,1520087
CV(%) parcela		106,54	62,57	13,65	19,53	12,57	10,44
CV(%) subparcela		40,77	47,497	10,59	9,05	13,68	10,11

** F sig 1%

* F sig 5%

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)