

MARCOS TÚLIO ALVES DA ROCHA

EFEITOS DE *Momordica charantia* L. EM RATOS DIABÉTICOS

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Bioquímica Agrícola, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2010

MARCOS TÚLIO ALVES DA ROCHA

EFEITOS DE *Momordica charantia* L. EM RATOS DIABÉTICOS

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Viçosa, como parte
das exigências do Programa de Pós-
Graduação em Bioquímica Agrícola, para
obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 26 de novembro de 2010.

Prof. Ronaldo Martins Ferreira
(Coorientador)

Prof^a. Virgínia Ramos Pizzolo
(Coorientador)

Prof^a. Ana Cláudia Peres Rodrigues

Prof^a. Tânia Toledo de Oliveira

Prof. George Henrique Kling de Moraes
(Orientador)

À minha mãe, Jussara Alves de Oliveira, imprescindível na minha formação, exemplo de educação, amor, trabalho e compromisso. Vive em função dos filhos.

Ao meu pai, Sílvio Félix da Rocha, diabético tipo 2 insulino dependente, que me ensinou que o poder do convencimento está na honestidade. Trabalhe sempre.

À minha espetacular avó, Ilda Alves de Oliveira, que me obrigava a copiar a tabuada e o hino nacional várias vezes ao dia para que hoje eu pudesse chegar aonde cheguei.

Ao meu avô, Arízio Gonçalves de Oliveira (*in memorian*), exemplo de caráter e compromisso com a família, o seu valor é eterno e insubstituível.

À minha irmã, Cristiane Aparecida Alves Xavier, que curou minhas carências quando minha mãe não podia estar presente e sempre esteve ao meu lado.

À minha tia, Yara Aparecida de Oliveira, alicerce da família, exemplo de mãe e educadora. Sempre disponível.

Ao meu tio, Rogério Antônio de Oliveira, que soube ensinar fazendo, que aprendeu a lutar sozinho e que mostrou que a vida não é fácil, mas é você quem decide a sua felicidade.

Ao meu tio Israel Jorge de Oliveira, exemplo de responsabilidade, cultura e educação.

Ao meu pai, Marcos Alves de Oliveira, todas as páginas dessa dissertação não seriam suficientes para agradecer a esse homem.

Ao meu padrinho, Mario Alves Paulino (*in memorian*), levem meu corpo mas nunca minha alma, chegou sem pernas aonde poucos chegaram pisando nos outros.

À minha mulher, Juliana Maria Toledo Macedo, amor da minha vida.

Em especial, ao meu irmão, Marcelo Simon Alves da Rocha, o meu maior espelho, colaborador presente em todo este trabalho, certamente sem ele eu não teria conseguido. Meu eterno ídolo.

Dedico.

AGRADECIMENTOS

Simplemente agradecer seria pouco daquilo que desejo. Quero trazer para dentro do meu texto aqueles que já o percorrem nas entrelinhas. E não só aos que me ajudaram efetivamente na construção desse trabalho, mas aos amigos e colegas que compartilharam comigo ideias, fomentaram discussões, que me trouxeram pérolas poéticas, que construíram frases espirituosas e fortuitas sobre os rascunhos. Àqueles que me ajudaram, de alguma forma, no meu percurso a seguir adiante com a escritura, sem perder o que pulsa, o que vibra, agradeço imensamente.

Aos meus primos, pelo apoio e credibilidade nas minhas palavras, me inspiro em vocês.

Aos meus amigos de ginásio, Rafael Werkema e Leonardo Santana, naquela época o estudo era diversão, mas certamente aprendemos muito mais do que aprendem hoje.

À minha sobrinha e afilhada, Maria Eduarda Aparecida Alves Xavier, que trouxe vida nova à nossa casa e me fez entender porque vale a pena lutar na vida e aprender a todo instante.

Ao meu amigo Douglas, que esteve junto desde o colegial sempre incentivando o estudo e a responsabilidade; e aos meus amigos de infância e juventude, Cacá, Felipe e Matheus que me apoiaram, nunca me aconselharam a desistir e estiveram ao meu lado sempre.

Aos meus companheiros da graduação, Acácio Osvaldo, Alexandre Aquino, Moacir Ferreira e Thiago Gomes, que sempre me valorizaram e caminharam junto comigo.

Ao Centro Universitário de Belo Horizonte (UNI-BH) pelo apoio à iniciação científica e por conceder a minha primeira experiência como docente.

Imensa gratidão à Cláudia Lopes Penaforte, Doutora, por ter me apresentado à bioquímica, pela confiança no meu futuro e por me conduzir por esse caminho.

À Celina Mitiko Yokoro, Doutora, por ter sido a primeira pessoa a acreditar que eu tinha vocação para a pesquisa científica.

À Livia Lazzarotto, Doutora, pelo incentivo na graduação.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular da Universidade Federal de Viçosa, pelo imenso apoio, acessibilidade, flexibilidade e acompanhamento.

Ao meu orientador, George Henrique Kling de Moraes, PhD, por enxergar em mim potencial, confiar no meu trabalho e tornar as coisas fáceis. Nada que este homem

disse foi em vão.

À Tânia Toledo de Oliveira, Doutora, pela colaboração ao longo desse trabalho.

À Virgínia Ramos Pizziolo, Doutora, pela agilidade, carinho com o trabalho, confiança na equipe, pelas preciosas orientações e por estar sempre disponível.

À Universidade Presidente Antônio Carlos - Faculdade de Farmácia - Instituto de Biociências, por nos oferecer toda a estrutura para os testes bioquímicos e imunoenzimáticos.

À Faculdade de Medicina de Barbacena por permitir a realização do trabalho de campo e procedimentos de coleta e armazenamento do material biológico.

À Denise Soares Neto, farmacêutico-bioquímica, pela presença indispensável nas análises bioquímicas.

À Cyntia Cristine de Andrade, farmacêutico-bioquímica, indispensável para o sucesso dos testes imunoenzimáticos.

Aos estudantes, Vanessa Maria Moraes Campos, Juliana Maria Villanova, Carlita Lucia Moreira Wanser, Bruno Augusto de Oliveira, do curso de Farmácia que se envolveram no tratamento previsto no biotério da FAME-Barbacena.

Aos estudantes, Gustavo Gontijo e Maíla Andrade do curso de Medicina da Universidade Presidente Antônio Carlos que se envolveram nos procedimentos cirúrgicos para coleta de fígado e pâncreas dos animais.

À farmacêutica Natália Filardi Tafuri, pelo auxílio, interesse e disponibilidade.

Em especial ao meu coorientador, Ronaldo Martins Ferreira, Doutor, por me conceder a oportunidade de seguimento nesse trabalho que progressivamente se torna mais promissor, por ter formado uma excelente equipe de colaboradores, por me ajudar de forma incondicional ao longo desse trabalho, por ter confiado no meu potencial, por ter me recebido na sua casa em pleno sábado para discutirmos resultados, pela serenidade, pelas sábias palavras e por ter acreditado desde o início nessa empreitada.

BIOGRAFIA

MARCOS TÚLIO ALVES DA ROCHA, filho de Jussara Alves de Oliveira e Sílvio Félix da Rocha, nasceu em 25 de setembro de 1982, na cidade de Belo Horizonte, Minas Gerais.

Graduou-se em maio de 2007, no curso de fisioterapia pelo Centro Universitário de Belo Horizonte onde iniciou sua carreira científica como membro do núcleo de projetos de pesquisa experimentais associados à Universidade Federal de Minas Gerais, desde o 2º semestre de 2002 até o 2º semestre de 2006, trabalhando no desenvolvimento e criação de diversos projetos como “Efeito de diferentes drogas analgésicas sobre a nocicepção induzida pelo ácido acético 0,8% em camundongos e influencia do laser de arseneto de gálio sobre a nocicepção no teste de contorções abdominais ao ácido acético 0,8% em camundongos”, premiado em primeira colocação no XXXV Congresso Brasileiro de Farmacologia pela Sociedade Brasileira de Farmacologia e Terapia Experimental em Águas de Lindóia, 2003.

Iniciou sua carreira de docente como monitor de bioquímica no Centro Universitário de Belo Horizonte em março de 2003 a dezembro de 2006. Ministrou aulas laboratoriais como professor convidado sobre o “Modelo experimental: teste de contorções abdominais induzidos por ácido acético em camundongos” para o curso de Pós-Graduação em Fisioterapia em Neurologia e Neuropediatria do Centro Universitário de Belo Horizonte, sobre o “Efeito de diferentes drogas analgésicas sobre a nocicepção induzida pelo ácido acético 0,8% em camundongos” para o curso de Pós-Graduação em Fisioterapia em Neurologia e Neuropediatria do Centro Universitário de Belo Horizonte e sobre a “Influência do laser de arseneto de gálio sobre a nocicepção no teste de contorções abdominais ao ácido acético 0,8% em camundongos” para alunos do curso de Pós-Graduação em Fisioterapia em Reabilitação Cardíaca e Vascular Periférica do Centro Universitário de Belo Horizonte. Ministrou aulas teóricas de bioquímica e aulas práticas em laboratório, como professor substituto para os cursos de graduação em medicina, fisioterapia e ciências biológicas no Centro Universitário de Belo Horizonte e para os cursos de enfermagem e fisioterapia para a Faculdade Estácio de Sá (Belo Horizonte), em Maio de 2007. Ministrou aulas teóricas de bioquímica (professor substituto) para os cursos de graduação em medicina, fisioterapia e ciências biológicas no Centro Universitário de Belo Horizonte e para os cursos de enfermagem e fisioterapia para a Faculdade Estácio de Sá (Belo Horizonte), em Agosto de 2007.

Em 2008, iniciou o curso de Mestrado em Bioquímica Agrícola pela Universidade Federal de Viçosa, defendendo sua tese em novembro de 2010.

ÍNDICE

Resumo	ix
Abstract	xi
1 . Introdução	1
2 . Revisão da Literatura	8
2.1. Regulação da Glicemia	8
2.2. Fisiopatologia da Hiperglicemia Pós-prandial	9
2.3. Influência da Hiperglicemia Pós-prandial	11
2.4. O Diabetes mellitus	11
2.5. As Incretinas	13
2.5.1. O Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon-1	14
2.5.2. O Polipeptídeo Insulinotrópico Glicose Dependente	17
2.6. A Dipeptidil Peptidase IV	18
2.7. O <i>Diabetes mellitus</i> e o Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon-1	20
2.8. O <i>Diabetes mellitus</i> e as Alterações Lipídicas	22
2.9. A Importância das Plantas Medicinais	24
2.9.1. Possíveis Mecanismos Antidiabéticos das Plantas Etnofarmacologicamente Utilizadas	24
2.9.2. A <i>Momordica charantia L.</i>	26
2.10. Indução do Diabetes mellitus	29
3 . Materiais e Métodos	31
3.1. Material Botânico	31
3.2. Preparação da Infusão	31
3.3. Animais	31
3.4. Indução do <i>Diabetes mellitus</i> Experimental	32
3.5. Seleção, Distribuição e Tratamento dos Animais	32
3.6. Determinação do Peso, da Ingestão Alimentar e Hídrico dos Animais	33
3.7. Dosagem da Glicemia Casual	33
3.8. Dosagens Imunoenzimáticas	34
3.8.1. Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon -1	34
3.9. Dosagens Bioquímicas	34

3.9.1. Transaminases	34
3.9.1.1. Alanina Aminotransferase	35
3.9.1.2. Aspartato Aminotransferase	35
3.9.2. Colesterol	35
3.9.3. Triacilgliceróis	36
3.10. Análise Estatística	36
4 . Resultados e Discussão	37
4.1. Método de Indução	37
4.2. Evolução Clínica	40
4.3. Evolução Laboratorial	42
4.3.1. Glicemia Casual	42
4.3.2. Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon - 1	44
4.3.3. Transaminases	46
4.3.4. Colesterol	47
4.3.5. Triacilgliceróis	49
4.4. Discussão da Correlação dos Resultados	50
5 . Conclusão	52
6 . Referências Bibliográficas	53

RESUMO

ROCHA, Marcos Túlio Alves. Universidade Federal de Viçosa, novembro, 2010. **Efeitos de *Momordica charantia L.* em ratos diabéticos.** Orientador: George Henrique Kling de Moraes. Coorientadores: Ronaldo Martins Ferreira e Virgínia Ramos Pizziolo.

O objetivo deste estudo foi caracterizar as alterações clínicas e laboratoriais em ratos com diabetes e ratos sadios submetidos à infusão aquosa do pó dos frutos de *Momordica charantia L.* Nos ensaios biológicos, 16 ratos foram induzidos ao diabetes experimental por via intraperitoneal de aloxano na dose de 75 mg/kg. A glicemia foi verificada no sexto dia após a indução e os animais com glicemia superior a 180 mg/dL foram distribuídos em dois grupos: grupo Diabético e grupo Diabético com infusão de *Momordica charantia L.* (Diabético + MC). A partir de animais sadios, outros dois grupos foram formados: grupo Controle e grupo Controle com infusão de *Momordica charantia L.* (Controle + MC). Os grupos tratados com *Momordica charantia L.* receberam dose diária de um mL/250g de peso corporal da infusão preparada a 10% por um período de 25 dias. Os seguintes parâmetros clínicos foram estudados: peso, ingestão hídrica, ingestão alimentar, diurese e estado geral. Ao final do experimento, as seguintes dosagens laboratoriais foram realizadas: glicemia, polipeptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1), triacilgliceróis, colesterol, alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST). Verificou-se um aumento de peso nos grupos Controle e Controle + MC, com aumento percentual maior (13,89%) no Grupo Controle. O grupo Diabético apresentou uma redução de 2,68% e o Diabético + MC uma redução de 11,79% no peso após 25 dias de experimento. O grupo Diabético apresentou um aumento médio de 34,82% nos níveis glicêmicos casuais, sendo que a glicemia permaneceu em níveis elevados, acima de 280 mg/dL. O grupo Diabético + MC apresentou uma menor variação percentual média para a glicemia, com um aumento médio de 27,05% nos índices glicêmicos. Os resultados demonstraram que a média dos níveis sanguíneos do GLP-1 nos animais do Grupo Diabético + MC foi 32,73% maior quando comparado com o grupo Diabético. Observou-se que houve diferença significativa entre a média da ALT do grupo Controle comparada com a do grupo Diabético, o que pode caracterizar um quadro diabetogênico com alterações hepáticas. Contudo, não houve diferença ($P>0,05$) na ALT dos grupos Controle e Diabético, quando comparados com os grupos Controle + MC e Diabético + MC,

respectivamente. Isso evidencia que a infusão dessa planta nessas condições experimentais não alterou as funções hepáticas analisadas. O grupo Controle + MC apresentou uma redução de colesterol de 6,88% em comparação com o grupo Controle. Os grupos Diabético e Diabético + MC não apresentaram diferença ($P>0,05$) entre suas médias para colesterol. O grupo Diabético + MC apresentou uma redução de 7,63% na média dos valores de triacilgliceróis em relação ao grupo Diabético. Esses resultados revelam que a ingestão da infusão aquosa dos frutos de *Momordica charantia L.* foi capaz de promover um aumento dos níveis sanguíneos do GLP-1 e redução dos níveis glicêmicos dos animais com diabetes. Além disso, observou-se redução do ganho de peso, melhora nos parâmetros clínicos e não alteração da função hepática. É possível concluir que o produto da *Momordica charantia L.* possui características próprias para controle do quadro típico do diabetes nas condições estudadas.

ABSTRACT

ROCHA, Marcos Túlio Alves. Universidade Federal de Viçosa, november, 2010. **Effect of *Momordica charantia L.* in male diabetic rats.** Adviser: George Henrique Kling de Moraes. Co-Advisers: Ronaldo Martins Ferreira and Virginia Ramos Pizziolo.

The objective of this study was to characterize the clinical alterations on laboratory male rats with diabetes and on healthy male rats, treated with aqueous infusion of powdered fruits of *Momordica charantia L.* In the biological assays, 16 male rats were induced to the experimental diabetes through intraperitoneal injection of alloxan in a dose of 75 mg/kg. The blood glucose level was verified on the sixth day after the induction and the animal with glucose superior to 180 mg/dL were distributed in two groups: Diabetic Group and Diabetic with infusion of *Momordica charantia L.* group (Diabetic + MC). After dividing these two groups, two others groups of healthy animals were formed: Control group and Control with infusion of *Momordica charantia L.* group (Control + MC). Groups with infusion of *Momordica charantia L.* were received a diary dose of 1 mL/250g of corporal weigh of the 10 % prepared infusion for 25 days. During the experiment were studied the following clinical parameters: weigh, hydric ingestion, alimentary ingestion, diuresis and general state. On the final of the experiment the following laboratorial dosages were realized: blood glucose level, glucagon like peptide -1 (GLP-1), cholesterol, triglycerides, alanine aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST). It was verified weight increase in Control an Control + MC groups with bigger percentile increase (13.89%) in the Group Control. The Diabetic group presented a 2.68% reduction and Diabetic + MC a reduction of 11.79% in the average of the weight of the animals after 25 days of experiment. The Diabetic group presented an average increase of 34.82% in the blood glucose level, being that the value remained in raised levels, above of 280 mg/dL. Diabetic + MC group presented a lesser average percentile variation for the blood glucose level, with an average increase of 27.05% in the glucose level. The results had demonstrated that the average of the blood levels of the GLP-1 in the animals of Diabetic + MC group was 32.73% greater when compared with the Diabetic group. The values of ALT was significant difference, the average of the ALT of the Control group was greater when compared with the Diabetic group, what can characterize a diabetic disease with liver alterations. However, it did not have significant difference in the ALT of the Control

and Diabetic groups, when compared with the Control + MC and Diabetic + MC groups respectively, evidencing that the infusion of this plant in these experimental conditions had not modified this analyzed liver's functions. The Control + MC group presented cholesterol reduction of 6.88% in comparison with the Control group. Diabetic and Diabetic + MC groups had not presented significant difference between its averages for cholesterol. Diabetic + MC group presented a reduction of 7.63% in the average of the values of triglycerides in relation to the Diabetic group. These results reveal that the aqueous infusion of powdered fruits of *Momordica charantia* was capable to increase levels of the GLP-1 and promoting a decrease of blood glucose levels of animals with diabetes. Moreover, was observed reduction of the weight profit, improves in the important clinical parameters, and no alterations in the liver's function was observed. It is possible to conclude that the *Momordica charantia* L. has proper characteristics for control of the typical parameters of diabetes in these study conditions.

1. Introdução

O *Diabetes mellitus* (DM) pode ser considerado uma das grandes epidemias mundiais do século XXI e problema de saúde pública, tanto nos países desenvolvidos como em desenvolvimento. As crescentes incidência e prevalência são atribuídas ao envelhecimento populacional, aos avanços terapêuticos no tratamento da doença, mas, especialmente, ao estilo de vida atual, caracterizado por inatividade física e hábitos alimentares que predisõem ao acúmulo de gordura corporal.

A maior sobrevida de indivíduos diabéticos aumenta as chances de desenvolvimento das complicações crônicas da doença que estão associadas ao tempo de exposição à hiperglicemia. Complicações, tais como, macroangiopatia, retinopatia, nefropatia e neuropatias podem ser muito debilitantes ao indivíduo e são muito onerosas ao sistema de saúde (Wild et al., 2004).

É incontestável o fato de que pacientes diabéticos são frequentemente acometidos por complicações nos membros inferiores, como neuropatia periférica sensitivo-motora, doença vascular periférica, úlceras nos pés, artropatia de Charcot e infecções. Também é incontestável a evidência de que estas complicações são responsáveis por inúmeros gastos, amputações e elevada morbi-mortalidade. Nesse contexto e com base nos vários estudos sobre o ônus do "pé diabético" e suas implicações, podemos afirmar que esta complicação é considerada uma das mais graves. A Organização Mundial da Saúde (OMS) define o "pé diabético" da seguinte forma: "situação de infecção, ulceração ou também destruição dos tecidos profundos dos pés, associada a anormalidades neurológicas e vários graus de doença vascular periférica, nos membros inferiores de pacientes com DM". Estas anormalidades neurológicas e vasculares relacionadas podem ocorrer de forma isolada ou concomitante. São estes achados clínicos que permitem classificar o "pé sob risco de ulceração" em neuropático, isquêmico (ou vascular) ou neuro-isquêmico (Benotmane et al., 2000).

O comprometimento do sistema nervoso periférico é, inquestionavelmente, uma das complicações mais frequentes do DM, presente entre 50% dos pacientes após 20 anos. Em qualquer dos tipos, a exposição crônica à hiperglicemia constitui o fator

patológico comum para o desenvolvimento e progressão da neuropatia diabética (Boulton et al., 1998).

Classicamente considera-se o paciente diabético mais propenso ao desenvolvimento de infecções, sejam elas bacterianas ou fúngicas ou virais. Porém, contrariamente ao senso comum, a associação de diabetes com maior susceptibilidade às infecções em geral não é evidenciada por muitos estudos populacionais. Recentemente, em estudo prospectivo com acompanhamento por 12 meses de pacientes diabéticos tipo 1 e 2 comparados com 18 mil controles hipertensos, pode-se observar um risco 30 a 40% maior nos diabéticos para o desenvolvimento de infecções do trato respiratório inferior, trato urinário, pele e mucosas. Nos pacientes diabéticos as infecções do trato urinário inferior foram até 100% mais frequentes quando comparados com os hipertensos não diabéticos (Muller, 2005)

Várias alterações imunitárias vêm sendo descritas no diabetes, sendo a imunidade celular mais comprometida, com alterações nos polimorfonucleares, monócitos e linfócitos. Nos polimorfonucleares há alterações na aderência, quimiotaxia, fagocitose, queima oxidativa e capacidade bactericida intracelular, havendo estudos que demonstram relação inversa entre o mecanismo imunitário e os níveis de hemoglobina glicada (Delamaire et al., 1997).

O DM e a doença cardiovascular (DCV), compreendida como infarto do miocárdio, acidente vascular cerebral e doença vascular periférica, parecem dois lados da mesma moeda. DM tem sido visto como um equivalente de doença coronariana, e por outro lado, muitos portadores de DCV, se investigados, têm o diagnóstico confirmado de diabetes ou seus estágios pré-clínicos, especialmente intolerância à glicose. A prevalência de diabetes e tolerância alterada à glicose em 2446 pacientes com eventos coronarianos agudos admitidos no Instituto do Coração (InCor), de 1997-1999, foi de 37% para os homens e 40% para as mulheres (Koivisto et al., 1996). Assim é tempo de os endocrinologistas e cardiologistas trabalharem juntos para melhorar a qualidade de vida de milhares de portadores dessas afecções.

O DM também é fator de risco para acidente vascular cerebral (AVC), particularmente o isquêmico. Além de mais prevalente, o AVC em diabéticos é de recuperação mais difícil, com maior frequência da recorrência e maior mortalidade. Embora a DCV acometa portadores de diabetes independente da sua etiologia, há diferença na prevalência entre portadores de DM tipo 1 ou 2. Em diabéticos do tipo 1 a prevalência de DCV é maior em mais velhos e com maior duração de doença (6% em

peças de 15 a 29 anos e 25 % entre 45 a 59 anos), aumentando dramaticamente com o aparecimento de microalbuminúria. Mais de 29% dos portadores de DM 1 com nefropatia terão DCV 20 anos após o diagnóstico de diabetes, enquanto em diabéticos sem nefropatia essa frequência é de 2 a 3 % (Koivisto et al., 1996).

A resistência à insulina, que é um defeito básico na etiopatogenia do DM tipo 2, é considerada um elo fisiopatogênico entre o DM e a hipertensão arterial, embora os mecanismos não sejam totalmente conhecidos. Várias linhas de evidências apontam uma associação da hipertensão arterial e estados de resistência à insulina como é o DM tipo 2, integrante da chamada síndrome metabólica. Estudos em animais e seres humanos mostraram que a hiperinsulinemia decorrente da resistência à insulina pode determinar aumento da reabsorção renal de sódio bem como ativação do sistema simpático, ações que contribuiriam para elevar a pressão arterial. Porém, este raciocínio esbarra nos resultados aparentemente conflitantes de experimentos nos quais a insulina tem efeito vasodilatador (Richey et al., 1999).

Hoje se sabe que a condição de resistência tecidual à ação da insulina é um fator relevante para a instalação de um estado pró-hipertensivo. A angiotensina II tem sido envolvida no desenvolvimento de resistência à insulina e à hipertensão arterial. Agentes que inibem a ação da angiotensina (inibidores da enzima conversora da angiotensina ou bloqueadores do seu receptor) não apenas reduzem a pressão arterial, mas também restauram a sensibilidade à insulina (Romero, 1999).

Com base nestas observações postulou-se que destas relações da angiotensina II às vias de sinalização de insulina poder-se-ia compreender como a angiotensina geraria resistência à insulina. Os mecanismos que elevam a PA do indivíduo com resistência à insulina são múltiplos, mas certamente envolve, dentre outros, o sistema renina-angiotensina (SRA), como gerador e mantenedor dos níveis pressóricos aumentados. O estado hiperglicêmico crônico desencadeia hiperfiltração glomerular e mecanismos renais retentores de sal. O conteúdo corporal de sódio aumentado potencializa a ação da angiotensina II, uma das mais potentes substâncias pressóricas do organismo. Dentre seus principais efeitos estão a vasoconstrição e retenção de sódio e água nos túbulos proximais, mediados por receptores AT1 e AT2 (Higashiura et al., 2000).

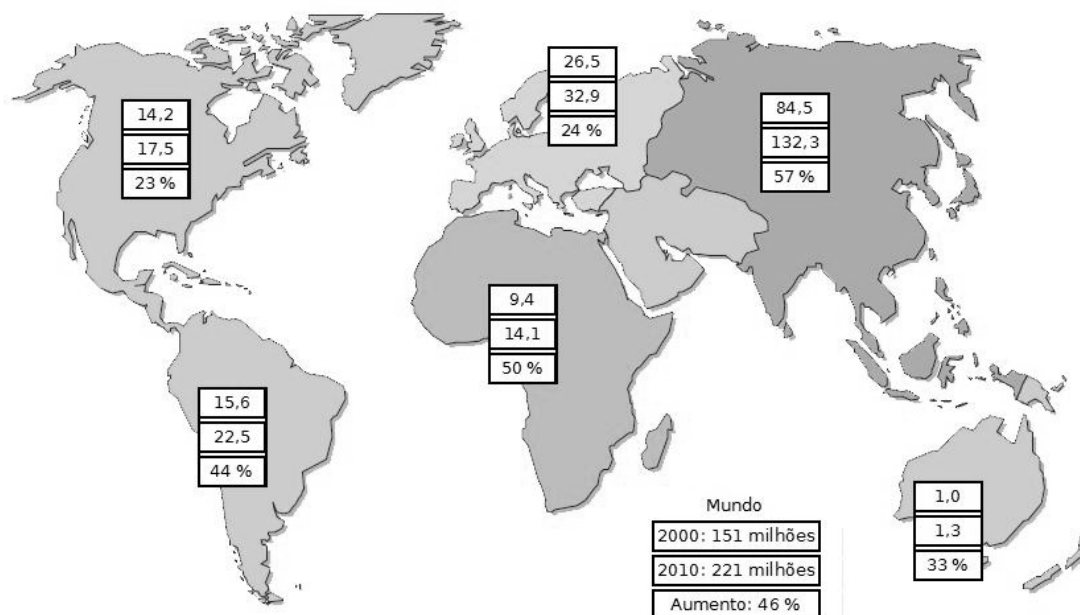
A doença cardiovascular é a primeira causa de mortalidade de indivíduos com DM, a retinopatia a principal causa de cegueira adquirida, a nefropatia uma das maiores responsáveis pelo ingresso a programas de diálise e a neuropatia periférica importante causa de amputações de membros inferiores. Assim, procedimentos diagnósticos e

terapêuticos (como “bypass” coronariano, fotocoagulação retiniana e transplante renal), hospitalizações, absenteísmo, invalidez e morte prematura, elevam substancialmente os custos diretos e indiretos da assistência à saúde da população diabética. Desafortunadamente, o DM é acompanhado de outras morbidades que podem tornar os custos totais exorbitantes (Barceló et al., 2003).

Atualmente, existem amplas evidências sobre a viabilidade da prevenção, tanto da doença em si como de suas complicações crônicas. O número de indivíduos com DM dá uma ideia da magnitude do problema e estimativas têm sido publicadas para diferentes regiões do mundo, incluindo o Brasil. Em termos mundiais, cerca de 30 milhões de indivíduos apresentavam DM em 1985, passando para 135 milhões em 1995 e 240 milhões em 2005, com projeção de atingir 366 milhões em 2030, dos quais dois terços habitarão países em desenvolvimento (Barceló et al., 2003.).

O diabetes é uma enfermidade crônica multifatorial e tem como forte componente a influência ambiental. As melhorias sócio-econômicas vivenciadas mundialmente nos últimos 20 anos promoveram um aumento significativo no número de casos de diabetes. São previstos 221 milhões de diabéticos em 2010 com um aumento da prevalência da ordem de 25-50% nos próximos 10 anos (Figura 1). O sedentarismo e a dieta rica em gorduras, características da sociedade moderna, provocam uma maior incidência da obesidade e do diabetes, de tal modo que um novo termo para a sua designação conjunta, “diabesidade”, está surgindo. O diabetes, portanto, ameaça ser um dos maiores problemas econômico-social do século XXI (Zimmet et al., 2001).

Figura 1 - Mapa de previsão do número de pacientes com diabetes (em milhões) em 2000 e em 2010 (valores superiores e médios, respectivamente) e aumento em porcentagem (Adaptado de Zimmet et al., 2001).



No Brasil, dados sobre prevalência de DM, representativos da população residente em nove capitais, datam do final da década de 80. Nesta época, estimou-se que, em média, 7,6% dos brasileiros entre 30 e 69 anos de idade apresentavam DM, que incidia igualmente nos dois sexos, mas que aumentava com a idade e a adiposidade corporal. As maiores taxas foram observadas em cidades como São Paulo e Porto Alegre, sugerindo o papel da urbanização e industrialização na patogênese do DM do tipo 2 (Malerbi et al., 1992).

Um marco importante na prevenção secundária foi a divulgação do estudo Steno-2 (Gaede et al., 1999) que convenceu a sociedade científica da necessidade de se tratar intensivamente os múltiplos fatores de risco (níveis glicêmicos, pressóricos, perfil lipídico e a microalbuminúria) para obter redução significativa também dos eventos cardiovasculares e mortalidade em indivíduos com DM. Há consenso de que o indivíduo diabético é de altíssimo risco cardiovascular, comparável àquele não diabético que já apresentou um infarto do miocárdio.

Dessa forma, justificam-se as metas rigorosas em termos de valores de glicemia (jejum e pós-prandial), hemoglobina glicada, pressão arterial e lipoproteínas, estabelecidas por sociedades científicas como a Sociedade Brasileira de Diabetes,

“American Diabetes Association” e “American Heart Association” (Haffner et al., 1998).

O número de mortes no ano de 2000, causadas por DM, para a América Latina e Caribe foi de 339.035, o que representa uma perda de 757.096 anos de vida produtiva entre pessoas com menos de 65 anos. Um custo financeiro de mais de três bilhões de dólares. No Brasil, os custos totais estimados para o diabetes, no ano de 2002, foram de 22 milhões de dólares, sendo o custo médio per capita de 872 dólares, o mais alto da América Latina. Gastos médios com pessoas diabéticas alcançam o dobro, ou o triplo, do que com pessoas não afetadas pela doença (Barceló et al., 2003). Esses dados bastariam para justificar a busca de novos compostos eficazes para o tratamento do DM a partir de plantas regionais mais acessíveis à população.

O tratamento atual do diabetes visa manter o controle glicêmico adequado, seja com dieta hipocalórica, aumento da prática de exercícios físicos ou uso de medicações. Existem no momento diversas opções terapêuticas, que podem ser utilizadas isoladamente ou em associações: sensibilizadores da ação da insulina (metformina, tiazolidinedionas) que reduzem a gliconeogênese e aumentam a sensibilidade à insulina, seu mecanismo de ação ainda é incerto, mas parece ter relação com a proteína quinase dependente de AMPc; anti-hiperglicemiantes (acarbose) que são inibidores da α -glicosidase não-absorvível, que reduzem a absorção de amido, sacarose e maltose, através do bloqueio enzimático envolvido no processo de digestão de carboidratos; secretagogos (sulfoniluréias) que se ligam a receptores específicos associados a canais de K^+ na membrana da célula β pancreática. Esta ligação inibe o fluxo de íon K^+ , promovendo despolarização da célula e propiciando a abertura dos canais de Ca^{++} e seu influxo. O aumento da concentração de Ca^{++} intracelular favorece a secreção de insulina. Estes fármacos não estimulam a síntese de insulina, apenas promovem sua liberação pelo pâncreas; ativadores de PPAR-gama (*Peroxisome proliferator-activated receptor*) que são um grupo de proteínas receptoras nucleares que funcionam como fatores de transcrição que regulam a expressão dos genes. Os PPARs desempenham um papel essencial na regulação da diferenciação celular, desenvolvimento, e metabolismo (carboidratos, lipídios, proteínas), e carcinogênese de organismos superiores; e/ou insulina (Cnop et al., 2005).

O “United Kingdom Prospective Diabetes Study” (UKPDS, 1998), em estudos com portadores de DM do tipo 2 tratados com dieta, insulina e/ou hipoglicemiantes orais, mostrou a fundamental importância do controle glicêmico na prevenção ou

redução das complicações micro e macrovasculares. O UKPDS (1998) mostrou que o desenvolvimento de complicações microvasculares nos diabéticos foi reduzido, quando tratados com sulfoniluréia, metformina ou insulina, mas apenas os pacientes tratados com a metformina apresentaram diminuição significativa das complicações macrovasculares (Turner, 1998). O UKPDS (1998) também mostrou que ocorre uma piora progressiva da função da célula β pancreática, independente do tipo de tratamento, e que após nove anos de tratamento apenas 25% dos diabéticos continuam a responder a monoterapia, necessitando da conjugação de múltiplos recursos para melhor controle glicêmico.

Apesar dos fármacos atualmente utilizados no tratamento do DM apresentarem efeitos eficazes no controle da glicemia, nenhum deles aborda a preservação/regeneração das células β das ilhotas de Langerhans. A caracterização de um princípio ativo vegetal que venha a exercer um efeito protetor direto ou indireto sobre as células produtoras do hormônio insulina representaria uma nova classe de medicamentos (Ferreira, 2008).

Sendo assim, neste trabalho efetuaram-se ensaios laboratoriais em ratos com diabetes induzido por aloxano e sob influência do liofilizado dos frutos de *Momordica charantia* L. (MC), visando detectar alterações nos níveis sanguíneos do polipeptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1), um hormônio secretado pelas células L intestinais e que demonstra propriedades estimulatórias para a secreção de insulina juntamente com características antiapoptóticas em células β pancreáticas. Investigar também o comportamento do perfil lipídico e a atividade das enzimas alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase em amostras sanguíneas dos animais sob influência do liofilizado em pó dos frutos de MC.

2. Revisão da Literatura

2.1. Regulação da Glicemia

A glicemia é regulada basicamente através da ação de dois hormônios produzidos nas ilhotas pancreáticas de Langerhans: a insulina e o glucagon, que promovem o ajuste da homeostasia da glicose. Em pessoas saudáveis, a ação do glucagon é de estimular a produção de glicose pelo fígado e a ação da insulina é de bloquear essa produção e aumentar a captação da glicose pelos tecidos periféricos insulino-sensíveis, como o músculo esquelético e o tecido adiposo. No estado normal de jejum, pequenos aumentos na glicemia levam a supressão da produção de glucagon e aumento da produção de insulina, enquanto as hipoglicemias levam a um aumento na glucagonemia e redução na insulinemia. A integridade desse sistema é fundamental para a saúde metabólica. No jejum e no estado pré-prandial, o consumo de glicose pelos tecidos pode ser distribuído da seguinte forma: sistema nervoso central (50 %), músculo (25 %) e o restante pelos tecidos esplâncnicos (25 %) (Dinneen et al., 1992; Gavin III Jr., 2001).

A principal ação da insulina é estimular o desaparecimento da glicose, pois a insulina controla os níveis de glicose pós-prandial, sinalizando para que células sensíveis à insulina, como o músculo esquelético, aumentem a captação da glicose. A insulina também estimula o fígado a promover a glicogênese servindo, assim, como manutenção de glicose estocada para os períodos de jejum. Adicionalmente, a insulina inibe simultaneamente a secreção de glucagon pelas células alfa pancreáticas sinalizando, assim, para que o fígado, no estado pós-prandial, interrompa a produção de glicose via glicogenólise e neoglicogênese (Ferreira, 2008).

Durante as primeiras horas de jejum, o principal mecanismo pelo qual a glicose torna-se disponível como fonte energética é a glicogenólise. A presença do glucagon e a diminuição dos níveis de insulina facilitam este processo e promovem o aparecimento da glicose na circulação. Após longos períodos de jejum, o mecanismo fisiológico que mantém a glicemia é a neoglicogênese, processo que ocorre predominantemente no fígado e aqui também é induzido pela diminuição da insulina (pelo jejum) e pelo aumento do glucagon (Bruce et al., 1987).

A condição de jejum normal é caracterizada por níveis mais elevados de glucagon e baixos de insulina, em conjunto com níveis fisiológicos de hormônios gastrointestinais como o polipeptídeo insulínico glicose-dependente (GIP) e o polipeptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1). Tal equilíbrio resulta em uma produção aumentada de glicose pelo fígado e pelo rim, redução na captação periférica de glicose e aumento na proteólise muscular e na lipólise adipocitária. Esse conjunto de ações sincronizadas mantém a glicemia entre 70 e 100 mg/dL, os ácidos graxos livres (produto da lipólise) entre 300 e 400 $\mu\text{mol/L}$ e os triacilgliceróis abaixo de 125 mg/dL. Indivíduos com DM apresentam redução na ação e produção de insulina, resultando em aumento na glicemia, ácidos graxos livres, triacilgliceróis e nos aminoácidos no estado de jejum (Gavin III Jr., 2001; Lebovitz, 2001).

Após uma alimentação balanceada, há um aumento fisiológico normal na glicemia, com incremento de até 50 mg/dL, não ultrapassando 140 mg/dL. Esse aumento depende da quantidade de glicose ingerida e da produção endógena de glicose. Nesse momento, o pâncreas libera uma quantidade maior de insulina, que suprime a produção de glucagon e, conseqüentemente, reduz a gliconeogênese hepática. Concomitantemente, há aumento na captação da glicose pelo músculo e tecido adiposo. Esse processo depende de uma ação eficaz da insulina em seus receptores celulares, e essa resposta metabólica leva também ao retorno dos níveis de lipídeos e aminoácidos ao estado basal. Hormônios gastrointestinais como GIP e o GLP-1 participam desse processo, modulando o apetite, o esvaziamento gástrico, a produção de glucagon e insulina e, eventualmente, até influenciando diretamente a captação de glicose pelos tecidos (Meyer et al., 2004).

2.2. Fisiopatologia da Hiperglicemia Pós-prandial

A excursão glicêmica normal depende de uma complexa ação de hormônios pancreáticos e gastrointestinais. A hiperglicemia é causada pela presença de defeitos na produção (redução da secreção insulínica) e na ação da insulina (resistência à insulina). A relativa importância da resistência à insulina nos pacientes diabéticos é sabidamente mais relevante em razão da presença de obesidade e da distribuição centrípeta de gordura, pelo fato de dificultar a ação insulínica por diminuir o número de transportadores de glicose ativos. No entanto, em trabalhos nos quais se fez o ajuste da secreção e ação insulínica pelo grau e distribuição da adiposidade, a secreção deficitária

de insulina mostrou-se mais importante (Yaney et al., 2003). O tratamento do diabetes costuma ser mais eficaz quando os dois mecanismos fisiopatológicos são abordados conjuntamente.

A hiperglicemia ocorre pela dificuldade da célula β em compensar a resistência à insulina, com uma resposta secretória deficiente ao estímulo glicêmico. Esse quadro se apresenta tanto no início do processo como também no possível mecanismo de exaustão da célula β inerente à própria evolução da doença. Entretanto, modelos animais com ausência (“knock-out”) de receptor de insulina na célula β pancreática, ou seja, em que há resistência à ação da insulina na própria célula que a produz, apresentam perda da primeira fase de secreção de insulina e têm como achado clínico inicial a hiperglicemia pós-alimentar (Kulkarni et al., 1999)

A hiperglicemia pós-prandial crônica pode levar a um estado de glicotoxicidade que se caracteriza pela redução progressiva da secreção da célula β , ou a perda progressiva da função glicostática do pâncreas, que leva a um agravamento progressivo do estado hiperglicêmico (Mckillop et al., 2002).

O conhecido processo de glicação aumentada no diabetes, pelo qual a glicose liga-se de maneira não-enzimática com diversas proteínas formando produtos glicosilados e habitualmente avaliados pela presença de níveis aumentados de hemoglobina glicosilada (A1c), também ocorre no interior da célula β , nos grânulos de insulina, levando a secreção de insulina glicosilada, que apresenta uma atividade biológica reduzida. Assim, a glicotoxicidade na célula β também deve contribuir para a resistência à ação da insulina (Mckillop et al., 2002).

Em seguida a ingestão alimentar, alguns hormônios são produzidos e secretados por células intestinais e estimulam a secreção de insulina, sendo conhecidos como incretinas. Há vários hormônios pós-prandiais, os mais importantes são o polipeptídeo insulínico glicose-dependente (GIP) e o polipeptídeo semelhante ao glucagon -1 (GLP-1).

O alinhamento entre ingestão alimentar e secreção de insulina é um mecanismo preciso e intrigante. Esse sincronismo é acoplado a uma fase cefálica de secreção de insulina que antecede a ingestão alimentar, sendo pequena em termos absolutos, mas diretamente relacionada à quantidade total de insulina secretada logo após o início da ingestão alimentar (Bruce et al., 1987). Em resposta a uma sobrecarga intravenosa ou oral de glicose existe uma secreção bifásica de insulina, caracterizada por um pico inicial entre cinco e sete minutos. Essa primeira fase de secreção dura até dez ou quinze

minutos e é seguida por uma secreção prolongada em níveis mais baixos, usualmente durante até quatro horas, até que o nível de glicose retorne ao valor basal normal. Aproximadamente 1% do conteúdo da célula β é secretado na primeira fase, e mais 10% são secretados na segunda fase (Bruce et al., 1987).

Em indivíduos com DM do tipo 2 a primeira fase de secreção está virtualmente perdida. Um estudo prospectivo com os índios pima do Arizona, que evoluíram da normalidade ao diabetes ao longo de cinco anos de acompanhamento, revelou que a passagem do estado normal ao estado de intolerância à glicose e, posteriormente, ao diabetes, esteve relacionada ao ganho de peso, à piora da sensibilidade a insulina e à deterioração da primeira fase de secreção de insulina (Weyer et al., 1999). Em resumo, o dano ocorrido na primeira fase é um evento crucial no defeito secretório ligado à origem do diabetes, relacionando-se com a intolerância à glicose e com a hiperglicemia pós-prandial (Del Prato et al., 2002).

2.3. Influência da Hiperglicemia Pós-prandial

A elevação da glicemia pós-prandial pode estar presente mesmo em condições de glicemia de jejum normal, constituindo um dos estágios iniciais do DM. Esse estágio contribui para o desenvolvimento das complicações precoces micro e macrovasculares, além de acelerar o processo de progressão para o diabetes sintomático através da glicotoxicidade periférica e também da célula β (Woerle et al., 2004). A caracterização inicial da hiperglicemia pós-prandial e seu controle efetivo constituem um potencial alvo terapêutico para a prevenção das complicações crônicas do diabetes. De acordo com os consensos mais recentes a glicemia pós-prandial deve ser mantida abaixo de 140 mg/dL para a prevenção das complicações macrovasculares do diabetes, como a doença arterial coronariana (American College of Endocrinology Consensus Statement on Guidelines for Glycemic Control, 2002).

2.4. O Diabetes mellitus

Trata-se de uma patologia de caráter endócrino caracterizada por altas concentrações de glicose na corrente sanguínea (hiperglicemia) decorrente da falta de produção da insulina e/ou incapacidade desta em exercer adequadamente sua função nos tecidos alvo (De Fronzo, 2004).

Apresenta-se como um grupo de transtornos hiperglicêmicos, que afetam o metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas e estão associados com uma deficiência absoluta ou relativa na secreção e/ou ação da insulina (Rao et al., 2001).

Na forma mais comum da doença, o DM do tipo 2, as etiologias ainda não estão estabelecidas. Há um componente genético, ainda mal definido, e a obesidade, a inatividade física e o envelhecimento desencadeiam ou aceleram o aparecimento da doença. O DM do tipo 2 parece ser poligênico, com polimorfismos que devem facilitar a instalação da resistência à insulina, bem como a redução de massa de células β . No paciente com DM do tipo 2 a hiperglicemia e outras alterações metabólicas agravam a resistência e pioram a secreção de insulina, dificultando a investigação da seqüência patogênica nessa forma de diabetes (Velloso et al., 2008).

A incapacidade da célula β em responder a crescente demanda periférica de insulina, observada durante a evolução progressiva da insulino-resistência em indivíduos intolerantes à glicose é aceita hoje como o fenômeno determinante no desenvolvimento do DM do tipo 2. Alguns fatos corroboram tal conceito. Todos os pacientes com DM do tipo 2 tem disfunção mensurável da célula β ; segundo, a deterioração da função da célula β é progressiva; terceiro, há perda progressiva da resposta da célula β à terapêutica com sulfoniluréias (Cnop et al., 2005).

Conforme mencionado, a hiperglicemia do DM do tipo 2 resulta de dois mecanismos básicos, a resistência periférica à ação da insulina e a deficiência da produção deste hormônio pelas células β do pâncreas. A perda de função da célula β é um fator que aparece precocemente no desenvolvimento do DM do tipo 2. Em condições normais, a secreção insulínica ocorre em dois picos ao se iniciar uma refeição: o primeiro pico é necessário para a utilização da glicose proveniente da refeição e também para sinalizar ao fígado e inibir a produção endógena de glicose logo após a refeição. No indivíduo sadio, as duas fases de secreção de insulina estão preservadas enquanto no portador de DM, há perda da primeira fase e atraso na segunda fase deste processo (Velloso et al., 2008).

O entendimento sobre o diabetes como uma doença metabólica evoluiu consideravelmente após a descoberta da insulina, em 1920. A insulina foi identificada como um hormônio regulador dos níveis circulantes da glicose e DM foi considerado como uma doença da secreção deste hormônio, uma vez que sua aplicação diminuía os níveis da glicose e tem sido utilizada até hoje como base do tratamento do diabetes. Após o advento do radioimunoensaio e a capacidade de se medir os níveis de insulina,

foi identificado um grupo de pacientes com diabetes que tinha níveis elevados de insulina, resultando no conceito de resistência à insulina, que é uma das bases para se entender a fisiopatologia do diabetes tipo 2. Nesse período também, os estudos de fisiologia revelaram que outros hormônios tinham efeitos glicoregulatórios e que vários hormônios contribuíam para a homeostase da glicemia. Nos anos 50, constatou-se que o glucagon era o principal estímulo para a produção hepática da glicose. Essa descoberta levou a um entendimento das relações entre insulina e glucagon, permitindo, assim, o conceito do diabetes como doença bi-hormonal (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2007).

Entendemos hoje que o nível de glicemia é função do equilíbrio ou do desequilíbrio entre a velocidade de entrada e a taxa de remoção da glicose na circulação. A glicose circulante é derivada de três fontes: 1) absorção intestinal após a alimentação; 2) glicogenólise que é a transformação das reservas de glicogênio hepático em glicose; 3) neoglicogênese que é a produção de glicose via substrato não carboidrato, particularmente lactato, aminoácidos e glicerol. Assim, a insulina e o glucagon são potentes reguladores do metabolismo da glicose e, por décadas, o diabetes passou a ser considerado como uma doença bi-hormonal. No entanto, esta perspectiva é incompleta e inadequada para explicar algumas das dificuldades de se manter um controle adequado das concentrações de glicose em pacientes com diabetes (Ferreira, 2008).

2.5. As Incretinas

Nos anos 70 vários hormônios intestinais foram identificados e um deles, o GLP-1, foi reconhecido como outro importante contribuinte para a manutenção da glicemia. Assim, passou-se a entender o processo glicoregulatório como resultado da interação com outros hormônios e particularmente a relação dos hormônios pancreáticos (insulina e glucagon) com hormônios intestinais e o diabetes passou a ser visto com uma doença multi-hormonal (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2007).

Em indivíduos fisiologicamente saudáveis, após a ingestão de alimentos, a digestão e a absorção dos nutrientes estão associadas a um aumento na secreção de vários peptídeos intestinais cujas ações se fazem à distância, em locais que promovem a utilização e estocagem da energia. Esses hormônios peptídicos são sintetizados por células enteroendócrinas especializadas localizadas no epitélio do estômago, intestino

delgado e intestino grosso e são secretadas em baixos níveis basais no estado alimentado (Drucker, 2007).

Os níveis sanguíneos dos hormônios intestinais elevam-se rapidamente alguns minutos após a ingestão de alimentos e em seguida diminuem rapidamente principalmente porque são inativados enzimaticamente. Os hormônios intestinais ativam circuitos nervosos de comunicação com tecidos periféricos como o fígado, músculo, tecido adiposo e as ilhotas de Langerhans do pâncreas, coordenando globalmente a quantidade e a assimilação da energia pelo animal. As incretinas, representadas pelos hormônios gastrointestinais, polipeptídeo inibitório gástrico (GIP) e polipeptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), causam um aumento da quantidade de insulina liberada pelas células β das ilhotas e têm seus níveis sanguíneos aumentados após as refeições, estimulando a liberação de insulina pelas células β das ilhotas de uma maneira glicose dependente (Drucker, 2006).

Realmente, há uma resposta insulínica aumentada à glicose oral quando confrontada à infusão intravenosa de glicose, e esse fenômeno é conhecido como efeito incretina, o qual contribui com 30% a 60% da secreção pós-prandial de insulina. Em pacientes diabéticos, existe uma discreta redução dos níveis pós-prandiais de GIP e uma intensa redução nos níveis de GLP-1, contribuindo para a insuficiência na secreção insulínica nesses indivíduos (Visboll et al., 2004).

2.5.1. O Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon-1

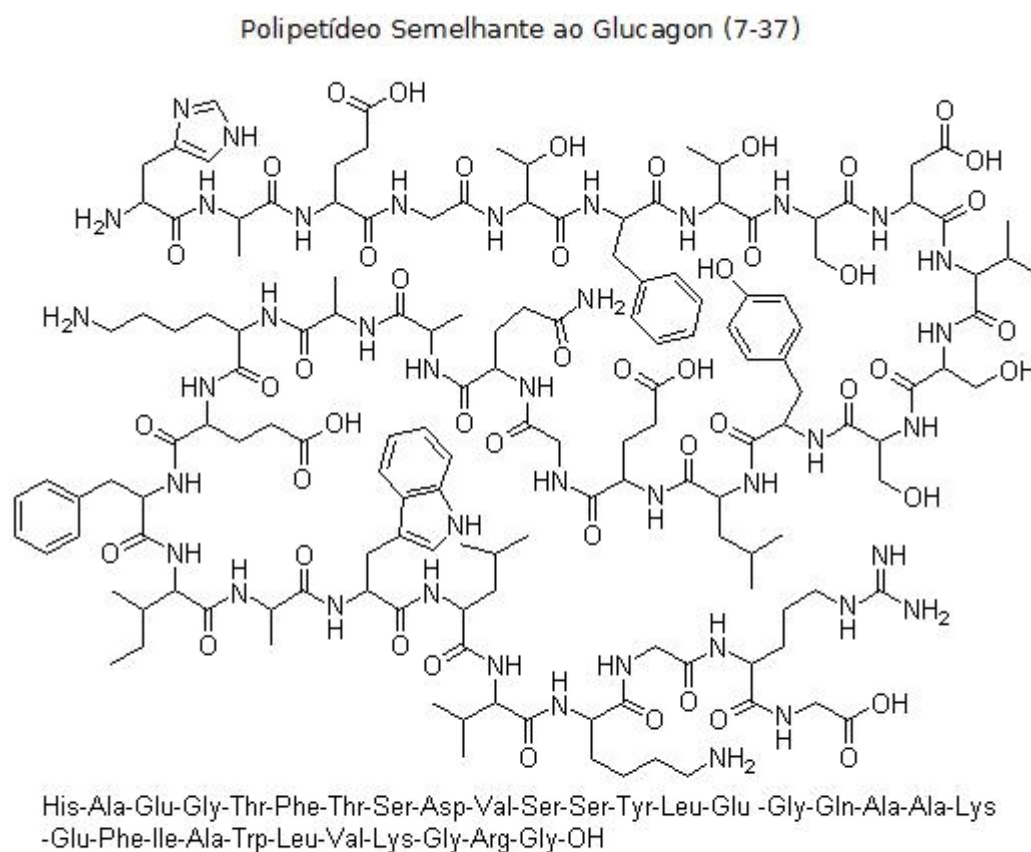
Trata-se de um polipeptídeo liberado no jejuno proximal, médio distal e ainda no íleo. A liberação de GLP-1 tem início aproximadamente aos 60 cm após o Ligamento de Treitz (Little et al., 2006) sendo estimulada pela ingestão de glicose e ácidos graxos, sofrendo um maior estímulo pelos alimentos líquidos (Brynes et al., 1998). A liberação desse hormônio é bifásica, inicia-se 10 a 15 minutos após a ingestão dos alimentos, e num segundo momento, há uma fase mais longa entre 30 e 60 minutos (Drucker, 2007).

A glicose exerce grande efeito sobre a liberação de GLP-1. Kuo et al. (2008) demonstraram que a administração de glicose, diretamente no duodeno, produziu a liberação de GLP-1 atingindo máxima concentração em 15 minutos, permanecendo elevada por 30 minutos, voltando aos níveis basais após 45 minutos. Um estudo realizado com ratos GotoKakizaki (GK) Diabéticos Tipo 2 (DMT2) e ratos Wistar não diabéticos do tipo 2 (NDMT2), mostra que a infusão de glicose produz a liberação de

GLP-1 que provoca uma rápida e intensa liberação de insulina, principalmente nos DMT2 (Edholm, et al., 2008).

A estrutura do GLP-1 é constituída de 37 resíduos de aminoácidos, contudo sua estrutura biologicamente ativa se apresenta como GLP-1 (7-36 NH₂) e GLP-1 (7-37) (Figura 2), que consiste em polipeptídeos de 30 e 31 resíduos de aminoácidos respectivamente. A maior parte da secreção de GLP-1 se apresenta como GLP-1 (7-37) (Holst e Orskov, 2001).

Figura 2 – Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon-1 (7-37) (Adaptada de ChEMBL, 2010).



Nome Humano	GLP-1 (7-37)
Fórmula Molecular	C ₁₅₁ H ₂₂₈ N ₄₀ O ₄₇
Número de Registro (CAS)	106612-94-6

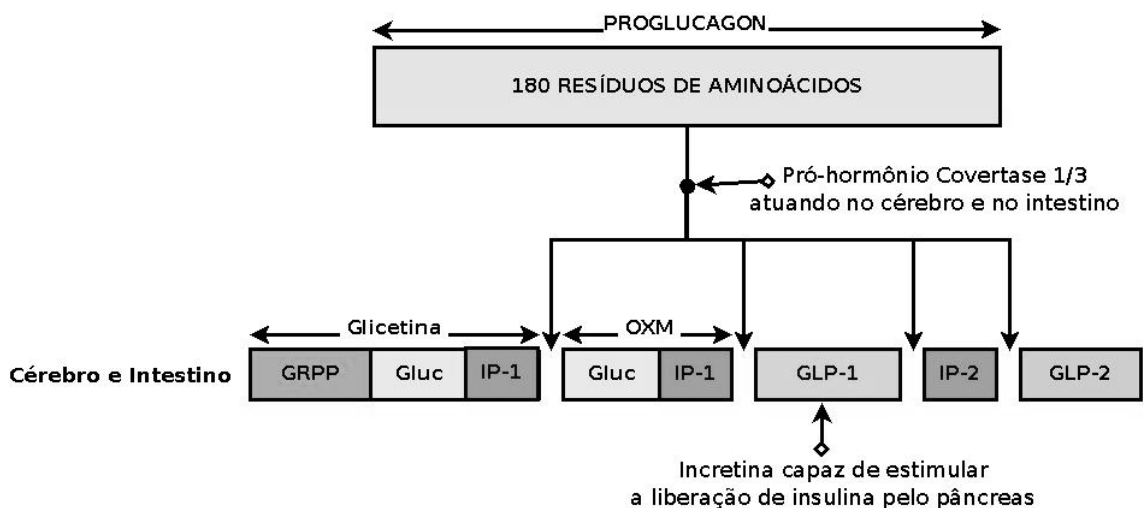
O mRNA do GLP-1 é transcrito em uma única forma com 180 aminoácidos nos diferentes tecidos. Seu processamento é realizado por enzimas denominadas pró-hormônio convertase (PC) que realizam a clivagem de um resíduo de arginina do

peptídeo inicial, fazendo com que ele se transforme em um peptídeo bioativo com ação específica para cada tecido.

Muitos peptídeos bioativos são gerados através da transformação proteolítica de seus precursores. O GLP-1 é ativado através do processamento pós-transcricional. Esse processo é realizado pela enzima pró-hormônio convertase 1/3 (PC 1/3) que faz parte da família de enzimas intracelulares serinaendoproteases, que age clivando resíduos de aminoácidos básicos dos pró-hormônios (Ugheholdt et al., 2004). A produção do GLP-1 ativo é completamente dependente da PC1/3 (Zhu et al., 2002; Ugheholdt et al., 2004; Ugheholdt, 2006). Assim, a deficiência dessa enzima pode acarretar a falta dessas incretinas bioativas, resultando na diminuição da ação incretínica. Ugheholdt e colaboradores (2004), demonstram que camundongos deficientes em PC1/3 apresentam acúmulo de proglucagon em grânulos secretores nas células L intestinais.

Nas células L do intestino e também no sistema nervoso central a enzima que atua é a isoforma PC1/3 (Drucker, 2006). Há o processamento do proglucagon liberando GLP-1, glicentina, oxintomodulina, peptídeo de intervenção-2 (IP-2) e GLP-2 (Figura 3). Mas apenas o GLP-1 é capaz de estimular uma liberação considerável de insulina pelo pâncreas (Dhanvantari et al., 2001).

Figura 3 – Processamento tecido específico pós-transcrição do proglucagon no cérebro e no intestino levando à geração de glicentina que é formada pelo polipeptídeo derivado da glicentina (GRPP), glucagon (gluc) e peptídeo de intervenção-1 (IP-1) e oxintomodulina (OXM) que é formada pelo glucagon e peptídeo de intervenção-1, além da formação do peptídeo de intervenção-2 (IP-2), GLP-1 e GLP-2 (Figura adaptada de Baggio e Drucker, 2007).



Muitas isoformas de PC já foram descritas, mas apenas a PC2 e a PC1/3 tem papel importante no processamento do proglucagon (Ugleholdt et al., 2006).

O gene que codifica o GLP-1 (proglucagon) está localizado no cromossomo 2, sendo constituído por 6 éxons e 5 íntrons (White, 1986). O gene do proglucagon é expresso em uma variedade de tecidos, entre eles as células α do pâncreas, íleo, cólon e reto (Novak et al., 1987), neurônios localizados no hipotálamo e região do tronco cerebral que recebem as sinalizações do intestino (Edholm et al., 2008).

A ação do GLP-1 sobre as células pancreáticas compreende: aumento da expressão gênica e da biossíntese de insulina; efeito trófico e protetor sobre as células β aumentando a sua proliferação e reduzindo a apoptose (Drucker, 2006).

O GLP-1 através do seu efeito insulínico regula os níveis de glicose sanguínea, diminuindo a secreção de glucagon e a produção de glicose hepática (Sandoval et al., 2008). Além disso, o GLP-1 está envolvido no esvaziamento gástrico por vias neuronais. Esse fenômeno chama-se “ileal brake”, os nutrientes presentes na parte distal do intestino delgado sinalizam uma redução da motilidade do intestino delgado proximal (Gautier et al., 2005). Assim ocorre um melhor aproveitamento da glicose sanguínea pelos tecidos, indicando um sinal de saciedade que resulta em uma diminuição da ingestão de alimentos (Edholm et al., 2008). A ação do GLP-1 é inativada rapidamente em humanos pela enzima dipeptidil peptidase IV (DPP-IV).

2.5.2. O Polipeptídeo Insulínico Dependente

Outro hormônio intestinal importante é o polipeptídeo insulínico dependente (GIP). GIP é expresso predominantemente no estômago e nas células K na parte proximal do intestino delgado. A secreção do GIP é estimulada pela ingestão de nutrientes e em razão do nutriente absorvido; as gorduras são um potente estimulador em humanos, entretanto em outras espécies, os carboidratos são secretagogos mais efetivos (Yip et al., 1998).

A ação dominante do GIP é a estimulação da secreção da insulina de forma glicose dependente. O efeito é mediado através da elevação da concentração intracelular do AMPc e inibição dos canais de potássio ATP dependentes, o que induz a exocitose da célula β (Gromada et al., 1998). GIP também promove a biossíntese da insulina e exibe atividade semelhante ao fator de crescimento em células β in vitro durante

ativação por AMPc/proteína quinase A, MAPK-dependente e PI3K-dependente (Trumper et al., 2001).

Kim et al. (2005) demonstraram que o GIP também ativa vias antiapoptóticas em células da ilhota estudadas *in vitro* e a contínua infusão de GIP estimulou a sobrevivência de células β de roedores, através da diminuição da expressão da proteína proapoptótica BAX e do aumento da expressão da proteína antiapoptótica BCL2.

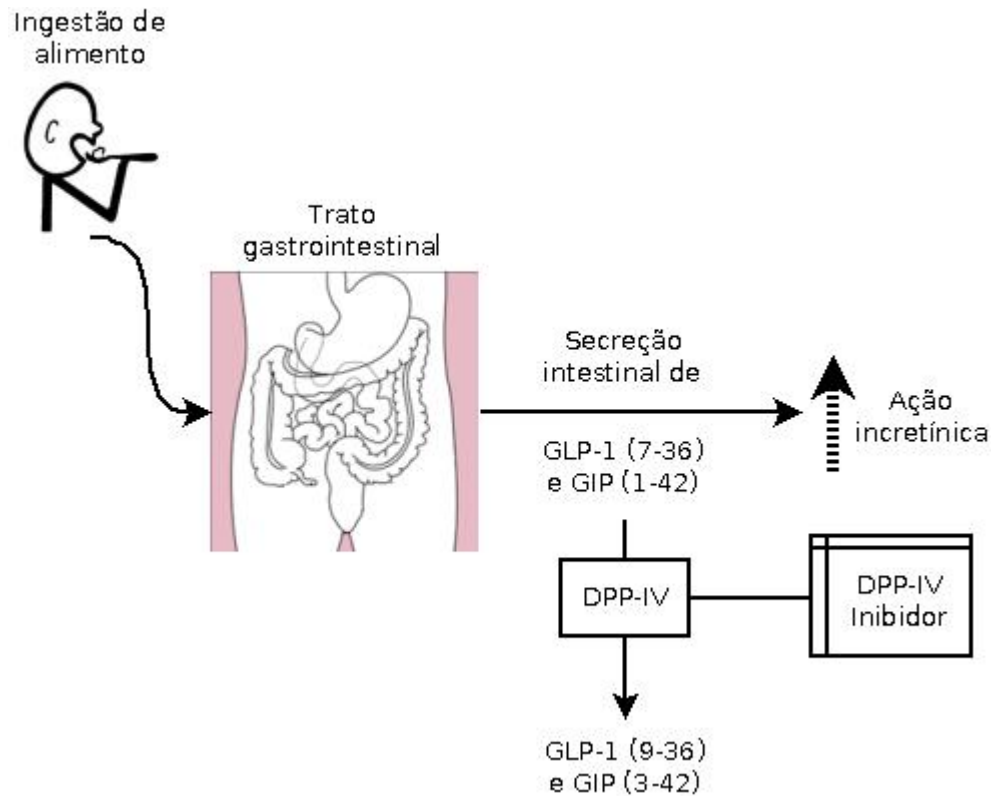
A importância biológica do GIP endógeno no controle da homeostase da glicose é bem determinada quando se experimenta antagonista do GIP, imunoneutralização da atividade do GIP ou ratos desprovidos de receptores para o GIP. A diminuição ou a eliminação da ação do GIP, usando qualquer um dos três procedimentos citados, resulta em uma secreção deficitária de insulina após a administração oral de glicose (Tseng et al., 1996; Miyawaki et al., 1999).

2.6. A Dipeptidil Peptidase IV

Dipeptidil peptidase IV (EC 3.4.14.11), também conhecida como CD26, é uma enzima do tipo serinaprotease que cliva especificamente dipeptídeos a partir do amino terminal de oligopeptídeos ou proteínas que contenham um resíduo de alanina ou prolina na posição dois, modificando sua atividade (De Meester et al., 1999). A dipeptidil peptidase IV (DPPIV) é essencial na inativação das incretinas GIP e GLP-1 (Figura 4), regulando a ação desses hormônios intestinais na homeostase pós-prandial da glicose, mantendo os efeitos funcionais do eixo enteroinsular (De Meester et al., 1999).

Ambos, GIP e GLP-1, são substratos para a DPPIV, pois possuem na penúltima posição um resíduo de alanina. O GIP (1-42) é clivado pela DPPIV, gerando GIP (3-42) inativo. Em humanos, GLP-1 (7-36 NH₂) ou (7-37) bioativos, podem ser inativados pela DPPIV produzindo GLP-1 (9-36) e (9-37), respectivamente (Drucker, 2007). Por esse motivo, inibidores de DPPIV são muito estudados como tratamento para o DM. Bloqueando a atividade da enzima há um aumento dos níveis sanguíneos das incretinas GIP e GLP-1, aumentando o estímulo para a secreção de insulina e diminuindo a glicose sanguínea após as refeições (Holst et al., 2009).

Figura 4 - GLP-1 e GIP bioativos são liberados no intestino delgado após a ingestão de alimentos, estimulando a secreção de insulina. DPPIV converte rapidamente GIP e GLP-1 para os seus metabólitos inativos. A inibição da atividade de DPPIV impede a degradação de GLP-1 e de GIP, aumentando assim a ação das incretinas (Figura adaptada de Baggio e Drucker, 2007).



Essa enzima também se liga ao colágeno e adenosina deaminase, aumentando a proliferação e ativando as células T. Yamada e colaboradores (2009), mostram que CD26/DPPIV tem um papel importante na proliferação e sobrevivência de células cancerígenas.

A enzima DPPIV é amplamente expressa e pode ser encontrada em vários tecidos e tipos celulares, incluindo rins, pulmão, glândula adrenal, fígado, intestino, testículos, pâncreas e sistema nervoso central, bem como sobre a superfície de linfócitos e macrófagos. Notavelmente, a DPPIV também é encontrada nos vasos sanguíneos da mucosa intestinal, que estão posicionados adjacentes aos sítios de secreção de GLP-1. Consequentemente, mais da metade do GLP-1 é rapidamente inativado pela DPPIV após entrar na circulação. Além da forma ligada na superfície da célula, essa enzima também é encontrada como proteína solúvel na circulação (Drucker, 2007).

2.7. O *Diabetes mellitus* e o Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon-1

A melhor compreensão da biologia da incretina levou à identificação de novas estratégias terapêuticas para o tratamento do DM. O hormônio incretina predominante, o polipeptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1), é secretado pelas células enteroendócrinas L e liga-se aos receptores de GLP-1 na superfície das células β . Esses receptores são conectados a uma via de transdução de sinais que, quando ativada, resulta no aumento da biossíntese e da secreção da insulina, aumentando assim a função da ilhota. A ativação do receptor de GLP-1 também resulta na expressão de proteínas e genes específicos que aumentam a proliferação e reduzem a apoptose de células β . Os agentes terapêuticos clássicos para o diabetes não ativam essas vias (Forti, 2006).

Segundo “American College of Endocrinology Consensus Statement on Guidelines for Glycemic Control” (2002), o objetivo do controle do diabetes é prevenir as complicações agudas e crônicas da doença, inclusive as macro e microvasculares. Estudos clínicos mostraram que uma redução de 1% na hemoglobina glicada A1c, usada como medida do controle glicêmico em longo prazo reduz as complicações microvasculares em 30% a 35%. Entretanto, os estudos também revelaram que a grande maioria dos portadores de diabetes não consegue atingir metas aceitáveis no que se refere à A1c. No ano 2000, dados do “National Health and Nutrition Examination Survey” mostraram que somente 37% dos participantes tinham atingido níveis de A1c inferiores a 7% (Saydah et al., 2004).

Embora os efeitos diretos do GLP-1 sobre as células β sejam mediados pela interação com os receptores de GLP-1, muitos outros efeitos da incretina são mediados por vias indiretas. As ativações das vias vagais ascendentes interligam os centros no sistema nervoso central, o que acaba resultando na comunicação com o pâncreas, o fígado e os tecidos periféricos, tais como músculos e gordura (Drucker, 2003).

Os níveis de GLP-1 são baixos no estado de jejum e aumentam pela ingestão de uma refeição mista ou refeições ricas em gorduras e carboidratos. Sua secreção age também diminuindo os níveis de glucagon e diminuindo o esvaziamento gástrico. A diminuição do glucagon ocorre apenas no estado pós-prandial e não afeta a ação do glucagon na manutenção da glicemia no estado de jejum. Sua ação diminuindo o esvaziamento gástrico contribui para a diminuição da elevação da glicemia no estado pós-prandial (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2007).

A ação de redução da glicemia do GLP-1 está associada aos mecanismos normais de controle utilizados pela célula beta e alfa para regular sua secreção. A infusão de GLP-1 leva à diminuição progressiva da glicemia até a sua normalização, associada ao aumento da secreção de insulina e a supressão da secreção do glucagon, como dito anteriormente. Contudo, à medida que a glicemia retorna ao normal, vão diminuindo os efeitos na secreção e na supressão do glucagon, mecanismos que, segundo se acredita, diminuem a chance de hipoglicemia. Portanto, a resposta ao GLP-1 é distinta da resposta aos atuais secretagogos das classes das sulfoniluréias ou das glinidas, que continuam estimulando a secreção de insulina mesmo quando a glicemia volta ao normal (Nauck et al., 1993).

Rachman et al. (1997) demonstraram a eficácia da administração intravenosa contínua de GLP-1 no tratamento do DM. O GLP-1 reduziu de forma significativa as excursões glicêmicas diurnas nos estados de jejum e pós-prandial, fazendo com que as glicemias durante o dia praticamente retornassem aos valores dos controles. Um estudo de destaque que ressaltou a utilidade do GLP-1 foi conduzido em pacientes DM que receberam GLP-1 continuamente por 6 semanas. Os pacientes que participaram do estudo tinham sido diagnosticados há 4,6 anos em média, com nível médio de A1c de 9,1% e índice de massa corporal de 33,5 kg/m². Os pacientes receberam infusão subcutânea contínua (24 horas por dia, 7 dias por semana) de GLP-1 ou solução salina durante 6 semanas via uma bomba de insulina portátil. Aqueles que receberam GLP-1 apresentaram melhora significativa e sustentada na glicemia de jejum e pós-prandial em comparação com os que receberam solução salina. Além disso, o tratamento com GLP-1 foi acompanhado de significativa redução no peso corporal total e nos níveis de A1c, bem como na melhora da sensibilidade a insulina e da função das células β . Portanto, o GLP-1 não apenas estimulou a secreção de insulina pelas células β como também reprogramou as células β defeituosas para torná-las mais sensíveis à glicose (Zander et al., 2002). Esse estudo de Zander e colaboradores (2002), também demonstrou a viabilidade da administração crônica de GLP-1, que foi estendida para até 3 meses sem redução significativa da resposta clínica. Até a data desse estudo, nenhuma taquifilaxia ou dessensibilização de receptores foi observada com a administração crônica de GLP-1.

Pacientes com diabetes apresentam uma diminuição dos níveis de GLP-1 no estado pós-prandial, o que contribui para o quadro clínico do diabetes, pois diminui o estímulo fisiológico da secreção de insulina e não contribui para a supressão do

glucagon. (Meneilly et al., 2003). Esses e outros estudos fornecem dados importantes que justificam a abordagem de tratamento do DM com GLP-1.

O que inviabiliza o uso terapêutico do GLP-1 é a sua vida média plasmática extremamente curta (menor que 3 min) devida à sua rápida inativação pela enzima dipeptidil peptidase 4 (DPPIV). Para contornar essa limitação foram desenvolvidas três estratégias: o desenvolvimento de agonistas do receptor do GLP-1 como, por exemplo, a exenatida (Byetta®), a síntese de análogos do GLP-1 resistentes à inativação enzimática, como o liraglutida, e a criação de agentes inibidores da DPPIV. Tanto os agonistas quanto os análogos do GLP-1 têm demonstrado sua eficácia na terapêutica sem causar hipoglicemia, mas apresentam o inconveniente de serem drogas injetáveis. Os inibidores da DPP-IV são ativos por via oral, mas podem interferir na ação de outros peptídeos que também são degradados por esta enzima. Em conjunto, essas estratégias terapêuticas são denominadas como “baseadas em incretinas” e se constituem em um desenvolvimento promissor no tratamento do diabetes (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2007).

2.8. O *Diabetes mellitus* e as Alterações Lipídicas

Vários estudos prospectivos vêm mostrando que no DM o risco de doença coronária está aumentado de três a quatro vezes. Além disso, pacientes com diabetes tem um risco de mortalidade hospitalar 50% maior e um risco duas vezes maior de morte após um infarto agudo do miocárdio em um período de dois anos (Clinical Practice Recommendations, 2007).

Pacientes diabéticos podem apresentar anormalidades nas concentrações de lipídeos e lipoproteínas plasmáticas, que são menos comuns em não diabéticos, independente da presença dos fatores de risco da doença cardiovascular que são bem conhecidos. O padrão lipídico mais comum encontrado nos pacientes diabéticos é a elevação dos triglicerídeos e uma diminuição nos níveis do HDL colesterol. A concentração média dos níveis de LDL colesterol não é significativamente diferente dos não diabéticos, porém alterações qualitativas na partícula da LDL podem estar presentes. Em particular pacientes com diabetes, tendem a ter uma grande proporção das partículas pequenas e densas da LDL, que são mais suscetíveis à oxidação podendo levar a um aumento do risco cardiovascular (Clinical Practice Recommendations, 2007).

O caráter tóxico da hiperglicemia sobre a célula β manifesta-se pela redução da expressão do gene de insulina, redução do processamento da pró-insulina e deposição de material amilóide com um aumento do processo de apoptose. Tais mecanismos estão acentuados na concomitância de um aumento da lipemia pós-prandial (triacilgliceróis e ácidos graxos livres) por um mecanismo conhecido como lipotoxicidade (Poitout et al., 2002).

Acredita-se que a obesidade, especialmente abdominal, seja um dos mecanismos agravantes, tanto para o desenvolvimento de DM, como para as doenças cardiovasculares, uma vez que ambos têm fatores comuns como a resistência à insulina, hipertensão arterial e dislipidemia. A observação da concomitância destes fatores de risco é que levou à conceituação e definição da síndrome metabólica (Grundy et al., 2004).

É particularmente a obesidade de distribuição abdominal que mais se associa à geração de resistência à insulina. O grande aporte de ácidos graxos livres ao sistema porta, oriundos da gordura visceral, provoca alterações enzimáticas e metabólicas no tecido hepático. A resistência à insulina no fígado determina a hiperinsulinemia, os distúrbios de lipoproteínas típicos da síndrome metabólica (HDL-colesterol baixo, hipertrigliceridemia e partículas pequenas e densas de LDL-colesterol), e aumento da produção de proteína C reativa, marcador de inflamação subclínica (Kahn et al., 2005).

O tecido adiposo visceral também é fonte de adipocitocinas que deterioram a sensibilidade à insulina (como o TNF-alfa), provoca distúrbios da fibrinólise (aumento de PAI-1) e da adesão de moléculas ao endotélio, além de favorecer a elevação da pressão arterial (angiotensinogênio). Por outro lado, o acúmulo de gordura visceral provoca redução de uma adipocina que melhora a sensibilidade à insulina - a adiponectina. Esta teoria dos ácidos graxos livres também explica a resistência à insulina em tecidos periféricos (musculatura esquelética) nos quais os ácidos graxos competem com a glicose como substrato energético (Hanley et al., 2004).

Como a obesidade é um dos fatores desencadeantes e/ou agravantes do DM do tipo 2, o efeito redutor do apetite é benéfico em pacientes obesos ou com sobrepeso. De fato, o tratamento crônico com exenatide (incretinomimético com propriedades semelhantes ao GLP-1) reduziu o ganho de peso em ratos obesos da linhagem Zucker devido à redução da ingestão alimentar (Szayna et al., 2000). Resultados semelhantes foram observados em humanos (Kendall et al., 2005).

2.9. A Importância das Plantas Medicinais

As plantas sempre foram usadas como substratos para medicamentos, sendo que cerca de 30% do total de fármacos disponíveis no mercado são originados das mesmas (Calixto, 2000). Dados etnobotânicos relatam cerca de 800 plantas com potencial antidiabético que apresentaram resultados positivos em ensaios experimentais (Grover et al., 2002).

Muitas espécies de plantas têm sido usadas etnofarmacologicamente ou experimentalmente para tratar dos sintomas do DM (Ivorra et al., 1989). Há relatos do uso de plantas antidiabéticas na Índia desde o sexto século antes de Cristo (Grover et al., 2001), geralmente na forma de chás, obtendo-se um efeito que se confirma com o desenvolvimento da pesquisa científica.

2.9.1. Possíveis Mecanismos Antidiabéticos das Plantas Etnofarmacologicamente Utilizadas

Antes do advento da insulina exógena e hipoglicemiante orais, o uso de plantas medicinais era a principal forma de controle do diabetes, pois são importantes fontes de substâncias potencialmente terapêuticas (Gray e Flatt, 1999). Várias espécies vegetais têm sido estudadas como benéficas no controle do diabetes. Alguns de seus princípios ativos agem aumentando a liberação de insulina, modificando o metabolismo da glicose, inibindo fatores hiperglicemiantes, inibindo ou estimulando a síntese de enzimas ou atenuando as complicações do diabetes. Dentre os compostos ativos antidiabéticos têm-se destacados polissacarídeos, proteínas, esteróides, terpenóides, alcalóides, flavonóides, glicosídeos, triterpenos, óleos, vitaminas, saponinas, peptídeos e aminoácidos (Abdel-Hassan et al., 2000).

A charantina, uma mistura de dois glicosídeos esteroidais, com estrutura semelhante à insulina, encontrada nos frutos da MC mostrou efeito antidiabético em coelhos normais, ratos e gatos, assim como a momordicina que é um alcalóide que também possui seu efeito hipoglicemiante já descrito (Marles e Farnsworth, 1995).

Diferentes mecanismos são evidenciados em plantas para reduzir níveis de glicose. Há plantas que exibem propriedades similares aos fármacos pertencentes à conhecida classe das sulfoniluréias como glibencamida em que o efeito hipoglicêmico ocorre pelo estímulo do aumento da produção de insulina pelas células- β pancreáticas como observado pelo tratamento com *Enicostemma littorale* Blume e *Gmelina asiática*

que exercem atividade hipoglicemiante e anti-hiperglicemiante devido a inibição dos canais ATPase de K⁺ nas células-β pancreáticas (Kasiviswanath et al., 2005).

Outras plantas melhoram a ação periférica da insulina sugerindo aumento significativo do estímulo da insulina ao disponibilizar glicose para consumo tecidual diminuindo a concentração de glicose sangüínea que alcançam faixas consideradas normais. Esses dados são vistos em estudos atuais como no tratamento com extrato de *Panax ginseng sp.* (Xie et al., 2005), *Eugenia jambolana Lam.* (Sharma et al., 2006), *Cleome felina L.* (Nagarajan et al., 2005), *Smallantus sonchifolius Poepp* (Aybar et al., 2001), dentre outros.

Inula japonica Regel diminuiu a taxa de glicose sangüínea e melhorou a polidipsia, poliúria e polifagia em camundongos com diabetes induzido por aloxano, além de reduzir os valores de albumina glicada e aumentar os níveis de insulina plasmática. Esse efeito antihiperglicêmico do extrato dessa planta, foi mais eficiente do que o da droga metformina (Shan et al., 2006).

A administração de extratos de MC e *Eugenia jambolana Lam.* previniu o aumento do volume urinário, excreção de albumina urinária, hipertrofia renal e não alteraram o soro de creatinina em camundongos com diabetes induzida por estreptozocina (Grover et al., 2001). Flavonóides presentes em *Cephalotaxus sinensis Rehder* 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) facilitaram o controle da homeostase da glicose em camundongos diabéticos, sendo esse efeito comparado aos efeitos da administração de insulina. A FSE induziu um rápido efeito estimulatório, dose dependente, sobre o consumo de glicose pela ativação da resposta celular que leva a translocação de GLUT-4 para a superfície celular, indicando que essa espécie contém fatores que podem agir independentemente da insulina para aumentar o consumo de glicose mediado pelo transportador GLUT-4. Essa mesma planta ativou também a fosforilação da tirosina, sugerindo que adipócitos e fígado possam ter sítios alvos de FSE, e que esta exerça seus efeitos pela ativação das vias sinalizadoras de insulina (Vijayakumar et al., 2005).

A deficiência de insulina resultou na diminuição da atividade enzimática da glicoquinase, hexoquinase e fosfofrutoquinase (Grover et al., 2001). Extratos de *Cleome felina L.* assim como glibenclamida aumentaram a atividade das enzimas glicoquinase e lactase dehidrogenase que são reduzidas pelo tratamento com aloxano na indução do diabetes. A diminuição da atividade da glicose-6-fosfatase e o aumento do glicogênio

no fígado e no músculo esquelético são importantes indicadores de DM, estando estes reduzidos quando comparado a grupos controles (Nagarajan et al., 2005).

2.9.2. A *Momordica charantia* L.

Comumente conhecida por melão de São Caetano, erva de lavadeira, fruto de negro, fruta de sabiá, dentre outros, não tem sua origem perfeitamente conhecida. A planta é cultivada em áreas tropicais, especialmente na China, Índia, África, América Central e América do Sul.

No Brasil, o tipo selvagem é uma planta daninha bastante frequente em pomares, hortas, cafezais, cercas, alambrados e terrenos baldios (Lorenzi, 2000). A superfície do fruto é verde escura brilhante e seus frutos maduros têm um sabor de médio a fortemente amargo, exibindo deiscência irregular (Figura 5).

Figura 5 – *Momordica charantia* L. (Figura adaptada de Botanical, 2010).



É uma espécie de valor ornamental, alimentar e medicinal. Ornamental por possuir folhas delicadas, flores amarelas brilhantes e frutos coloridos de formato incomum. Conforme Huyskens et al. (1992), Walters e Decker-Walters (1988) e Robinson e Decker-Walters (1997), os frutos imaturos (casca verde escura com polpa e sementes tenras e brancas) são bastante consumidos pelos povos asiáticos, em todo o mundo, como uma hortaliça sob a forma de conserva, recheados ou fritos, além de serem ricos em ferro, cálcio, fósforo e vitaminas. São atribuídas à planta diversas propriedades terapêuticas tais como: antidiarréica, anti-reumática, hipoglicemiante, afrodisíaco masculino, sendo usados popularmente contra eczemas, ferimentos, furúnculos, tumores, incômodos das hemorróidas, diarréias simples ou hemorrágica, como pesticida e ainda, como agente inibidor da multiplicação do vírus HIV (Yang e Walters, 1992; Matos, 1997; Diniz et al., 1997; Robinson e Decker-Walters, 1997). A

MC é uma planta medicinal que faz parte da Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (RENISUS, 2009).

Em 2005 o Departamento de Assistência Farmacêutica e Insumos Estratégicos da Secretaria de Ciência Tecnologia e Insumos Estratégicos construíram em parceria com ministérios e pesquisadores, uma lista com espécies vegetais úteis a saúde pública. Foram consideradas as espécies já utilizadas nos serviços de saúde estaduais e municipais (conhecimento tradicional e popular) e os estudos químicos e farmacológicos disponíveis. Esse documento subsidiou em 2008 a construção desta lista (RENISUS, 2009).

A RENISUS é constituída por plantas medicinais que interessam ao SUS por serem nativas ou exóticas adaptadas, amplamente utilizadas pela população brasileira. No entanto, precisam de estudos para: confirmar segurança e eficácia, definição da indicação de uso e da forma farmacêutica mais adequada, a possibilidade de cultivo e produção.

A MC possui vários princípios ativos conhecidos, dentre eles o alcalóide momordicina, a momordipicrina, o ácido momórdico (Ferreira, 2008) e a charantina, uma mistura de glicosídeos, principalmente beta-sitosterol-D-glicosídeo e o 5,25-estigmastadieno-3-beta-ol-D-glicosídeo (Marles e Farnsworth, 1995). Algumas substâncias isoladas da planta já foram testadas como o polipeptídeo-p, também conhecido como insulina-p, por possuir grande semelhança com a insulina, com apenas um aminoácido a mais (metionina), foi isolado do fruto, semente e tecidos da planta (Bragança, 1996). Este polipeptídeo mostrou potente efeito antidiabético quando administrado subcutaneamente em humanos (Khanna et al., 1981). Outros polipeptídeos da planta foram estudados *in vitro*, sendo o mecanismo proposto para a hipoglicemia, a interação com receptores adrenérgicos ou da corticotrofina (Marles e Farnsworth, 1995).

Outro constituinte ativo é a charantina, uma mistura de dois glicosídeos esteroidais, com estrutura semelhante à insulina, que mostrou efeito antidiabético em coelhos normais, ratos e gatos (Marles e Farnsworth, 1995). A planta possui ainda o sitosterol que é um princípio ativo antihiperlipemizante que apresenta efeitos periféricos, através da redução da síntese de glicose hepática pela inibição das enzimas gliconeogênicas como a glicose-6-fosfatase e a frutose-1,6-bifosfatase e pelo aumento da utilização de glicose pela via das pentoses, através da ativação de sua principal enzima a glicose-6-fosfato desidrogenase (Bragança, 1996).

A administração oral do extrato cetônico do pó do fruto por 15 a 30 dias em ratos aloxonizados reduziu a glicemia e a colesterolemia aos níveis normais mesmo após 15 dias de descontinuação do tratamento (Grover et al., 2002).

Estudos em animais têm mostrado, diversamente, que o melão de São Caetano inibe a absorção de glicose, promove a utilização de glicose pelo fígado, contém um peptídeo semelhante à insulina, aumenta a secreção pancreática de insulina e aumenta a produção de células β no pâncreas. Entretanto, um aumento dos níveis sanguíneos de insulina não tem sido observado e o exato mecanismo pelo qual a glicemia é afetada, permanece desconhecido. De forma global, os estudos desenvolvidos em animais e as observações coletadas pela etnofarmacologia, sugerem que, de alguma maneira, o melão de São Caetano possui importante papel no tratamento do DM (Abascal e Yarnell, 2005).

O melão de São Caetano (*Momordica charantia L.*), apesar de abundante e muito usado na medicina popular, especialmente nordestina, tem sua composição química e propriedades farmacológicas pouco estudadas no Brasil, embora seja a planta que nos últimos 25 anos tem recebido maior atenção dos pesquisadores orientais, depois da descoberta da presença em suas sementes da triconsantina, uma substância protéica de atividade imunossupressora (Lorenzi, 2000).

Extratos dos frutos, folhas e raízes de MC têm sido eficientes no tratamento do DM (Senanayake et al., 2004). O mecanismo de ação pelos quais as plantas baixam a taxa de glicose do sangue pode ser atribuído aos seguintes fatores: aumento da liberação de insulina através da estimulação das células beta-pancreáticas; resistência aos hormônios que aumentam a taxa de glicose; aumento do número e da sensibilidade do sítio receptor de insulina; diminuição da degradação de glicogênio; aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos; eliminação de radicais livres; resistência à peroxidação de lipídeos; correção da desordem metabólica causada em lipídeos e proteínas e estímulo ao aumento da microcirculação do sangue no organismo. (Marles e Farnsworth, 1995; Said et al., 2002; Volpato et al., 2002).

Os extratos de MC protegeram os glomérulos dos efeitos prejudiciais do diabetes e impediram o aumento do volume de urina, a excreção de albumina na urina e a hipertrofia renal, como também causaram redução na taxa de glicose no plasma. O extrato de MC continuou a exercer um efeito hipoglicêmico, mesmo quando a maior parte das células β foi destruída, indicando um efeito insulinomimético direto (Grover et al., 2001). O tratamento realizado com o extrato aquoso liofilizado de MC, um vegetal

comestível, parece ser uma alternativa segura para reduzir os níveis de glicose no sangue (Viridi et al., 2003). A atividade hipoglicemiante da espécie vegetal MC está descrita em diversos trabalhos, porém, o exato mecanismo pelo qual a glicemia é afetada permanece desconhecido (Abascal e Yarnell, 2005).

2.10. Indução do Diabetes mellitus

Os modelos mais utilizados in vivo para o estudo do diabetes são roedores tratados com aloxano ou estreptozotocinas (STZ) (Marles e Farnsworth, 1995), também conhecida como estreptozocina. A STZ é um glicosídeo nitrosouréa natural isolado do *Streptomyces achromogenes* e estimula a produção de radicais livres, o que leva à destruição e à disfunção das células β das ilhotas de Langerhans. Este xenobiótico tem sido usado para induzir o diabetes com concomitante deficiência de insulina. Uma dose simples em ratos pode produzir um modelo experimental do diabetes. Entretanto, seu alto poder carcinogênico leva a formação de insulinoma, o que impede a manutenção da hiperglicemia nos animais experimentais (Marles e Farnsworth, 1995).

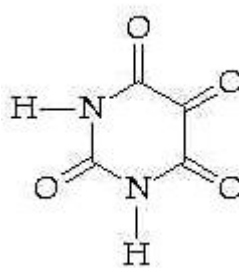
O aloxano (2,4,5,6-tetraxipirimidina; 5,6-dioxiuracil) foi originalmente isolado em 1818, por Brugnatelli, e recebeu este nome em 1838, por Friedrich Wöhler e Justus Von Liebig. O termo Aloxano surgiu por mistura das palavras alantoína e ácido oxalúrico (Lenzen e Panten, 1988).

O aloxano, um derivado da pirimidina, é muito seletivo para células β pancreáticas. No entanto, apesar de ser um bom indutor para o DM, há problemas devido a sua instabilidade química, metabolismo rápido e alguns fatores, tais como a idade e a dieta do animal, que exigem cautela quando se deseja estabelecer uma relação clara entre as doses de aloxano e sua concentração efetiva no pâncreas (Marles e Farnsworth, 1995).

O aloxano (Figura 5), é um análogo tóxico da glicose que destrói seletivamente as células produtoras de insulina do pâncreas quando administrado a roedores e muitas outras espécies animais. Ele causa DM (chamada Diabetes Aloxâmica) nesses animais, com características similares ao diabetes em humanos (Lenzen e Panten, 1988). Um aspecto importante é a formação de espécies reativas de oxigênio através da redução do aloxano com posterior formação do ácido dialurônico (Lenzen e Panten, 1988). A reação entre aloxano e ácido dialurônico é um processo do qual se forma um radical aloxano intermediário (HA^{\cdot}). Este agente diabetogênico reage com dois grupamentos de

sulfidril (SH) no sítio de ligação da glicose na enzima glicocinase, resultando na formação de ligações dissulfeto e inativação da glicocinase (Lenzen e Panten, 1988). Outro importante passo da ação diabetogênica do aloxano são os distúrbios na homeostase do cálcio (Ca^{2+}), onde foi demonstrado que esta droga eleva a concentração de Ca^{2+} livre citosólico nas células β do pâncreas, despolarizando as ilhotas de Langerhans (Szkudelski, 2001). O aloxano é seletivamente tóxico para as células β produtoras de insulina porque se acumula nas células através de seu acesso facilitado pelo transportador de glicose GLUT-2 (Mrozikiewicz et al., 1994). Desta maneira, a ação tóxica do aloxano sobre as células β do pâncreas envolve diferentes processos, que contribuem para a ação diabetogênica desse xenobiótico (Szkudelski, 2001). O aloxano não causa diabetes em humanos (Lenzen e Panten, 1988).

Figura 6 – Estrutura química do Aloxano (Adaptado de Szkudelski, 2001).



Lenzen e Panten (1988) citam em seus estudos que no modelo experimental de diabetes induzido por aloxano, os animais apresentam sintomas semelhantes aos encontrados no DM em humanos, tais como perda de peso corporal, polidipsia, poliúria, glicosúria, cetonúria, hiperglicemia e cetonemia. Embora os mecanismos pelos quais isso ocorre não sejam totalmente conhecidos, acredita-se que haja envolvimento de reações mediadas por radicais livres que, como se sabe, danificam as células e provocam a ocorrência de doenças autoimunes (Mrozikiewicz et al., 1994).

Kronenberg (2007), afirma que nos animais segundo os quais são aplicadas doses de aloxano, há a presença de três fases com relação aos níveis glicêmicos: 1ª) hiperglicemia imediata, devido, provavelmente, à glicogenólise hepática; 2ª) hipoglicemia resultante da liberação da insulina pelas células β destruídas; 3ª) hiperglicemia devido à deficiência de insulina.

3. Materiais e Métodos

3.1. Material Botânico

Os frutos de MC foram coletados, durante o mês de fevereiro de 2008, na cidade de Silverânia, MG, no sítio Paraíso, latitude 21°09'30,70'', longitude 43°12'59,65''. A exsicata do material coletado foi identificada por Marco Locarno, Engenheiro Agrônomo do Instituto de Biociências da Universidade Presidente Antônio Carlos, em Barbacena, MG e foi depositada no Herbário VIC, da Universidade Federal de Viçosa, MG, com a identificação número 31.825. Os frutos frescos e maduros foram lavados abundantemente com água e suas sementes removidas. A porção comestível foi cortada em pequenos pedaços, liofilizada por 72 horas e em seguida pulverizada em moinho TECNAL TIPO WILLYE, peneira 10/MESH.

3.2. Preparação da Infusão

Para a obtenção da infusão semelhante à adotada pela medicina popular, adotou-se o método extrativo vertendo 30 mL de água destilada aquecida a 80°C, em um frasco Erlenmeyer contendo 3 gramas do pó de frutos de MC, agitando e deixando a seguir em repouso sob abafamento por 10 minutos. O extrato bruto foi então filtrado e resfriado até 35°C. A infusão foi preparada diariamente, no mesmo horário.

3.3. Animais

Foram utilizados 28 ratos (*Rattus norvegicus*, variedade albinus), com as seguintes características: machos, com idade de aproximadamente 90 dias, sadios, da linhagem Wistar, pesando em média 300 gramas, oriundos do Biotério Central da Universidade Federal de Viçosa, MG. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Presidente Antônio Carlos (UNIPAC), conforme parecer nº 227/07.

Os animais foram acondicionados em gaiolas plásticas individuais, com bebedouros de 250 mL e mantidos no biotério da Faculdade de Medicina de Barbacena

em gabinete da marca Insight, modelo EB 273, tendo o fotoperíodo ajustado para 12 horas de claro e escuro, temperatura variando entre 24°C e 26°C, a umidade relativa do ar entre 50% e 65% e o fluxo de ar programado para evitar acúmulo de gases metabólicos. A dieta normocalórica (Controle) consistiu de ração comercial para ratos (Nuvilab®). Essa dieta consta com os seguintes níveis de garantia por quilograma do produto: umidade máxima 12,50%, proteína bruta 22,00%, extrato etéreo 4,50%, matéria mineral 10,00%, matéria fibrosa 8,00%, cálcio 1,40%, fósforo 0,80% e enriquecida com as seguintes vitaminas e minerais por quilograma de ração: vitamina A 12.000,00 UI; vitamina D3 1.800,00 UI; vitamina E 30,00 mg; vitamina K3 3,00 mg; vitamina B1 5,00 mg; vitamina B2 6,00 mg; vitamina B6 7,00 mg; vitamina B12 20,00 mcg; niacina 60,00 mg; ácido pantotênico 20,00 mg; ácido fólico 1,00 mg; biotina 0,05 mg; colina 600,00 mg; ferro 50,00 mg; zinco 60,00 mg; cobre 10,00 mg; iodo 2,00 mg; manganês 60,00 mg; selênio 0,05 mg; cobalto 1,50 mg.

A alimentação e água foram fornecidas *ad libitum*, sendo o consumo de água e de ração verificados, anotados e repostos diariamente.

3.4. Indução do *Diabetes mellitus* Experimental

O diabetes experimental foi induzido pela administração de aloxano (5,6-Dioxiuracil monohidrato) – Alloxan monohydrate, SIGMA-Aldrich Inc., St. Louis, MO, USA, diluído a 2% em solução de citrato de sódio 0,05 M, pH 4,5. A droga foi administrada por via intraperitoneal, em doses de 75 mg/kg de peso corporal, após jejum alimentar de 48 horas, com fornecimento de água *ad libitum*. Seis horas após a indução e ainda em jejum completo, os animais receberam uma solução de glicose a 10% como única fonte hídrica por 24 horas, momento no qual foi liberada a alimentação normal.

3.5. Seleção, Distribuição e Tratamento dos Animais

Do total de 28 animais da amostra inicial, foram aleatoriamente escolhidos 12 deles para formar o grupo Controle e o grupo Controle com a infusão de *Momordica charantia* L. (Controle + MC). Os 16 animais restantes foram aloxano-induzidos como descrito anteriormente e classificados como grupo teste. No sexto dia após a indução, foi determinada a glicemia casual de todos os animais. Aqueles animais do grupo teste

que apresentaram glicemia casual acima de 180 mg/dL foram considerados diabéticos, sendo os demais desprezados.

Os animais considerados diabéticos foram então distribuídos em dois grupos, identificados como grupo Diabético e grupo Diabético com a infusão de *Momordica charantia L.* (Diabético + MC). Os grupos Controle + MC e Diabético + MC, receberam diariamente, no mesmo horário, por um período de 25 dias e através da técnica de gavagem, um mL/250g de peso corporal da infusão preparada como citado anteriormente. Os animais dos grupos Controle e Diabético receberam apenas soro fisiológico.

3.6. Determinação do Peso, da Ingestão Alimentar e Hídrico dos Animais

Para permitir o acompanhamento da evolução clínica dos animais, seus pesos foram verificados nos dias 1, 4, 11 e 25 do experimento, sedando o animal por inalação de éter etílico, evitando assim muita mobilidade no prato da balança. A ingestão alimentar foi determinada verificando-se o consumo por diferença entre a oferta e a ração coletada da gaiola individual e pesada quando da visita de verificação diária do andamento do experimento. A água foi oferecida em bebedouros de 250 mL, com dispositivo conta-gotas automático sendo o consumo de água verificado por diferença entre a oferta inicial e a observação final, e o volume consumido medido em proveta de 250 mL.

3.7. Dosagem da Glicemia Casual

A glicemia casual foi medida no 6º dia após a indução por aloxano, com sangue retirado de uma incisão nos 5 mm distais da cauda dos animais com o auxílio de éter, bisturi e povidine (anti-séptico) e no 25º dia do experimento, no momento da coleta de material histo-patológico, com sangue coletado no ventrículo esquerdo do animal. Os animais foram anestesiados com quetamina 0,2 mL por via intraperitoneal para os procedimentos de coleta de sangue capilar e 1,0 mL intraperitoneal para a preparação para o sacrifício e retirada do pâncreas e do fígado. As glicemias casuais foram determinadas em glicosímetro Prestige IQ nº série 7994403, usando fitas código 21-IBR712A1.

3.8. Dosagens Imunoenzimáticas

A obtenção de sangue total para as determinações imunoenzimáticas foi realizada no momento da cirurgia para coleta de pâncreas e fígado dos animais. O sangue foi coletado utilizando seringas descartáveis sendo cuidadosamente transferido para um tubo de ensaio, ao qual foi acrescentado sitagliptina (inibidor da DPPIV) na proporção de 10 µL/mL de sangue. Em seguida, o sangue foi centrifugado a 3500 rpm e o soro separado em alíquotas de 500 µL destinadas aos ensaios imunoenzimáticos.

3.8.1. Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon -1

Os métodos imunológicos desenvolvidos para quantificar a concentração de antígenos e anticorpos, por apresentarem grande sensibilidade e especificidade, tornaram-se técnicas padronizadas para pesquisa e aplicações clínicas. Entre esses métodos, um dos mais usados é o ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay). No presente trabalho foi utilizado o método ELISA sanduiche com anticorpos monoclonais. Os ensaios imunoenzimáticos foram realizados usando-se kits da Shibayagi Co, Ltd. (GLP-1 Rat/Mouse ACTIVE ELISA Kit Code No.: AKMGP-011). A leitora ELISA utilizada foi a Elx800 da Bio-tek Instruments Inc, (450 – 630 nm) sendo os testes realizados em quadriplicata.

3.9. Dosagens Bioquímicas

A obtenção de sangue total para as determinações das transaminases, colesterol, triacilgliceróis e glicose foi realizada no momento da cirurgia para coleta de pâncreas e fígado dos animais, usando seringas descartáveis sendo cuidadosamente transferido para um tubo de ensaio. O espectrofotômetro utilizado foi o BIOPLUS modelo BIO 200.

3.9.1. Transaminases

As enzimas transaminases podem ser encontradas em vários tecidos do organismo, podendo estar elevadas em diversas doenças. Verifica-se na prática diária que não é incomum pacientes, mesmo sem sintomas, apresentarem elevação sérica das transaminases. Embora essas enzimas não sejam tecido-específicas (estão presentes em vários tecidos do organismo), elevam-se mais frequentemente em pacientes com doença

hepática, podendo refletir dano ao fígado, razão pela qual vários autores as denominam enzimas hepáticas. (Pratt et al., 1999). Para a determinação da alanina amino transferase (ALT) e da aspartato amino transferase (AST) foram utilizados kits cinéticos enzimáticos da Bioclin K049 e K048 respectivamente.

3.9.1.1. Alanina Aminotransferase

A alanina aminotransferase (ALT) (EC. 2.6.1.2) catalisa a transferência do grupo amino da alanina para o alfa-oxoglutarato, formando piruvato e glutamato. O piruvato é reduzido a lactato por ação da lactato desidrogenase (LDH), e a coenzima NADH é oxidada a NAD^+ . A coenzima NADH tem um coeficiente de absorção molar elevado em 340 nm, sendo quase nula a absorção de NAD^+ em 340 nm. A oxidação de NADH é diretamente proporcional à atividade da ALT. A atividade enzimática é então calculada através da diminuição da absorbância da solução de NADH em 340nm.

3.9.1.2. Aspartato Aminotransferase

A aspartato aminotransferase (AST) (EC. 2.6.1.1) catalisa a transferência do grupo amino do aspartato para alfa-oxoglutarato com a formação de oxalacetato e glutamato. O oxalacetato é reduzido a malato por ação da malato desidrogenase, e paralelamente a coenzima NADH é oxidada a NAD^+ . A coenzima NADH tem um coeficiente de absorção molar elevado em 340 nm, sendo quase nula a absorção de NAD^+ em 340 nm, como já dito anteriormente. A oxidação de NADH é diretamente proporcional à atividade da AST. A atividade enzimática é então calculada através da diminuição da absorbância da solução de NADH em 340nm.

3.9.2. Colesterol

A determinação de substâncias por métodos enzimáticos combina a elevada especificidade de ação das enzimas com a simplicidade operacional envolvida. Foi utilizado o Kit da Labtest (Colesterol Liquiform) Ref: 76-2/100 para determinação de colesterol por metodologia enzimático-colorimétrica (de ponto final).

3.9.3. Triacilgliceróis

Foi utilizado o Kit da Labtest (Triglicérides Liquiform) Ref: 87-2/100 para determinação de triacilgliceróis por metodologia enzimático-colorimétrica (de ponto final).

3.10. Análise Estatística

Utilizou-se o método da análise de variância (ANOVA), com uma fonte de variação (grupo de tratamento), seguido por múltipla comparação pelo teste de Scott-Knott, com nível de significância pré-estabelecido de 5%. Os resultados foram expressos como média \pm desvio padrão. Os programas utilizados foram OriginPro 8 SR0 v8.0724 (B724) (Copyright© 1991-2007 OriginLab Corporation), R version 2.11.1 (2010-05-31) (Copyright© 2010 The R Foundation for Statistical Computing).

4. Resultados e Discussão

4.1. Método de Indução

O rato Wistar, por apresentar vantagens em relação a outros animais de maior porte e, principalmente, por se assemelhar clínica, laboratorial e histopatologicamente ao DM humano (Lerco et al., 2003), foi o escolhido para compor o modelo experimental.

O aloxano foi preferido como droga diabetogênica, em função dos efeitos produzidos pela sua administração serem semelhantes àqueles encontrados na síndrome diabética em humanos: hiperglicemia, polifagia, polidipsia, poliúria, entre outros (Carvalho, 2004).

O aloxano é um análogo tóxico da glicose que destrói seletivamente as células produtoras de insulina do pâncreas quando administrado a roedores e muitas outras espécies animais. O aloxano é seletivamente tóxico para as células β produtoras de insulina porque se acumula nas células através de seu acesso facilitado pelo transportador de glicose (GLUT-2). O aloxano, na presença de tióis intracelulares, gera espécies reativas de oxigênio em uma reação cíclica com o produto de sua redução, o ácido dialúrico. A ação tóxica do aloxano na célula β é iniciada pelos radicais livres formados na reação de redox com os tióis intracelulares.

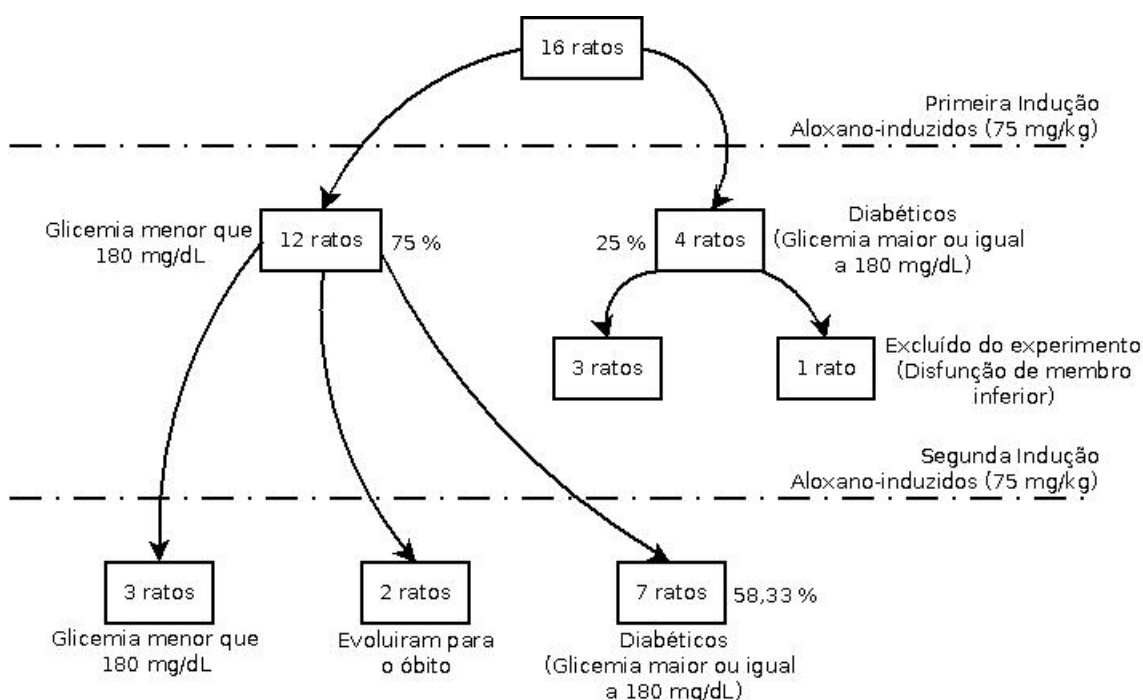
O aloxano, que não causa DM em humanos (Lenzen, 2008), é um dos agentes diabetogênicos mais estudados e comumente utilizados no meio científico para a indução de DM experimental. Possui citotoxicidade específica para as células β pancreáticas, causando insuficiência insulínica primária do pâncreas, provocando uma resposta trifásica nos níveis glicêmicos durante as primeiras horas de administração, seguida do estabelecimento de DM permanente nas 24 horas subsequentes (Lerco et al., 2003).

Zanoello et al. (2002) concluíram que a citotoxicidade seletiva do aloxano é função da grande capacidade da célula β em acumular a droga, aliada à característica de maior sensibilidade desta célula a espécies reativas de oxigênio, quando comparada a outros tecidos.

O aloxano administrado por via intraperitoneal, na dose de 75 mg/kg de peso corporal, produziu nos animais utilizados em nosso experimento, DM moderado e severo, com o desenvolvimento de alterações clínicas e laboratoriais, incluindo elevação da ingestão alimentar e hídrica, além de valores para a glicemia casual situados entre 180 a 590 mg/dL

Em nosso estudo, dos 16 animais submetidos à aplicação intraperitoneal de aloxano, 12 ratos (75%) não ficaram diabéticos ou apresentaram DM leve, quatro ratos (25%) desenvolveram DM severo, sendo que um animal foi separado do grupo por ter uma deficiência no membro inferior esquerdo e foi afastado do experimento. Após uma nova indução com a dose padrão de aloxano pela mesma via, dos 12 ratos reinduzidos, sete ratos (58,33%) desenvolveram DM segundo o critério estabelecido (glicemia casual ≥ 180 mg/dL), três ratos com intolerância à glicose (glicemia entre 100 mg/dL e 125 mg/dl) e dois ratos evoluíram ao óbito (Figura 6).

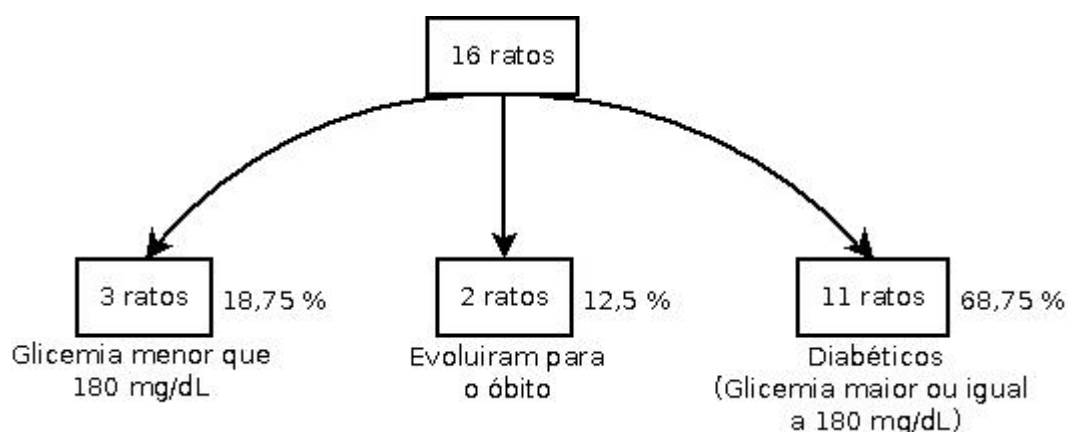
Figura 7 – Percentual de sucesso na primeira e segunda indução do diabetes por aloxano.



Esses resultados apresentados, ou seja, 68,75% de animais diabéticos moderados e severos, 18,75% de ratos não-diabéticos e 12,5% de taxa de mortalidade (Figura 7), foram considerados satisfatórios no que diz respeito à taxa de mortalidade e à taxa de indução bem sucedida, quando comparados aos trabalhos que promovem o DM

experimental por aplicação endovenosa do aloxano a 2% – na dose única de 42 mg/kg de peso corporal, após um jejum de 12 horas – quando são observadas taxas de mortalidade de 33 a 60% e de indução bem sucedida de 39 a 50% (Lukens, 2003).

Figura 8 – Percentual total (soma da primeira e segunda indução) de sucesso na indução do diabetes por aloxano.



Lukens (2003), revisando o trabalho de vários autores, cita que animais que não respondem a uma primeira administração de aloxano, podem ser refratários a injeções posteriores de doses similares. Entretanto, esses mesmos animais, refratários às doses subseqüentes, tornam-se diabéticos após 60 horas de jejum, com uma dose padrão de aloxano.

O protocolo de indução foi pela via intraperitoneal e após um período de jejum sólido de 48 horas, pois, segundo Lukens (2003) *apud* Lerco e colaboradores (2003), o jejum tem um papel importante na resposta dos animais à injeção de aloxano. Os autores relatam que, em alguns casos, 95% dos animais que recebem o aloxano em estado de jejum prolongado de 48 a 60 horas, tornam-se diabéticos, enquanto que, sem o jejum, a administração de dose similar de aloxano, diminui essa resposta para 25%.

Outro fator aplicado foi a diluição do aloxano em solução de citrato de sódio 0,05 M, pH 4,5, que mantém o aloxano em sua forma protonada, evitando a sua rápida hidratação quando em solução, o que, de acordo com Presta e Pereira (1987), poderia prejudicar o seu efeito indutor de DM.

A oferta de glicose a 10% como única fonte hídrica por 24 horas e após as primeiras 6 horas de indução é, segundo Mazzanti e colaboradores (2003), fundamental para evitar uma hipoglicemia fatal devido à liberação maciça de insulina decorrente da destruição das células β pancreáticas.

Lukens (2003) relata índices muito variáveis de mortalidade podendo chegar a 100% na mesma espécie. Isso se deve a múltiplos fatores capazes de modificar os efeitos da droga e a sensibilidade do hospedeiro, envolvendo desde o estado de hidratação da droga, a dose administrada, a velocidade de infusão, a via de administração, a dieta e o tempo de jejum.

Os resultados de nosso experimento permitem afirmar que a dose aplicada, o jejum prolongado antes da indução, a administração da solução de glicose a 10% nas 24 horas após a indução, o pH ácido da solução de aloxano e a via intraperitoneal, contribuíram significativamente para a obtenção de um alto índice de animais diabéticos (68,75%), associado a um baixo índice de mortalidade (12,5%).

4.2. Evolução Clínica

Os parâmetros clínicos avaliados foram o peso inicial e final dos animais, o consumo alimentar e hídrico durante o experimento, a diurese e o estado geral dos animais. Os animais do grupo Controle e do grupo Controle + MC não apresentaram alterações clínicas durante as avaliações semanais, e os parâmetros clínicos observados mantiveram-se dentro dos níveis esperados para ratos saudáveis da mesma idade. Na gaiola de um animal do grupo Controle + MC houve grande quantidade de água derramada, caracterizando um vazamento do mecanismo de oferta hídrica e esse animal foi excluído das análises a seguir.

No grupo Controle, os animais mantiveram-se em bom estado geral, ativos, com apetite normal, tônus e reflexos conservados. A ingestão hídrica e alimentar, e também a diurese, situaram-se dentro dos padrões de normalidade para a espécie e em consonância com outros trabalhos (Brekke et al., 1981). Os animais integrantes do grupo Diabético e do grupo Diabético + MC evoluíram com alterações clínicas compatíveis com a patologia, tais como polifagia, polidipsia e poliúria.

O consumo alimentar, obtido por diferença entre a pesagem do alimento oferecido e o alimento restante na gaiola ao final de 24 horas, foi maior no grupo Diabético e no

grupo Diabético + MC, com diferenças significativas entre os grupos formados por animais diabéticos se comparados com aqueles não diabéticos.

De igual forma, a ingestão hídrica dos animais diabéticos mostrou valores significativamente elevados quando comparados com os animais dos grupos controle. As tabelas comparativas do consumo hídrico e alimentar dos animais se encontram a seguir (Tabela 1). Um animal do grupo Diabético e outro do grupo Diabético + MC evoluíram para o óbito durante o experimento.

Tabela 1 - Consumos hídricos e alimentar médios após 25 dias de experimento

Grupo	Número de animais	Água (mL)*	Ração (g)*
Controle	6	38,96 ± 4,19 ^a	43,09 ± 3,83 ^a
Controle + MC	5	40,78 ± 7,08 ^a	41,95 ± 5,06 ^a
Diabético	4	195,02 ± 34,72 ^b	69,69 ± 10,50 ^b
Diabético + MC	4	174,66 ± 56,41 ^b	68,56 ± 14,77 ^b

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem significativamente (P<0,05) entre si de acordo com o teste de Scott-Knott. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

A elevação da concentração de glicose no filtrado glomerular, ultrapassando a capacidade reabsortiva das células tubulares renais, é o que pode explicar a forte diurese dos animais diabéticos. Tal concentração de glicose provoca um efeito osmótico na direção do filtrado, sendo responsável pela grande produção de urina, acompanhada de aumento da osmolaridade sanguínea, agravada pelas altas taxas de glicemia. Isso provoca a saída de água do meio intracelular para o meio extracelular com o objetivo de manter o equilíbrio osmótico. A desidratação intracelular é então percebida pelos osmorreceptores cerebrais, desencadeando a sede intensa (Ferreira, 2008).

A lipólise provocada pela ausência da insulina leva à perda de peso, fadiga e fraqueza, induzindo o animal a ingerir mais alimento e caracterizando então a polifagia demonstrada na Tabela 1 (Ferreira, 2008). Na observação do valor médio do peso corporal dos animais (Tabela 2), verificou-se um aumento de peso nos grupos Controle e Controle + MC, com aumento percentual maior no Grupo Controle (13,89%) do que no Controle + MC (6,5%). O grupo Diabético apresentou uma redução de peso de 2,68% e no grupo Diabético + MC a redução de peso foi de 11,79%.

Em conjunto, esses dados demonstram um efeito redutor no ganho de peso daqueles animais do grupo Controle + MC e um efeito intensificador de perda de peso

naqueles animais pertencentes ao grupo Diabético + MC. Esses resultados clínicos possuem muita importância, tendo em vista que a obesidade está intimamente associada ao DM.

Como a obesidade é um dos fatores desencadeantes e agravantes do *DM*, o efeito redutor do apetite é benéfico em pacientes obesos ou com sobrepeso. De fato, o tratamento crônico com exenatide (incretinomimético com propriedades semelhantes ao GLP-1) reduziu o ganho de peso em ratos obesos, devido à redução da ingestão alimentar (Szayna et al., 2000). Resultados semelhantes foram observados em humanos (Kendall et al., 2005).

Tabela 2 - Pesos corporais médios antes e após 25 dias de experimento e variações entre as médias correspondentes ao mesmo grupo no início e no fim do experimento

Grupo	Número animais	Peso (g)		Variação (%)
		1º Dia*	25º Dia*	
Controle	6	310,67 ± 33,84	353,83 ± 40,12	+13,89
Controle + MC	5	334,75 ± 16,32	356,50 ± 11,62	+6,50
Diabético	4	270,75 ± 44,25	263,50 ± 37,33	-2,68
Diabético + MC	4	280,00 ± 49,49	247,00 ± 40,21	-11,79

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

4.3. Evolução Laboratorial

O número de animais por grupo pode diferir entre as tabelas, pois para algumas análises o volume de soro não foi suficiente.

4.3.1. Glicemia Casual

As glicemias dos animais dos grupos Diabético e Diabético + MC encontram-se representadas na Tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios das glicemias antes e após 25 dias de experimento e variações entre as médias correspondentes ao mesmo grupo no início e no fim do experimento

Grupo	Nº animais	Glicemia (g)		Variação (%)
		1º Dia*	25º Dia*	
Diabético	4	320,25 ± 34,99	431,75 ± 76,85	+34,82
Diabético + MC	4	314,25 ± 76,85	399,25 ± 76,36	+27,05

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

O grupo Diabético apresentou um aumento médio de 34,82% nos níveis glicêmicos casuais, sendo que a glicemia permaneceu em níveis elevados, acima de 280 mg/dL. Os níveis elevados para as glicemias dos animais deste grupo permitem concluir que o aloxano foi capaz de induzir e manter o estado diabético durante o experimento.

O grupo Diabético + MC apresentou uma menor variação percentual média para a glicemia, com um aumento médio de 27,05% nos índices glicêmicos, cabendo destaque a um indivíduo do grupo cujo nível glicêmico não só retornou ao valor do início (309 mg/dL), como chegou ao final do experimento com um valor abaixo daquele inicial (294 mg/dL), apresentando também valores com tendências decrescentes ao final do experimento para polifagia e polidipsia, se aproximando aos valores dos consumos hídrico e alimentar de ratos do grupo Controle.

Estudos em animais têm mostrado, diversamente, que o melão de São Caetano inibe a absorção de glicose, promove a utilização de glicose pelo fígado, contém um peptídeo semelhante à insulina, aumenta a secreção pancreática de insulina e aumenta a produção de células β no pâncreas. Entretanto, um aumento dos níveis sanguíneos de insulina não tem sido observado e o exato mecanismo pelo qual a glicemia é afetada, permanece desconhecido. De forma global, os estudos desenvolvidos em animais e as observações coletadas pela etnofarmacologia, sugerem que, de alguma maneira, o melão de São Caetano possui importante papel no tratamento do *DM*. (Abascal e Yarnell, 2005).

Os extratos de MC protegeram os glomérulos dos efeitos prejudiciais do *DM* e impediram o aumento do volume de urina, a excreção de albumina na urina e a hipertrofia renal, como também causaram redução na taxa de glicose no plasma (Grover, et al., 2001).

Algumas substâncias isoladas da planta já foram testadas, como o polipeptídeo-p, também conhecido como insulina-p, por possuir grande semelhança com a insulina,

com apenas um aminoácido a mais (metionina) foi isolado do fruto, semente e tecidos da planta (Bragança, 1996). Este polipeptídeo mostrou potente efeito antidiabético quando administrado subcutaneamente em humanos (Khanna et al., 1981). Outros polipeptídeos da planta foram estudados *in vitro*, sendo o mecanismo proposto para a hipoglicemia, a interação com receptores adrenérgicos ou da corticotrofina (Marles e Farnsworth, 1995).

Outro constituinte ativo é a charantina, uma mistura de dois glicosídeos esteroidais, com estrutura semelhante à insulina que mostrou efeito antidiabético em coelhos normais, ratos e gatos (Marles e Farnsworth, 1995). A planta possui ainda o sitosterol que é um princípio ativo antihiperlicemiante que apresenta efeitos periféricos, através da redução da síntese de glicose hepática pela inibição das enzimas gliconeogênicas como a glicose-6-fosfatase e a frutose-1,6-bifosfatase e pelo aumento da utilização de glicose pela via das pentoses, através da ativação de sua principal enzima a glicose-6-fosfato desidrogenase (Bragança, 1996).

4.3.2. Polipeptídeo Semelhante ao Glucagon - 1

Os resultados demonstram que a média dos níveis sanguíneos para o polipeptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) nos animais do grupo Diabético + MC foi 32,73% maior do que a média dos níveis sanguíneos dos animais do grupo Diabético. O grupo Controle + MC também apresentou um aumento na média dos valores de GLP-1 que quando comparado com o grupo Controle reflete um percentual de 2,83% de diferença (Tabela 4).

Tabela 4 - Valores médios de todos os grupos do polipeptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) após 25 dias de experimento e variação entre as médias dos grupos não tratados e tratados com a infusão de *Momordica charantia*

Grupo	Número de animais	GLP-1 (pg/mL)*	Variação (%)
Controle	6	35,60 ± 6,11	
Controle + MC	5	36,61 ± 8,89	+2,83
Diabético	4	44,11 ± 17,77	
Diabético + MC	4	58,55 ± 16,15	+32,73

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*

Estes resultados mostram que a administração diária da infusão aquosa de MC promoveu um aumento nos níveis sanguíneos do hormônio incretina GLP-1, fato que associado aos resultados obtidos para os níveis glicêmicos, podem estar relacionados, como descrito por Ferreira (2008), com a preservação/indução das células β pancreáticas.

O GLP-1, através do seu efeito insulínico, regula os níveis de glicose sanguínea, diminuindo a secreção de glucagon e a produção de glicose hepática (Sandoval et al., 2008). Além disso, o GLP-1 está envolvido no esvaziamento gástrico por vias neuronais, fenômeno denominado de “ileal brake”. Os nutrientes presentes na parte distal do intestino delgado sinalizam uma redução da motilidade do intestino delgado proximal (Gautier et al., 2005) levando a um melhor aproveitamento da glicose sanguínea pelos tecidos, indicando um sinal de saciedade que resulta em uma diminuição da ingestão de alimentos (Edholm et al., 2008).

A ação de redução da glicemia do GLP-1 está associada aos mecanismos normais de controle utilizados pela célula beta e alfa para regular sua secreção. A infusão de GLP-1 leva à diminuição progressiva da glicemia até a sua normalização, associada ao aumento da secreção de insulina e a supressão da secreção do glucagon, como dito anteriormente. Contudo, à medida que a glicemia retorna ao normal, vão diminuindo os efeitos na secreção e na supressão do glucagon, mecanismos que, segundo se acredita, diminuem a chance de hipoglicemia. Portanto, a resposta ao GLP-1 é distinta da resposta aos atuais secretagogos das classes das sulfoniluréias ou das glinidas, que continuam estimulando a secreção de insulina mesmo quando a glicemia volta aos valores fisiológicos (Nauck et al., 1993).

Embora os efeitos diretos do GLP-1 sobre as células β sejam mediados pela interação com os receptores de GLP-1, muitos outros efeitos da incretina são mediados por vias indiretas. As ativações das vias vagais ascendentes interligam os centros no sistema nervoso central, o que acaba resultando na comunicação com o pâncreas, o fígado e os tecidos periféricos, tais como músculos e gordura (Drucker, 2003).

O grupo Diabético demonstrou um aumento de 23,89% na média de GLP-1 quando comparado com o grupo Controle (Tabela 5). Esse fato pode ser explicado pela polifagia que esses animais apresentaram, uma vez que o GLP-1 é liberado pelas células L intestinais em resposta sincronizada à ingestão alimentar (Drucker, 2007).

Tabela 5 - Valores médios do polipeptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) após 25 dias de experimento e variação entre as médias dos grupos não tratados com a infusão de *Momordica charantia*

Grupo	Número de animais	GLP-1 (pg/mL)*	Variação (%)
Controle	6	35,60 ± 6,11	+23,89
Diabético	4	44,11 ± 17,77	

*Resultados expressos com média ± desvio padrão.

Os níveis de GLP-1 são baixos no estado de jejum e aumentam pela ingestão de uma refeição mista ou refeições ricas em gorduras e carboidratos. Sua secreção age também diminuindo os níveis de glucagon e diminuindo o esvaziamento gástrico. A diminuição do glucagon ocorre apenas no estado pós-prandial e não afeta a ação do glucagon na manutenção da glicemia no estado de jejum. Sua ação diminuindo o esvaziamento gástrico contribui para a diminuição da elevação da glicemia no estado pós-prandial (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2007).

Realmente, há uma resposta insulínica aumentada à glicose oral quando confrontada à infusão intravenosa de glicose, e esse fenômeno é conhecido como efeito incretina, o qual contribui com 30% a 60% da secreção pós-prandial de insulina. (Visboll et al., 2004).

4.3.3. Transaminases

Quanto aos valores das enzimas alanina aminotransferase (ALT) e aspartato aminotransferase (AST), pode-se observar que houve diferença significativa entre a média para ALT do grupo Controle comparada com a do grupo Diabético (Tabela 6), com um valor percentual de 307.45% de elevação para o grupo Diabético, caracterizando um quadro diabetogênico com alterações hepáticas.

Tabela 6 - Valores médios da atividade da Alanina Aminotransferase (ALT) após 25 dias de experimento e variação entre as médias dos grupos não tratados com a infusão de *Momordica charantia*

Grupo	Número de animais	ALT (U/L)*	Variação (%)
Controle	5	47,00 ± 9,14 ^a	+307,45
Diabético	4	191,50 ± 52,29 ^b	

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem significativamente (P<0,05) entre si de acordo com o teste de Scott-Knott.

Contudo, para averiguar a possibilidade dessa elevação da ALT ser ocasionada pela infusão de MC, ao compararmos os grupos Controle e o Controle + MC, não observamos diferença significativa entre a média dos mesmos (Tabela 7).

Tabela 7 – Valores da atividade da Alanina Aminotransferase (ALT) após 25 dias de experimento e variações entre as médias dos grupos não tratados e tratados com a infusão de *Momordica charantia*

Grupo	Número de animais	ALT (U/L)*	Variação (%)
Controle	5	47,00 ± 9,14	-1,06
Controle + MC	4	46,50 ± 8,54	
Diabético	4	191,50 ± 52,79	+2,87
Diabético + MC	4	197,00 ± 46,78	

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

Para excluirmos de vez a possibilidade de interferência hepática ocasionada pela infusão de MC nesse modelo experimental, comparamos ainda o grupo Diabético com o Diabético + MC e novamente não houve diferença significativa entre suas médias para a alanina aminotransferase (Tabela 7).

Quanto aos níveis de AST, não houve diferença significativa na comparação das médias dos grupos Controle e Controle + MC, ou entre o grupo Diabético e Diabético + MC, demonstrando que a infusão de MC não alterou significativamente os valores amostrais da aspartato aminotransferase no experimento em questão (Tabela 8).

Tabela 8 - Valores médios da atividade da Aspartato Aminotransferase (AST) após 25 dias de experimento e variações entre as médias dos grupos tratados e não tratados com a infusão de *Momordica charantia*

Grupo	Número de animais	AST (U/L)*	Variação (%)
Controle	5	122,40 ± 27,99	+5,19
Controle + MC	4	128,75 ± 41,45	
Diabético	4	176,75 ± 70,28	+2,40
Diabético + MC	4	181,00 ± 22,07	

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

4.3.4. Colesterol

Houve diferença significativa entre as médias dos valores para colesterol entre os grupos Controle e Diabético, com um aumento percentual de 46.69% para a média do

grupo Diabético em relação ao grupo Controle. A diferença significativa também foi observada entre as médias de colesterol nos grupos Controle + MC e Diabético + MC (Tabela 9). Esses resultados sugerem uma tendência para hipercolesterolemia associada ao *DM* nesse modelo experimental.

Acredita-se que a obesidade - especialmente abdominal - seja um dos mecanismos agravantes, tanto para desenvolvimento de *DM*, como para as doenças cardiovasculares, uma vez que ambos têm fatores comuns como a resistência à insulina, hipertensão arterial e dislipidemia. A observação da concomitância destes fatores de risco é que levou à conceituação e definição da síndrome metabólica (Grundy et al., 2004).

É particularmente a obesidade de distribuição abdominal que mais se associa à geração de resistência à insulina. O grande aporte de ácidos graxos livres ao sistema porta, oriundos da gordura visceral, provoca alterações enzimáticas e metabólicas no tecido hepático. A resistência à insulina no fígado determina a hiperinsulinemia, os distúrbios de lipoproteínas típicos da síndrome metabólica (HDL-colesterol baixo, hipertrigliceridemia e partículas pequenas e densas de LDL-colesterol), e aumento da produção de proteína C reativa (Kahn et al., 2005).

Tabela 9 - Valores médios de colesterol após 25 dias de experimento e variações entre as médias dos grupos não diabéticos e diabéticos

Grupo	Número de animais	Colesterol (mg/dL)*	Varição (%)
Controle	6	52,83 ± 8,57 ^a	+46,69
Diabético	4	77,50 ± 7,90 ^b	
Controle + MC	5	49,20 ± 11,71 ^a	+98,51
Diabético + MC	4	97,67 ± 27,93 ^b	

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem significativamente ($P < 0,05$) entre si de acordo com o teste de Scott-Knott. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

Não houve diferença significativa entre as médias de colesterol dos grupos Controle e Controle + MC, contudo o grupo Controle + MC apresentou uma redução de 6.88% na média dos valores amostrais de colesterol em comparação com o grupo Controle. Os grupos Diabéticos e Diabético + MC também não apresentaram diferença significativa entre suas médias para colesterol (Tabela 10).

Tabela 10 - Valores médios de colesterol após 25 dias de experimento e variações entre as médias dos grupos não tratados e tratados com a infusão de *Momordica charantia*

Grupo	Número de Animais	Colesterol (mg/dL)*	Variação (%)
Controle	6	52,83 ± 8,57	
Controle + MC	5	49,20 ± 11,71	-6,88
Diabético	4	77,50 ± 7,90	
Diabético + MC	4	97,67 ± 27,93	+26,02

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

Grover e colaboradores (2002) relataram que a administração oral do extrato cetônico do pó do fruto de MC por 30 dias em ratos aloxonizados reduziu a glicemia e a colesterolemia aos níveis normais mesmo após 15 dias de descontinuação do tratamento.

4.3.5. Triacilgliceróis

Houve diferença significativa entre as médias dos valores para triacilgliceróis entre os grupos Controle e Diabético (Tabela 11), com um aumento percentual de 179.80% para a média do grupo Diabético em relação ao Controle, sugerindo uma tendência para hipertrigliceridemia associada ao *DM* nesse modelo experimental.

Pacientes diabéticos apresentam anormalidades nas concentrações de lipídeos e lipoproteínas plasmáticas, que são menos comuns em não diabéticos, independente da presença dos fatores de risco da doença cardiovascular. O padrão lipídico mais comum encontrado nos pacientes diabéticos é a elevação dos triacilgliceróis e uma diminuição nos níveis do HDL colesterol (Clinical Practice Recommendations, 2007).

O tecido adiposo visceral também é fonte de adipocitocinas que deterioram a sensibilidade à insulina (como o TNF-alfa), provoca distúrbios da fibrinólise (aumento de PAI-1) e da adesão de moléculas ao endotélio, além de favorecer a elevação da pressão arterial (angiotensinogênio). Por outro lado, o acúmulo de gordura visceral provoca redução de uma adipocina que melhora a sensibilidade à insulina - a adiponectina. Esta teoria dos ácidos graxos livres também explica a resistência à insulina em tecidos periféricos (musculatura esquelética) nos quais os ácidos graxos competem com a glicose como substrato energético (Hanley et al., 2004).

Tabela 11 - Valores médios de triacilgliceróis (TAG) após 25 dias de experimento e variação entre as médias dos grupos controle e diabético

Grupo	Número de animais	TAG (mg/dL)*	Variação (%)
Controle	6	58,17 ± 17,27 ^a	+178,80
Diabético	4	162,75 ± 65,75 ^b	

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. Médias na mesma coluna seguidas de letras diferentes diferem significativamente (P<0,05) entre si de acordo com o teste de Scott-Knott.

O grupo Diabético + MC apresentou uma redução de 7,63% na média dos valores de triacilgliceróis em relação ao grupo Diabético (Tabela 12), provavelmente em consequência da menor evolução do aumento de peso corporal e da polifagia observada nos animais pertencentes a esse grupo, fato que não deixa de estar relacionado ao tratamento pela infusão de MC nesse experimento, além do aumento dos valores de GLP-1 que esse grupo apresentou, que como descrito pela literatura é capaz de elevar os valores sanguíneos de insulina e efetuar uma melhor coordenação metabólica e energética (Ferreira, 2008).

Tabela 12 - Valores médios de triacilgliceróis após 25 dias de experimento e variações entre as médias dos grupos diabético e diabético tratado com a infusão de *Momordica charantia*

Grupo	Número de animais	TAG (mg/dL) *Média	Variação (%)
Diabético	4	162,75 ± 65,75	-7,63
Diabético + MC	4	150,33 ± 42,77	

*Resultados expressos com média ± desvio padrão. MC corresponde aos grupos tratados com a infusão de *Momordica charantia*.

4.4. Discussão da Correlação dos Resultados

A manutenção de um grupo de animais experimentais diabéticos é extremamente arriscada com o andamento do experimento uma vez que os animais progridem se debilitando e o risco de perdas aumenta cronologicamente. Tendo em vista essa situação, o número de indivíduos por grupo geralmente se torna muito limitado.

O alto percentual (68,75%) de sucesso na indução do *DM* quando comparado com o descrito pela literatura (39 a 50%), nos permite afirmar que a metodologia de indução que utilizamos, possui grande valor experimental e seguramente estamos contribuindo para o desenvolvimento de protocolos mais eficazes de indução do *DM*.

Os animais do grupo Diabético + MC apresentaram uma perda de peso percentualmente maior (11,79%) do que os animais do grupo Diabético (2,68%), fato que pode se justificar devido ao efeito redutor do esvaziamento gástrico produzido pelo GLP-1, somado aos menores valores glicêmicos devido à melhora da patologia (redução da glicemia casual) nos animais tratados.

O grupo Diabético apresentou níveis maiores do GLP-1 em relação ao Controle (Tabela 5) possivelmente devido à polifagia significativamente diferente entre esses grupos (Tabela 1). Correlacionando esse raciocínio ao grupo Diabético + MC, observamos dois fatores que contribuem quantitativamente de forma oposta para os valores médios do GLP-1:

- 1) A redução da polifagia, que teórica (Drucker, 2007) e experimentalmente reduziu os níveis do GLP-1 e;
- 2) A ingestão da infusão de MC que experimentalmente aumentou os níveis do GLP-1.

Entretanto, o grupo Diabético por não ter recebido a infusão da planta, apresentou como interferência quantitativa nos valores do GLP-1 somente a polifagia. Essa relação torna ainda mais expressivo o aumento (32,73%) que o grupo Diabético + MC apresentou em relação aos valores médios para o GLP-1 em comparação com o grupo Diabético.

A exclusão da interferência da infusão de MC, nesse modelo experimental, nos valores das médias das enzimas aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase, proporciona mais segurança no que se diz às manifestações hepáticas para novos experimentos com essa planta, fato que julgamos como grande contribuição para a elaboração de futuros projetos.

5. Conclusão

Os dados apresentados neste estudo mostraram que a infusão aquosa dos frutos de MC, não interferiu na atividade das enzimas alanina aminotransferase e aspartato aminotransferase, causou diminuição nos índices glicêmicos e de triacilgliceróis em ratos diabéticos aloxano induzidos, e elevação dos valores sanguíneos para o polipeptídeo semelhante ao glucagon (GLP-1) e, provavelmente, exerce efeito semelhante em humanos, confirmando o descrito pela etnofarmacologia da espécie vegetal.

Dentro deste contexto, os resultados encontrados servem como referência para futuras pesquisas que busquem elucidar como e qual(is) componente(s) da MC promovem uma elevação significativa dos níveis do hormônio incretina GLP-1, contribuindo, desta forma, para o desenvolvimento de uma nova classe de fármacos antidiabéticos.

6. Referências Bibliográficas

- ABASCAL, K.; YARNELL, N. D. Using bitter melon to treat diabetes. **Alternative e Complementary Therapies**, v.11, n.4, p.179-184, 2005.
- ABDEL-HASSAN, I.A.; ABDEL-BARRY, J.A.; MOHAMMEDA, S.T. The hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Citrullus colocynthis* fruit aqueous extract in normal and alloxan diabetic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**, v.71, n.1, p.325-330, 2000.
- AMERICAN COLLEGE OF ENDOCRINOLOGY CONSENSUS STATEMENT ON GUIDELINES FOR GLYCEMIC CONTROL. **Endocrine Practice**, v.8, n1, p.5-11, 2002.
- AYBAR, M.; RIERA, A.N.S.; GRAU A. et al. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallantus sonchifolius* (yacon) leaves in normal and diabetic rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.74, n.2, p.125-132, 2001.
- BAGGIO, L.L.; DRUCKER, D. L. Biology of Incretins: GLP-1 and GIP. **Gastroenterology**, v.32, n.1, p.2131-2157, 2007.
- BARCELÓ, A.; AEDO, C.; RAJPATHAK, S. et al. The cost of diabetes in Latin America and the Caribbean. **Bulletin of the World Health Organization**, v.81, n.1, p.19-27, 2003.
- BENOTMANE, A.; MOHAMMED, F.; AYAD, F. et al. Diabetic foot lesions: Etiologic and Prognostic factors. **Diabetes & Metabolism**, v.26, n.2, p.113-7, 2000.
- BOTANICAL - *Momordica charantia* L. Family: Cucurbitaceae (gourd). <http://ViableHerbal.com>
http://www.google.com.br/images?um=1&hl=pt-br&biw=1024&bih=581&tbs=isch%3A1&sa=1&q=momordica+charantia&aq=f&aqi=g10&aql=&oq=&gs_rfai=. Acessado em Setembro de 2010.
- BOULTON, A.J.M.; GRIES, F. A.; JERVELL, J. A. et al. Guidelines for the diagnosis and out-patient management of diabetic peripheral neuropathy. **Diabetic Medicine**, v.15, n.4, p.508-514, 1998.
- BRAGANÇA, L.A.R. Plantas medicinais antidiabéticas. Uma abordagem multidisciplinar. Rio de Janeiro: Editora EDUFF, 1996. p.168-169.
- BREKKE, I. B.; HOSTMARK, A.T.; FLATEN, O. et al. Effect of pancreas transplantation on plasma lipids and plasma concentration of pancreatic hormones in streptozotocin diabetic rats. **European Surgical Research**, v.13, n.5, p.361-370, 1981.
- BRYNES, A. E.; FROST, G.S.; MARK, C. et al. Plasma Glucagon Like Peptide1 (736) Amide (GLP1) Response to Liquid Phase, Solid Phase, and Meals of Differing Lipid Composition. **Nutrition**, v.14, n.5, p.433-436, 1998.
- BRUCE D.G.; STORLIEN, L.H.; FURLER, S.M. et al. Cephalic phase metabolic responses in normal weight adults. **Metabolism**, v.36, n.8, p.721-725, 1987.

CALIXTO, J. B. Efficacy, safety, quality control, marketing and regulatory guidelines for herbal medicines (phytotherapeutic agents). **Brazilian Journal Medical Biological Research**, v.33, n.2, p.179-189, 2000.

CARVALHO, J. C. T. **Fitoterápicos anti-inflamatórios: aspectos químicos, farmacológicos e aplicações terapêuticas**. São Paulo: Ed. Tecmed, 2004. 480p.

CHEMBLINK. **Online database of chemicals from around the world**. <http://www.chemblink.com/products/106612-94-6.htm>. Acessado em setembro de 2010.

CLINICAL PRACTICE RECOMMENDATIONS 2007. **Diabetes Care**, v.30, n.1, p.12-15, 2007.

CNOP, M.; WELSH, N.; JONAS, J. C. et al. Mechanisms of pancreatic beta-cell death in type 1 and type 2 diabetes: many differences, few similarities. **Diabetes**, v.54, n.2, p.97-107, 2005.

DE FRONZO R. A pathogenesis of type 2 *Diabetes mellitus*. **Medical Clinics of North American**, v.88, n.4, p.787-835, 2004.

DE MEESTER, I.; KOROM, S.; DAMME, J.V. et al. CD26, let it cut or cut it down. **Immunology Today**, v.20, n.8, p.367-374, 1999.

DEL PRATO, S.; MARCHETTI, P.; BONADONNA, R. C. Phasic insulin release and metabolic regulation in type 2 diabetes. **Diabetes**, v.51, n.1, p.109-S116, 2002.

DELAMAIRE, M.; MAUGENDRE, D.; MORENO, M. et al. Impaired leucocyte function in diabetic patients. **Diabetic Medicine**, v.14, n.5, p.29-30, 1997.

DHANVANTARI, S.; IZZO A.; JANSEN, E. et al. Coregulation of GlucagonLike Peptide1 Synthesis with Proglucagon and Prohormone Convertase 1 Gene Expression in Enteroendocrine GLUTag Cells. **Endocrinology**, v.142, n.1, p.37-42, 2001.

DINIZ, M. F. F.; OLIVEIRA, R.A.G.; MEDEIROS, A.C.D. et al. **Memento fitoterápico: as plantas como alternativa terapêutica aspectos populares e científicos**. João Pessoa: Editora Universitária/UFPB, 1997. p.205-206.

DINNEEN, S.; GERICH, J.; RIZZA, R. Carbohydrate metabolism in non-insulin dependent *Diabetes mellitus*. **New England Journal of Medicine**, v.327, n.10, p.707-713, 1992.

DRUCKER, D. J. Glucagon-like peptides regulators of cell proliferation, differentiation, and apoptosis. **Molecular Endocrinology**, v.17, n.2, p.161-171, 2003.

DRUCKER, D. J. The biology of incretin hormones. **Cell Metabolism**, v.3, n.1, p.153-165, 2006.

DRUCKER, D. J. The role of gut hormones in glucose homeostasis. **Journal Clinical Investigation**, v.117, n.3, p.24-32, 2007.

EDHOLM, T.; CEJVAN, K.; ABDELHALIN, S.M. et al. The incretin hormones GIP and GLP-1 in diabetic rats: effects on insulin secretion and small bowel motility. **Neurogastroenterol & Motility**, v.21, n.3, p.313-321, 2008.

FERREIRA, R.M. **Efeito da Infusão dos Frutos de *Momordica charantia L.* em Ratas Diabéticas**. 2008. 76 f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais.

FORTI, A. C. Estratégias terapêuticas baseadas nas vias do GLP-1. **Advanced Studies in Medicine**, v.6, n.7B, p.618-626, 2006.

GAEDE, P.; VEDEL, P.; PARVING, H. H. et al. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes and microalbuminuria: the Steno type 2 randomised study. **Lancet**, v.353, n.9153, p.617-622, 1999.

GAUTIER, J.F.; FETITA, S.; SOBNGWI, E. et al. Biological actions of the incretins GIP and GLP-1 and therapeutic perspectives in patients with type 2 diabetes. **Diabetes Metabolism**, v.31, n.3, p.233-242, 2005.

GAVIN III, J.R. Pathophysiologic mechanisms of postprandial hyper-glycemia. **The American Journal of Cardiology**, v.88, n.6A, p.4H-8H, 2001.

GRAY, A.M. AND FLATT, P.R. Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant *Coriandrum sativum* (Coriander). **British Journal of Nutrition**, v.81, n.3, p.203-209, 1999.

GROMADA, J. K.; BOKVIST, K.; DING, W.G. et al. Glucagon-like peptide 1 amide stimulates exocytoses in human pancreatic beta-cells by both proximal and distal regulatory steps in stimulus-secretion coupling. **Diabetes**, v.47, n.1, p.57-65, 1998.

GROVER, J. K.; RATHI, S.S.; DAWAR, R. et al. Traditional Indian anti-diabetic plants attenuate progression of renal damage in streptozotocin induced diabetic mice. **Journal of Ethnopharmacology**, v.76, n.1, p.233-236, 2001.

GROVER J. K.; YADAV, S.; VATS, N.V. Medicinal plants of India with antidiabetic potential. **Journal of Ethnopharmacology**, v.81, n.1, p.81-100, 2002.

GRUNDY, S.M.; BRYAN, H.; JR, M. D. et al. Definition of metabolic Syndrome: Report Of the National Heart, Lung and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related do definition. **Circulation**, v.109, n.13-18, p.433-438, 2004.

HAFFNER, S. M. et al. Mortality from coronary artery disease in subjects with type 2 diabetes and in nondiabetic subjects with and without prior myocardial infarction. **New England Journal of Medicine**, v.339, n.4, p.229-234, 1998.

HANLEY, A.J.; FESTA, A.; D'AGOSTINO, R. B. et al. Metabolic and inflammation variable clusters and prediction of type 2 diabetes: factor analysis using directly measured insulin sensitivity. **Diabetes**, v.53, n.7, p.1773-1781, 2004.

HIGASHIURA, K.; URA, N.; TAKADA, T. et al. The effects of an angiotensin-converting enzyme inhibitor and an angiotensin II receptor antagonist on insulin resistance in fructose-fed rats. **American Journal of Hypertension**, v.13,n.1,p.290-297, 2000.

HOLST, J.J. and ORSKOV, C. Incretin Hormones - an update. **Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation**, v.234, n.1, p.75-85, 2001.

HOLST, J. J.; VILSBOLL, T.; DEACON, C. F. The incretin system and its role in type 2 *Diabetes mellitus*. **Molecular and Cellular Endocrinology**, v.15, n.12, p.127-136, 2009.

HUYSKENS, S.; MENDINGLER, S.; BENZIONI, A. et al. Optimization of agrotechniques for cultivating *Momordica charantia* (karela). **Journal of Horticultural Science**, v.67, n.2, p.259-264, 1992.

IVORRA, M. D.; PAYÁ, M.; VILLAR, A. A review of natural products and plants as potential antidiabetic drugs. **Journal of Ethnopharmacology**, v.27, n.3, p.243-275, 1989.

KAHN, R. The metabolic syndrome: time for a critical appraisal: joint statement from the American Diabetes Association and the European Association for the study of Diabetes. **Diabetes Care**, v.29, n.1, p.2289-2304, 2005.

KASIVISWANATH, R.; RAMESH, A.; KUMAR, K.E. Hypoglycemic and antihyperglycemic effect of *Gmelina asiatica* Linn. in normal and in alloxan induced diabetic rats. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.28, n.4, p.729-732, 2005.

KENDALL, D. M.; RIDDLE, M.C.; ROSENSTOCK, J. et al. Effects of exenatide (exendin-4) on glycemic control over 30 weeks in patients with type 2 diabetes treated with metformin and a sulfonylurea. **Diabetes Care**, v.28, n.5, p.1083-1091, 2005.

KHANNA, P. Hypoglycemic activity of polipeptide-p from a plant source. **Journal of Natural Products**, v.44, n.6, p.648-55, 1981.

KIM, S. J.; WINTER, K.; CUILAN, N. et al. GIP stimulation of pancreatic beta-cells survival is dependent upon phosphatidyl inositol 3-kinase (PI3-K)/protein kinase B (PKB) signaling, inactivation of the forkhead transcription factor Foxo1 and downregulation of bax expression. **Journal Biological Chemistry**, v.280, n.23, p.22297-22307, 2005.

KOIVISTO, V. A.; STEVENS, L. K.; MATTOCK, M. et al. Cardiovascular disease and its risk factors in IDDM in Europe. **Diabetes Care**, v.19, n.7, p.689-697, 1996.

KRONENBERG, H.M. **Williams Textbook of Endocrinology**. 11th ed. Philadelphia, W. B. Saunders, 2007. 1936p.

KULKARNI, R.N.; WINNAY, J. N.; DANIELS, N. et al. Altered function of insulin receptor substrate-1-deficient mouse islets and cultured beta-cell lines. **The Journal of Clinical Investigation**, v.104, n.12, p.69-75, 1999.

KUO, P.; CHAIKOMIN, R.; PILICHIEWICS, A. et al. Transient, early release of glucagonlike peptide1 during low rates of intraduodenal glucose delivery. **Regulatory Peptides**, v.146, n.1, p.1-3, 2008.

LEBOVITZ, H.E. A Symposium: Managing the atherogenic potential of the postprandial state. **The American Journal of Cardiology**, v.88, n.1, p.1H-3H, 2001.

LENZEN, S.; PANTEN, U. Alloxan: history and mechanism of action. **Diabetologia**, v.31, n.6, p.337-342, 1988 (Review)

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan and streptozotocin-induced diabetes. **Diabetologia**, v.51, n.2 p.216-226, 2008.

LERCO, M. M.; SPADELLA, D.C.; MACHADO, J. L. et al. Caracterização de um modelo experimental de *Diabetes mellitus*, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.18, n.2, p.132-142, 2003.

LI, W.; DAI, R. J.; YU, Y. H. et al. Antihyperglycemic effect of *Cephalotaxus sinensis* leaves and GLUT-4 translocation facilitating activity of its flavonoid constituents. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.30, n.6, p.1123-1129, 2007.

LITTLE, T.J.; DORAN, S.; MEYER, J. H. et al. The release of GLP-1 and ghrelin, but not GIP and CCK, by glucose is dependent upon the length of small intestine exposed.

American Journal of Physiology – Endocrinology and Metabolism, v.291, n.1, p.647-655, 2006.

LORENZI, H. **Plantas daninhas do Brasil – terrestres, aquáticas, parasitas e tóxicas**, 3ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2000. 640p.

LUKENS, F. D. W. Alloxan diabetes. *Physiological Reviews*, v.28, n.3, p.304-330, 1948, apud **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n.2, p.132-142, 2003.

MALERBI, D.; FRANCO, L. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. Multicenter Study of the Prevalence of *Diabetes mellitus* and Impaired Glucose Tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 years: **Diabetes Care**, v.15, n.11, p.1509-1516, 1992.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. Review. **Phytomedicine**, v.2, n.2, p.137-189, 1995.

MATOS, F. J. A. **O formulário fitoterápico do professor Dias da Rocha: informações sobre o emprego na medicina caseira de plantas do Nordeste, especialmente do Ceará**. 2ª ed. Fortaleza: EUFC, 1997. 260p.

MAZZANTI, C. M.; SCHOSSLER, D. S.; FILAPPI, A. et al. Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais diabéticos. **Ciência Rural**, v.33, n.6, p.1061-1065, 2003.

MCKILLOP, A.M. et al. Secretion of glycated insulin from pancreatic beta-cells in diabetes represents a novel aspect of beta-cell dysfunction and glucose toxicity. **Diabetes & Metabolism**, v.28, n.6, p.3S61-3S69, 2002.

MENEILLY, G. S.; ABDEL-WAHAB, Y.H.; MOONEY, M.H. et al. Effects of 3 months of continuous subcutaneous administration of glucagons-like peptide 1 in elderly patients with type 2 diabetes. **Diabetes Care**, v.26, n.6, p.2835-2841, 2003.

MEYER, U.; GRESSNER, A. M. Endocrine regulation of energy metabolism: review of pathobiochemical and clinical chemical aspects of leptin, ghrelin, adiponectin, and resistin. **Clinical Chemistry**, v.50, n.9, p.1511-1525, 2004.

MIYAWAKI, K.; YAMADA, Y.; YANO, H. et al. Glucose intolerance caused by a defect in the entero-insular axis: a study in gastric inhibitory polypeptide receptor knockout mice. **Proceeding National Academy of Science**, v.96, n.26, p.14843-14847, 1999.

MROZIKIEWICZ, A.; KIELCZEWSKA-MROZIKIEWICZ, D.; LOWICKI, Z. et al. Blood levels of alloxan in children with insulin-dependent *Diabetes mellitus*. **Acta Diabetologica**, v.31, n.4, p.236-237, 1994.

MULLER, L. Increased risk of common infections in patients with type 1 and 2 diabetes mellitus. **Clinical Infectious Disease**, v.41, n.3, p.281-8, 2005.

NAGARAJAN, N.S.; MURUGESH, N.; KUMARESAN, P.T. et al. Antidiabetic and antihyperlipemic effects of *Cleome felina*. **Fitoterapia**, v.76, n.3, p.310-315, 2005.

NAUCK, M. A.; KLEINE, N.; ORSKOV, C. et al. Normalization of fasting hyperglycaemia by exogenous glucagons-like peptide 1 (7-36 amide) in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients. **Diabetologia**, v.36, n.8, p.741-744, 1993.

NOVAK, U.; WILKS, A.; BUELL, G. et al. Identical mRNA for preproglucagon in pancreas and gut. **European Journal of Biochemistry**, v.164, n.3, p.553-558, 1987.

POITOUT, V.; ROBERTSON, R. P. Minireview: secondary beta-cell failure in type 2 diabetes: a convergence of glucotoxicity and lipotoxicity. **Endocrinology**, v.143, n.2, p.339-342, 2002.

PRATT, D.S.; KAPLAN, M.M. Laboratory tests. In Schiff ER, Sorell MF, Maddrey WC. **Diseases of the Liver**. Lippincott - Raven, Philadelphia, 8ª edição, v.1, p.205-244, 1999.

PRESTA, G. A.; PEREIRA, N. A. Atividade do Abagerú (*Chrysobalanus icaco* L. *Chrysobalanaceae*) em modelos experimentais para o estudo de plantas hipoglicemiantes. **Revista Brasileira de Farmácia**, v.68, n.4, p.91-101, 1987.

RACHMAN, J.; BARROW, B. A.; LEVY, J. C. et al. Near-normalisation of diurnal glucose concentrations by continuous administration of glucagons-like peptide-1 (GLP-1) in subjects with NIDDM. **Diabetologia**, v.40, n.2, p.205-211, 1997.

RAO, B. K.; KESAVULU, M. M.; APPARAO, C. H. Antihyperglycemic activity of *Momordica cymbalaria* in alloxan diabetics rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.78, n.1, p. 67-71, 2001.

RENISUS – **Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS** - <http://portal.saude.gov.br/portal/arquivos/pdf/RENISUS.pdf>. DAF/SCTIE/MS-fev/2009. Acessado em Agosto de 2009.

RICHEY, J.M.; ADER, M.; MOORE, D. et al. Angiotensin II induces insulin resistance independent of changes in interstitial insulin. **American Journal of Physiology**, v.277, n.5, p.E920–E926, 1999.

ROBINSON, R.W.; DECKER-WALTERS, D.S. Cucurbits. New York: Cab International. 1997. 226p. apud Bezerra, A.M.E., Momente, V.G., Araújo, E.C., Medeiros Filho, S. Germinação e Desenvolvimento de plântulas de Melão de São Caetano em diferentes ambientes e substratos. **Ciência Agrônômica**, v.33, n.1, p.39-44, 2002.

ROMERO, J.C., RECKELHOFF, J.F. Role of angiotensin and oxidative stress in essential hypertension. **Hypertension**, v.34, n.1, p.943-949, 1999.

SAID, O.; KHALIL, K.; FULDER, S. et al. Ethnopharmacological survey of medicinal herbs in Israel, the Golan Heights and the West Bank Region. **Journal of Ethnopharmacology**, v.83, n.3, p.251-265, 2002.

SANDOVAL, D. A.; RAGNOL, D.; WOODS, S. C. et al. Arcute glucagonslike peptide 1 receptors regulate glucose homeostasis but not food intake. **Diabetes**, v.57, n.8, p.2046-2054, 2008.

SAYDAH, S. H.; FRADKIN, J.; COWIE, C. C. Poor control of risk factors for vascular disease among adults with previously diagnosed diabetes. **The Journal of the American and Medical Association**, v.291, n.3, p. 335-342, 2004.

SENANAYAKE, G. V. K.; MURUYAMA, M.; SHIBUYA, K. et al. The effects of bitter melon (*Momordica charantia*) on serum and liver triglyceride levels in rats. **Journal of Ethnopharmacology**, v.91, n.2-3, p.257-262, 2004.

SHAN, J.J.; YANG, M.; REN, J. Anti-diabetic and hypolipidemic effects of aqueous-extract from the flower of *Inula japonica* in alloxan-induced diabetic mice. **Biological & Pharmaceutical Bulletin**, v.29, n.3, p.455-459, 2006.

SHARMA, S. B.; NASIR, A.; PRABHU, K. M. et al. Hypoglycaemic and hypolipidemic effect of ethanolic extract of seeds of *Eugenia jambolana* in alloxan-induced diabetic rabbits. **Journal of Ethnopharmacology**, v.85, n.2-3, p.201-206, 2006.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Posicionamento oficial número 3: Novas perspectivas para o tratamento do diabetes tipo 2: incretinomiméticos e inibidores da DPP-IV**, 2007. p.4-18.

SZAYNA, M.; DOYLE, M. E.; BETKEY, J. A. et al. Exendin-4 decelerates food intake, weight gain, and fat deposition in Zucker rats. **Endocrinology**, v.141, n.6, p. 1936-1941, 2000.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in beta-cells of the rat pancreas. **Physiological Research**, v.50, n.6, p.536-546, 2001.

TRUMPER, A. Glucose-dependent insulinotropic polypeptide is a growth factor for beta-cells by pleiotropic signaling. **Molecular Endocrinology**, v.15, n.9, p.1559-1570, 2001.

TSENG, C. C.; KIEFFER, T. J.; JARBOE, L. A. et al. Postprandial stimulation of insulin release by glucose-dependent insulinotropic polypeptide (GIP). Effect of a specific glucose-dependent insulinotropic polypeptide receptor antagonist in rat. **Journal Clinical Investigation**, v.98, n.11, p.2440-2445, 1996.

TURNER, R. C. The UK prospective diabetes study. **Diabetes Care**, v.21, n.3, p.C35-38, 1998.

UGLEHOLDT, R.; POULSEN, M. L. H.; HOLST, P. J. et al. Prohormone Convertase 1/3 Is Essential for Processing of the Glucose-dependent Insulinotropic Polypeptide Precursor. **Journal Biological Chemistry**, v.281, n.16, p.11050-7, 2006.

UGLEHOLDT, R.; ZHU, X.; DEACON, C. F. et al. Impaired intestinal proglucagon processing in mice lacking prohormone convertase 1. **Endocrinology**, v.145, n.3, p.1349-55, 2004.

UNITED KINGDOM PROSPECTIVE DIABETES STUDY (UKPDS). Overview of 6 year's therapy of type II diabetes: a progressive disease. **Diabetes**, v.44, n.11, p.1249-1258, 1998.

VELLOSO, L.; NETTO, A. P. **Fisiologia e fisiopatologia das células beta: implicações clínicas e terapêuticas**. São Paulo: e-book, 2008. Disponível em: <http://www.diabetesebook.org.br/capitulo/fisiologia-e-fisiopatologia-das-celulas-beta-implicacoes-clinicas-e-terapeuticas/>. Acessado em: 04 agosto de 2009.

VIJAYAKUMAR, M.V.; SINGH, S.; CHHIPA, R. R. et al. The hypoglycaemic activity of fenugreek seed extract is mediated through the stimulation of an insulin signaling pathway. **British Journal of Pharmacology**, v.146, n.1, p.41-48, 2005

VIRDI, J.; SIVAKAMI, S.; SHAHANI, S. et al. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. **Journal of Ethnopharmacology**, v.88, n.1, p.107-111, 2003.

VISBOLL, T.; HOLST, J. J. Incretins, insulin secretion and Type 2 *Diabetes mellitus*. **Diabetologia**, v.47, n.3, p.357-366, 2004.

- VOLPATO, G. T.; DAMASCENO, D. C.; CALDERON, I. M. P. et al. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do *Diabetes mellitus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p.35-45, 2002.
- WALTERS, T.W.; DECKER-WALTERS, D.S. Balsam-pear (*Momordica charantia*, *Cucurbitaceae*). **Economic Botany**, v.42, n.2, p.286-292, 1988.
- WEYER, C.; BORGADUS, C.; MOTT, D, M. et al. The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 *Diabetes mellitus*. **The Journal of Clinical Investigation**, v.104, n.6, p.787-794, 1999.
- WHITE, J. W.; GRADY, F. S. Structure of the human glucagon gene. **Nucleic Acids Research**, v.14, n.12, p.4719-4729, 1986.
- WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A. et al. Global prevalence of diabetes. Estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v.27, n.5, p.1047-53, 2004.
- WOERLE, H. J.; PIMENTA, W. P.; MEYER, C. et al. Diagnostic and therapeutic implications of relationships between fasting, 2-hour postchallenge plasma glucose and hemoglobin A1c values. **Archives of Internal Medicine**, v.164, n.15, p.1627-1632, 2004.
- XIE, J.T.; WANG, C. Z.; WANG, A. B. et al. Antihyperglycemic effects of total ginsenosides from leaves and stem of *Panax ginseng*. **Acta Pharmacologica Sinica**, v.26,n.9, p.1104-1110, 2005
- YAMADA, K.; HAYASHI, M.; DU, W. et al. Localization of CD26/DPPIV in nucleus and its nuclear translocation enhanced by antiCD26 monoclonal antibody with anti-tumor effect. **Cancer Cell International**, v.9, n.17, p.1475-1485, 2009.
- YANEY, G. C.; CORKEY, B. E. Fatty acid metabolism and insulin secretion in pancreatic beta-cells. **Diabetologia**, v.46, n.10, p.1297-1312, 2003.
- YANG, S. L.; WALTERS, T. W. Ethnobotany and the economic role of the Cucurbitaceae of China. **Economic Botany**, v.46, n.4, p.349-367, 1992.
- YIP, R. G.; BOYLAN, M. O.; KIEFFER, T. J. et al. Funcional GIP receptors are presents on adipocytes. **Endocrinology**, v.139, n.9, p.4004-4007, 1998.
- ZANDER M.; MADSBAD, S.; MADSEN, J. L. et al. Effect of 6-week course of glucagons-like peptide 1 on glycaemic control, insulin sensitivity, and beta-cells function in type 2 diabetes: a parallel-group study. **Lancet**, v.359, n.9309, p.824-830, 2002.
- ZANOELLO, A. M.; MELAZZO-MAZZANTI, C.; KERPEL-GINDRI, J. et al. Efeito protetor do *Syzygium cumini* contra *Diabetes mellitus* induzido por aloxano em ratos. **Acta Farmaceutica Bonaerense**, v.21, n.1, p.31-36, 2002.
- ZHU, X.; ZHOU, A.; DEY, A. et al. Disruption of PC1/3 expression in mice causes dwarfism and multiple euroendocrine peptide processing defects. **Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America**, v.6, n.16, p.1029-1038; 2002.
- ZIMMET, P.; ALBERTI, K.G.M.M.; SHAW, J. Insight review articles global and societal implications of the diabetes epidemic. **Nature**, v.414, n.6865, p.782-787, 2001.