

Efeito de naringenina e fruta-de-lobo no diabetes

Naringenin and wolf fruit effects in diabetes

Tânia Toledo de Oliveira^{1*}; Selma Coelho Liberato¹; Tanus Jorge Nagem²; Aloisio da Silva Pinto³; Neuza Maria de Magalhães¹; Ednaldo Queiroga de Lima⁴; Neuza Maria Costa Brunoro⁵; Josefina Bressan⁵; Marcelo Rocha da Costa⁶; Rosimar Regina da Silva¹ & Maria Aparecida Leão¹

RESUMO – O presente trabalho objetiva avaliar o efeito do amido da fruta-de-lobo e do flavonóide naringenina em coelhos com diabetes induzido por aloxano. Os resultados evidenciaram um aumento estatisticamente significativo no peso de todos os grupos avaliados, sendo maior no grupo controle. Os níveis de colesterol, triacilgliceróis e glicose elevaram-se significativamente no grupo tratado com aloxano em relação ao controle. O grupo tratado com naringenina e fruta-de-lobo apresentaram uma redução estatisticamente significativa nas concentrações sanguíneas de colesterol e triacilgliceróis evidenciando a eficácia de suas ações como hipolipidêmicas. A redução dos níveis de glicose sanguínea de 16,5%, embora não significativa, mostrou-se importante no grupo de animais tratados com naringenina.

PALAVRAS-CHAVE – Naringenina, fruta-de-lobo, diabetes.

SUMMARY – The present work evaluates the effect of the wolf fruit and flavonoid naringenin in diabetes rabbits induced by aloxan. The results evidenced a statistically significant increase in the weight of all animal groups, being larger in the control group. The cholesterol levels, triacilglycerols and glyucose increased in the alloxan's group relation to the control. The group treated with naringenin and wolf fruit presented a reduction of cholesterol and triacilglycerols in the blood serum showing an effective action as hypolipidaemic. The reduction of glucose level of 16.5% in the group treated with naringenin, even not statistically significant is important.

KEYWORDS – Naringenin, wolf fruit, diabetes.

INTRODUÇÃO

O diabetes acomete, no Brasil, 10% da população adulta. Constitui um conjunto de desordens metabólicas resultantes da insuficiência de insulina ou de fatores que interferem na ação desse hormônio, que se inicia pela sua ligação aos receptores, constituídos de glicoproteínas, e localizados nas membranas plasmáticas das células (Smith *et al.*, 1988). A insulina estimula o transporte de glicose para dentro dos tecidos muscular e adiposo, por promover a translocação de transportadores de glicose (glicoproteínas) intracelulares para a membrana. Tal efeito é reversível. Os transportadores retornam para o interior celular após a liberação da insulina. A fosforilação da glicose garante sua difusão facilitada para dentro das células (Davis, Granner, 1996).

A ligação da insulina aos seus receptores tirosina quinase na membrana celular estimula a atividade de proteína quinase, intrínseca ao próprio receptor, específica para resíduos de tirosina (Sorenson *et al.*, 1994; Marzzoco, Torres, 1999). O passo seguinte consiste na autofosforilação do receptor, que fica ativado desencadeando a fosforilação de vários substratos intracelulares (Kahn, 1998). Os substratos mais estudados são

proteínas de alto peso molecular, substrato-receptor de insulina 1 e 2 (IRS-1 e IRS-2). Essas proteínas fosforiladas servem como sítios de ligação e ativação de outras proteínas intracelulares contendo domínio SH₂ (White, Kahn, 1994; Kahn, 1998). Em alguns pacientes com diabetes tipo 2, a expressão do gene Rad que codifica a proteína Ras, que inibe a captação de glicose estimulada por insulina, é elevada no músculo esquelético (Kahn, 1998).

Para a convivência com essa doença, há necessidade de um rigoroso controle da glicemia, uma vez que ainda não se conhece a sua cura (Ensminger *et al.*, 1994).

Mais de 400 espécies vegetais têm sido citadas como benéficas no controle do diabetes (Gray, Flatt, 1999). A forrageira *Solanum lycocarpum*, vulgarmente conhecida como fruta-de-lobo, é uma planta daninha, com uso medicinal (Brandão *et al.*, 1985). Fitoterápicos à base de frutos de *Solanum lycocarpum* St. Hills tem sido amplamente utilizados no controle do diabetes, da obesidade e do nível de colesterol sanguíneo (Dall'agnol, Poser, 2000). Entretanto, esses fitoterápicos apresentaram efeito tóxico no sistema reprodutivo masculino, com possível atividade antian-drogênica, em camundongos tratados com 60 mg (Sá *et al.*, 2000). Embora o nível de flavonóides não tenha

Recebido em 14/02/2002

Aprovado em 25/02/2002

¹Depto. de Bioquímica e Biologia Molecular, Universidade Federal de Viçosa, Minas Gerais; ²Depto. de Química, Universidade Federal de Ouro Preto;

³Depto. de Veterinária, Univ. Federal de Viçosa, Minas Gerais; ⁴Depto. de Medicina Veterinária, Centro de Saúde e Tecnologia Rural – Univ. Federal do Paraíba;

⁵Depto. de Nutrição, Univ. Federal de Viçosa; ⁶Graduação em Medicina – Univ. Federal de Minas Gerais.

sido determinado em *S. lycocarpum*, seu fruto contém 0,26% de solasodina (Kerber *et al.*, 1996, citados por Dall'agnol, Poser, 2000). Os flavonóis são predominantes, porém as flavonas são mais amplamente encontradas na subclasse *Androceras* que em outras *Solanaceae* (Whalen, Mabry, 1979). De 23 vegetais analisados, *S. tuberosum* (batata) foi o que apresentou menor conteúdo de fenóis, menor nível de flavonóides livres e totais e, ainda assim, foi o segundo melhor em qualidade de antioxidantes, baseado nos fenóis totais. Os vegetais tiveram uma qualidade antioxidante comparável a dos flavonóides puros e foram superiores para as vitaminas antioxidantes (Vinson *et al.*, 1998). Dentre os polifenóis de *Solanum* spp., são encontrados antocianinas, cumarinas, derivados do ácido cinâmico, além de quercetina e rutina, e alguns flavonóis glicosilados como kaempferol, miricetina e luteolina (Harborne, 1962).

Os flavonóides são um grande grupo de compostos polifenólicos de origem vegetal, responsáveis por diferentes efeitos biológicos, tais como: antibacteriano, antiviral, antiinflamatório, antialérgico, com ações vasodilatadoras, de inibição da peroxidação de lipídios, de agregação plaquetária, e diminuição da permeabilidade capilar e sobre a atividade de algumas enzimas, como a ciclo-oxigenase e a lipoxigenase (Hertog *et al.*, 1995). Os flavonóides são promissores fármacos naturais. A aplicação do antiinflamatório Daflon 500[®], um medicamento contendo uma fração de flavonóides purificados, (90% de diosmina e 10% de hesperidina) reduziu a hiperglicemia em ratos diabéticos (Jean, Bodinier, 1994). Os flavonóides agem inibindo várias enzimas como: hidrolases (β -glucuronidase, β -galactosidase, lipases e fosfodiesterases), liases (DOPA descarboxilase), transferases (catecol O-metiltransferase), hidroxilases (arilidroxilase), oxirredutases (aldose redutase) e quinase (hexoquinases) (Havsteen, 1983) e exercem efeitos como antioxidante, quelantes de cátions divalentes e carreadores de radicais livres (Hertog *et al.*, 1995). Altas concentrações plasmáticas de isoflavonóides foram encontrados em humanos vivendo em regiões com baixa incidência de câncer e doenças cardíacas (Mazur *et al.*, 1998). Pesquisas têm demonstrado que alguns flavonóides como por exemplo a genisteína têm efeito como potente inibidor de tirosina quinase aumentando a liberação de insulina (Sorenson *et al.*, 1994). Outro pesquisadores como Drake & Posner, 1998 sugerem que as proteínas tirosinas fosfatases, mais que as proteínas tirosinas quinases, desempenham um papel crítico na regulação da ação da insulina. A genisteína tem mostrado ação ativadora daquelas proteínas estimulando a secreção de insulina.

Há mais de dez anos temos pesquisado sobre a farmacologia e toxicologia de flavonóides de origem natural e sintéticos. Sendo a naringenina encontrada em frutos cítricos e com potencial farmacológico para diversas desordens, optou-se por testá-la junto com amido de fruta-de-lobo que também conterá flavonóides.

Considerando a potencialidade dos vegetais de apresentar efeitos terapêuticos no controle da glicemia, bem como os compostos flavonóides, foi desenvolvido o presente trabalho que objetivou avaliar o efeito do amido da fruta-de-lobo e naringenina em coelhos com diabetes induzido por aloxano.

MATERIAL E MÉTODOS

Inicialmente foi realizado a extração do amido da fruta-de-lobo, que seguiu as seguintes etapas: higienização, trituração, despulpamento, suspensão em água + amido, decantação por 24 horas em temperatura ambiente e secagem ao sol, resultando em frações escura e clara. Esta última fração tem sido utilizada por pessoas no controle da diabetes. Sua composição é 0,34% de proteínas, 0,08% de lipídios, 14,96% de umidade, 0,03% de cinzas e 94,31% de amido (Marciano, 1997). Este amido foi utilizado no ensaio biológico, preparado em nosso laboratório, e o vegetal foi colhido em casas de vegetação na própria UFV.

Em nossas pesquisas temos trabalhado com diversas espécies de animais e todas as buscas tem que envolver várias espécies tanto na farmacologia quanto na toxicologia. Os experimentos foram conduzidos, utilizando-se coelhos adultos, machos, da raça Nova Zelândia, mantidos em gaiolas individuais em temperatura ambiente que receberam água à vontade e 125 g/dia de ração Coelhil R[®], Socil Guyomarc H Ind. e Com. Ltda. Após jejum de 12 horas, todos os coelhos foram anestesiados com uma mistura de cloridrato de cetamina (20 mg/kg) e cloridrato de 2-(2,6-xilidino)-5,6-diidro-4H-1,3-tiazina (5 mg/kg) por via intraperitoneal.

Visando determinar a dose ideal de aloxano para indução de diabetes em coelhos, utilizaram-se coelhos, com peso variando entre 1,1 a 1,8 kg. Os tratamentos constituíram de 5 doses de aloxano (90, 105, 120, 135 e 150 mg/kg) e um grupo controle com 8 repetições. Cerca de 30 minutos após a indução da anestesia, o aloxano (Sigma[®]) suspenso em NaCl 0,9%, foi aplicado na veia marginal da orelha dos animais. Quatro dias após a aplicação do aloxano, determinaram-se os níveis sanguíneos de glicose. Os coelhos foram pesados um dia antes e 6 dias após a aplicação do aloxano. O volume máximo da suspensão de aloxano injetado nos coelhos foi de 2 mL. Selecionou-se a dose de 100mg/kg para indução de diabetes, levando em consideração a dose que fosse capaz de induzir a diabetes causando menor índice de mortalidade. Em todos os coelhos, excetuando-se os do grupo controle foi administrado 10 mL de glicose Sigma[®] p.a. 50% (p/v), via intraperitoneal, 4, 8 e 12 horas após a administração do aloxano, para evitar hipoglicemia. Foram considerados diabéticos os coelhos que apresentaram glicemia igual ou superior a 180 mg/dL, acompanhada de sintomas característicos de diabetes como poliúria, polidipsia, menor ganho, ou mesmo perda de peso.

Para as determinações de glicose, coletou-se 5 mL de sangue de cada animal, através do plexo venoso retro-orbital. O sangue foi centrifugado a 7100 x g por 15 minutos e a glicose foi quantificada no analisador multiparamétrico automático Alizé[®].

A seguir, realizou-se outro experimento, adotando os mesmos procedimentos anteriores, utilizando a dose selecionada de 100mg/Kg de aloxano. Após 5 dias da aplicação do aloxano, foram selecionados os coelhos normais e os diabéticos, que passaram a receber, diariamente, os tratamentos abaixo: Grupo 1-(Ração), Grupo 2-(Ração + aloxano), Grupo 3-(Ração + aloxano + cápsula de 20 mg de naringenina) e Grupo 4-(Ração + aloxano + cápsula de 40 mg de farinha de fruta-de-lobo -Pó que foi preparada em cápsulas). Os níveis sanguíneos de colesterol, triacilgliceróis e gli-

cose foram quantificados no analisador multiparamétrico automático Alizé, bem como o peso dos animais, determinados no primeiro e aos 27 dias. As análises estatísticas foram realizadas com os delineamentos inteiramente casualizados. Utilizou-se teste t (para confrontar médias e verificar se a estimativa diferia significativamente de zero) e correlação momento produto de Pearson que é uma medida do grau de correlação entre duas variáveis. O coeficiente de correlação varia entre -1 e +1. Se r assume o valor 1, diz-se que as duas variáveis têm correlação perfeita positiva e se r assume o valor -1, diz-se que as duas variáveis têm correlação perfeita negativa. Se r assume o valor zero, não existe correlação entre as duas variáveis (a correlação é nula).

Todas análises estatísticas foram processadas com o programa "Statistica for Windows 5.5" (Statsoft, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela I apresenta os resultados de peso e concentrações sanguíneas de colesterol, triacilgliceróis e glicose em coelhos normais e diabéticos que receberam ou não naringenina e fruta-de-lobo obtidos nos dias 1 e 27 do experimento.

Médias seguidas pela mesma letra na coluna, indica que não houve diferença significativa entre o valor inicial e o final de cada variável, pelo teste t ($P < 0,05$).

Verifica-se, em relação ao peso, aumento estatisticamente significativo em todos os grupos durante o período avaliado, sendo este aumento percentualmente maior no grupo controle, que recebeu apenas ração. A diminuição relativa no ganho de peso observada nos outros grupos é sintomático, visto que é uma característica dos animais que se encontram diabéticos.

Os níveis de colesterol, triacilgliceróis e glicose elevaram-se significativamente quando se compara o grupo tratado com aloxano (G2) e o grupo controle (G1), que recebeu apenas ração.

Quando se analisa os resultados, considerando o início e o término do experimento dentro do mesmo grupo, observa-se que os grupos de animais diabéticos tratados com naringenina (G3) e fruta-de-lobo (G4) tiveram uma redução estatisticamente significativa nas concentrações sanguíneas de colesterol e triacilgliceróis, evidenciando a eficácia de suas ações farmacológicas como hipolipidêmicas. Estes resultados são importantes uma vez que os indivíduos diabéticos, têm concentrações séricas de triacilgliceróis elevadas, e isto também leva à produção de maiores concentrações de glicerol-fosfato que é utilizado pelos animais e humanos para a síntese de triacilgliceróis. A glicose sanguínea atravessa a parede capilar e na célula adiposa produz glicose-6-fosfato que produz dihidroxia cetona fosfato. Esta por sua vez produz acetil coA e α -glicerofosfato. Esse último produzirá triacilgliceróis (Devlin, 1997).

A redução dos níveis de glicose sanguínea no grupo de animais tratados com naringenina foi de 16,05%, correspondendo a um valor de 78,3 mg/dL no período de 27 dias. Levando-se em conta o efeito farmacológico, esta variação em um indivíduo diabético, neste período de tempo, se mostra altamente relevante. É importante lembrar, ainda, que o paciente diabético faz uso rotineiramente de medicamentos hipoglicemiantes e por períodos prolongados e, portanto, este efeito da naringenina poderá ser substancialmente maior ao

TABELA I
Peso (g) e concentrações dos constituintes sanguíneos (mg/dL) em coelhos testemunhas e que receberam naringenina ou farinha de fruta-de-lobo

Parâmetros	Dias	Grupo 1- (Ração)	Grupo 2- (Ração + Aloxano)	Grupo 3- (Ração+ Aloxano + Naringenina)	Grupo 4- (Ração + Aloxano + Fruta-de-Lobo)
Peso	1	1470,0 b	1516,0 b	1328,3 b	1374,0 b
	27	2206,9 a	1861,0 a	1736,7 a	1623,0 a
Colesterol	1	128,2 a	424,4 a	418,3 a	353,1 a
	27	111,4 a	383,9 a	112,3 b	75,7 b
Triacilgliceróis	1	225,9 a	507,5 a	571,3 a	525,3 a
	27	182,3 a	533,5 a	125,9 b	152,6 b
Glicose	1	127,1 a	508,9 a	487,7 a	507,4 a
	27	137,0 a	506,0 a	409,4 b	497,6 a

TABELA II
Correlação momento-produto de Pearson¹ entre peso e constituintes sanguíneos de coelhos ao final do experimento

	Peso	Colesterol	Triacilgliceróis	Glicose
Peso	—	0,35	-0,44	-0,27
Colesterol	0,70	—	-0,20	-0,43
Triacilgliceróis	-0,88*	-0,42	—	0,77*
Glicose	-0,85	-0,25	0,82	—

* $P < 0,05$.

¹A diagonal superior expressa a correlação baseada em 8 coelhos testemunhas normais e a diagonal inferior, em 5 coelhos testemunhas diabéticos.

longo do tratamento. Novos estudos deverão ser realizados com doses maiores, durante períodos longos para permitir uma redução maior desse flavonóide.

As correlações entre peso e constituintes sanguíneos são apresentadas na Tabela II.

De acordo com os resultados, o valor de -0,88 que correlaciona triacilglicerol x peso demonstrou que o valor obtido de r foi mais próximo de -1, o que significa uma correlação negativa. Estes resultados estão de acordo com o esperado, visto que nos diabéticos há perda de peso com aumento de triacilglicerol. Por outro lado, o valor que correlaciona triacilglicerol x glicose, que foi de + 0,77, demonstrando que o valor de r foi mais próximo de +1, expressando, assim, uma correlação positiva. Isto está justificado, tendo em vista que nos indivíduos diabéticos há aumento da concentração de glicose e ao mesmo tempo de triacilglicerol. As demais correlações não foram significativas.

Em muitos estudos sobre diabetes, com duração de várias semanas ou até meses, são utilizados animais cobaias, nos quais é induzido diabetes. Assim, ao ser aplicado aloxano, deve-se utilizar dose que seja suficiente para induzir o diabetes, mas não seja tão alta que possa matar os animais. A destruição da maioria das células β do pâncreas que secretam insulina produz alterações complexas e interrelacionadas com a bioquímica de carboidratos, lipídios e proteínas, equivalentes àquelas observadas no diabetes tipo 1 de humanos (Cacini *et al.*, 1993).

Zhao *et al.* (1987) também observou grande variabilidade quanto aos efeitos diabetogênicos do aloxano aplicado em coelhos. Uma possível explicação seria que uma mesma dose de aloxano pode ser suficiente para destruir grande número das células β do pâncreas, ou mesmo todas, em um animal, induzindo assim a hiperglicemia, ou à morte.

O aloxano age especificamente nas células β das ilhotas pancreáticas, mais precisamente em sua membrana plasmática (Gorray *et al.*, 1983), induzindo inicialmente maciça liberação de insulina, cuja taxa posteriormente é reduzida abaixo dos níveis normais, o que irá acarretar hiperglicemia, que em coelhos, pode ocorrer dentro de 48 horas após a aplicação do aloxano (Witmer *et al.*, 1992). Essa alta taxa inicial de liberação de insulina pode causar hipoglicemia fatal (Gorray *et al.*, 1983; Bhimji, Mcneill, 1989). Para evitá-la é comum a administração de glicose nas primeiras 24 horas após a aplicação do aloxano. Segundo Bhimji, Mcneill (1989), essa medida pode reduzir a mortalidade de 100% para menos de 10%.

Sundaram *et al.* (1996) também não detectaram diferença significativa entre os tratamentos, embora tenham observado reduções substanciais na glicemia em coelhos diabéticos, usando formulações contendo plantas medicinais e preparações minerais com ação hipoglicemiante adicionada aos hipoglicemiantes orais, tolbutamida ou glibenzamida.

Segundo Dall'agnol, Poser (2000), a fruta-de-lobo (*Solanum lycocarpum*) possui efeito hipoglicemiante, atribuído ao conteúdo de polissacarídeos de seu fruto, que além de retardarem o esvaziamento gástrico e, conseqüentemente, a absorção de glicose e outros metabólitos para a corrente sanguínea, também agem em sistemas endócrinos afetando a liberação de hormônios gastrointestinais e reduzindo os níveis plasmáticos de glicose. Um outro fator que pode estar envolvido no efeito hipoglicemiante do amido da fruta-de-lobo é a presença de um glicosídeo terpenóide, responsável pelo aumento da utilização de glicose (Marciano, 1997).

Marciano (1997) observou que, quanto maior a porcentagem de amido de fruta-de-lobo na dieta de ratos, menor foi o ganho de peso. Sá *et al.* (2000) não observaram alteração de peso em ratos ou camundongos, recebendo fruta-de-lobo, embora tenham observado perda de peso na próstata de camundongos e, devido a isso, sugeriram a ocorrência de efeito tóxico no sistema reprodutor masculino.

O colesterol, um esteroide produzido principalmente no fígado a partir do acetato, é transformado em ácidos biliares que são eliminados na bile. Cerca de 95% destes ácidos são reabsorvidos no intestino delgado, voltando ao fígado. Essa circulação entero-hepática parece controlar a produção de colesterol por meio de um mecanismo de auto-regulação negativa. O colesterol total é constituído de colesterol livre e esterificado, com ácidos graxos (Miller, 1986). Em humanos, os valores normais de colesterol total, no sangue, variam entre 150 a 250 mg.dL⁻¹. Nos diabéticos, os níveis são elevados, podendo chegar a 3600 mg.dL⁻¹ (Lima, 1985). Em coelhos, há registros dos níveis de colesterol em normais e diabéticos de 71 ± 6 e 227 ± 27 mg.dL⁻¹ (média \pm erro-padrão), respectivamente (Bhimji, Mcneill, 1989).

Os níveis de triacilgliceróis, ésteres de ácidos graxos com glicerol, em humanos normais, variam de 50 a 150 mg.dL⁻¹, sendo maiores nos diabéticos (Lima, 1985). Em coelhos normais e diabéticos são de 55 ± 6 e 179 ± 14 mg.dL⁻¹ (média \pm erro-padrão), respectivamente (Bhimji, Mcneill, 1989).

Níveis de triacilgliceróis plasmáticos variando de 100 a 5500 mg.dL⁻¹ foram observados em coelhos que

receberam a mesma quantidade de aloxano. Em coelhos diabéticos, os níveis de colesterol e triacilgliceróis foram aproximadamente 3000 e 500 a 7500 mg.dL⁻¹, respectivamente, após 3 a 4 semanas com dietas contendo esses constituintes (Minnich, Zilversmit, 1989).

Bhimji, Mcneill (1989) constataram que todos coelhos diabéticos tiveram elevações significativas nos níveis de colesterol e triacilgliceróis.

Kurowska *et al.* (1997) verificaram que coelhos hipercolesterolêmicos recebendo suco de laranja ou uva, que representam importantes fontes de naringenina, tiveram níveis de colesterol-LDL menores (43 e 32%, respectivamente) que os controles.

A secreção de insulina é regulada por diferentes mecanismos, sendo que o mais importante depende da concentração intracelular de Ca⁺⁺. O cálcio é utilizado como sinalizador intracelular, ativando uma série de reações que irão culminar com a secreção de insulina pelas células β do pâncreas (Alberts *et al.*, 1997). O metabolismo da glicose, iniciado pela glicocinase, resulta em modificação na proporção ATP/ADP, que causa inibição dos canais de K⁺ sensíveis ao ATP e despolarização da célula. Isto resulta na ativação compensatória dos canais de Ca⁺⁺ dependente da voltagem, e conseqüentemente, aumento do influxo de Ca⁺⁺ para dentro da célula β , o qual ativa a fosfolipase A e a fosfolipase C, que provocam formação de ácido araquidônico, inositol-polifosfatos e diacilglicerol. Este mobiliza Ca⁺⁺ a partir do retículo endoplasmático, elevando ainda mais a concentração citossólica desse cátion, que atua como o secretagogo da insulina (DAVIS & GRANNER, 1996). O Ca⁺⁺ é bombeado ativamente para fora da célula, pela Ca⁺⁺ATPase presente na membrana plasmática e no retículo endoplasmático (Alberts *et al.*, 1997). Os flavonóides quercetina e, em menor extensão, o fletetina, inibiram a atividade Ca⁺⁺-ATPase da membrana cerebral, sinaptossomal (Grosman, 1998).

O acúmulo de cálcio no citossol promove a ativação de uma proteína quinase, dependente de cálcio, chamada proteína quinase C, que parece estar diretamente envolvida nos processos de secreção de insulina. Esta proteína quinase C ativaria uma cascata de fosforilações, que induziria à ativação de proteínas reguladoras, que aumentariam a transcrição de genes que codificam a insulina (Alberts *et al.*, 1997; Marzocco, Torres, 1999).

Outra hipótese de regulação da secreção da insulina seria a ativação da proteína quinase A por meio do acúmulo de cAMP, no citosol. Esta enzima, por sua vez, ativaria uma cascata de fosforilações, culminando com a transcrição de genes específicos para a insulina (Alberts *et al.*, 1997).

Outro mecanismo de regulação da secreção de insulina, envolvendo tirosinas quinase, também foi observado quando a genisteína, um inibidor de tirosina quinase aumentou a liberação de insulina (Sorenson *et al.*, 1994). Drake, Posner (1998) sugerindo que as proteínas tirosinas fosfatases, mais que as proteínas tirosinas quinases, desempenhassem um papel crítico na regulação da ação da insulina. A genisteína tem mostrado ação ativadora daquelas proteínas, estimulando a secreção de insulina.

Em camundongos, a genisteína provocou um aumento, reversível e dependente da concentração, da liberação de insulina pelas células β do pâncreas,

apesar da redução das concentrações de cálcio nessas células. Esse aumento cessa na presença de adrena-lina ou omissão do cálcio extracelular e não foi acom-pañado por qualquer aumento nas concentrações de cAMP, inositol fosfato ou adenina nucleotídeo. A daidzeína, um análogo da genisteína, não afetou as tirosinas quinases e foi sensivelmente menos potente nos canais de Ca^{++} e K^{+} , mas aumentou a secreção de insulina de maneira similar (Jonas *et al.*, 1995). Extrato de folhas de *Bridelia ferruginea*, contendo ruti-na reduziu a glicemia de coelhos normais em 40% (Onunkwo *et al.*, 1996).

CONCLUSÕES

O presente trabalho mostrou que diversos meca-nismos podem ser propostos para justificar os efeitos hipolipidêmico e hipoglicêmico dos flavonóides. A naringenina, nas condições experimentais deste tra-balho, apresentou redução da concentração de glicose sanguínea nos animais diabéticos induzidos por alo-xano. O tratamento com a fruta-de-lobo, no entanto, não apresentou este efeito, que foi demonstrado por outros autores. Com relação ao colesterol e triacilgli-ceróis, os tratamentos com naringenina, bem como a fruta-de-lobo causaram redução estatisticamente sig-nificativa. Estes resultados indicam a necessidade de prosseguir a busca de substâncias com ações hipolipi-dêmicas e hipoglicêmicas, que possam futuramente serem utilizadas na terapia medicamentosa destas patologias.

AGRADECIMENTOS

Os autores desejam expressar seus agradecimentos à FAPEMIG – Fundação de Amparo à Pesquisa do Es-tado de Minas Gerais e ao CNPq- Conselho Nacional de Pesquisas pelo apoio financeiro e bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS

1. **Alberts, B.; Bray, D.; Lewis, J.; Raff, M.; Roberts, K.; Watson, J. D.** *Biologia molecular da célula*. 3ª ed. Porto Alegre: Artes Médicas, 1294p. 1997.
2. **Bhimji, S.; McNeill, J. H.** Isoproterenol-induced ultrastructural alterations in hearts of alloxan-diabetic rabbits. *General Pharmacology*, England, v.20, n.4, p.479-485, 1989.
3. **Brandão, M.; Buendia, J. P. L.; Gavilanes, M. L.; Zurlo, M. A.; Cunha, L. H. S.; Cardoso, C.** Novos enfoques para plantas consideradas daninhas. *Informe Agropecuário*, Brasil, v.11, n.129, p.3-12, 1985.
4. **Cacini, W.; Harden, E. A.; Skau, K. A.** Reduced renal accumulation and toxicity of cisplatin in experimental galactosemia. *Proceedings of the National Academy Science United State of American*, v.203, p.348-353, 1993.
5. **Dall'agnol, R.; Poser, G. L. V.** The use of complex polysaccharides in the management of metabolic diseases: the *Solanum lycocarpum* fruits. *Journal of Ethnopharmacology*, England, v.71, p.337-341, 2000.
6. **Davis, S. N.; Granner, D. K.** Insulina, fármacos hipoglicemiantes orais e a farmacologia do pâncreas endócrino. In: **Hardman, J. G. Limbird, L. E.** *As bases farmacológicas da terapêutica*. Rio de Janeiro: McGraw-Hill Interamericana, 1996.
7. **Drake, P. G.; Posner, B. I.** Insulin receptor-associated protein tyrosine phosphatase (s): role in insulin action. *Molecular and Cellular Biochemistry*, USA, v.182, n.1-2, p.79-89, 1998.
8. **Devlin, T. M.** Textbook of biochemistry with clinical correlations. Ed Willey Liss Inc., New York, 1186p., 1997.
9. **Ensminger, A. H.; Ensminger, M. E.; Konlande, J. F. et al.** *Diabetes mellitus: foods and nutrition encyclopedia*. London: RCC, p.555-575, 1994.
10. **Formica, J. V.; Regelson, W.** Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food & Chemical Toxicol.*, USA, v.33, n.12, p.1061-1080, 1995.
11. **Gorray, K. C.; Baskin, D.; Fujimoto, W. Y.** Cytotoxic effects of alloxan treatment in vitro on monolayer cultures of neonatal rat pancreas. *American Journal of Physiology, California*. v.245, p.E417-E423, 1983.

12. **Gray, A. M.; Flatt, P. R.** Insulin-releasing and insulin-like activity of the traditional anti-diabetic plant *Coriandrum sativum* (coriander). *British Journal of Nutrition*, England, v.81, p.203-209, 1999.
13. **Grossman, N.** Influence of probes for calcium-calmodulin and protein kinase C signalling on the plasma membrane Ca^{++} -ATPase activity of rat synapto-somes and leukocyte membranes. *Immunopharmacology, USA*, v.40, p.163-171, 1998.
14. **Harborne, J. B.** Plant polyphenols. 6. The flavonol glycosides of wild and cultivated potatoes. *The Journal of Biochemistry*, USA, v.84, p.100-106, 1962.
15. **Havsteen, B.** Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. *Biochemical Pharmacology*, England, v.32, n.7, p.1141-1148, 1983.
16. **Hertog, M. G. L.; Kromhout, D.; Aravanis, C.; Blackburn, H.; Buzina, R.; Fidanza, F.; Giampaoli, S.; Jansen, A.; Menotti, A.; Nedeljkovic, S.; Pekkarinen, M.; Simic, B. S.; Toshima, H.; Feskens, E. J. M.; Hollman, P. C. H.; Katan, M. B.** Flavonoid intake and long-term risk of coronary heart disease and cancer in the seven countries study. *Archives of Internal Medicine*, England, v.155, n.4, p.381-386, 1995.
17. **Jean, T.; Bodinier, M. C.** Mediators involved in inflammation: effects of Daflon 500mg on their release. *Angiology*, USA, v.45, n.6, Pte. 2, p.554-559, 1994.
18. **Jonas, J. C.; Plant, T. D.; Gilon, P.; Detimary, P.; Nenquin, M.; Henquin, J. C.** Multiple effects and stimulation of insulin secretion by the tyrosine kinase inhibitor genistein in normal mouse islets. *British Journal of Pharmacology*, England, v.114, n.4, p.872-880, 1995.
19. **Kahn, C. R.** Section on cellular and molecular physiology. *Joslin Diabetes Center Research Report*, USA, 1997-98, v.11, n.3, p.17, 1998.
20. **Kurowska, E. M.; Borradaile, N.; Meade, M.; Spence, J. D.; Carroll, K. K.** Cholesterol-lowering effects of dietary citrus juices and their flavonoids. Studies in rats, mice and rabbits. *Atherosclerosis*, USA, v.134, n.1-2, p.330, 1997.
21. **Lima, A. O.** *Métodos de laboratório aplicados à ciência*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 549p. 1985.
22. **Marciano, C.** *Efeito de amido da fruta da lobeira no controle de diabetes mellitus*. Viçosa, MG: UFV, 1997. 89p. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia de Alimentos) Universidade Federal de Viçosa, 1997.
23. **Marzocco, A.; Torres, B. B.** *Bioquímica Básica*. 2ª ed. São Paulo: Guanabara, 360p. 1999.
24. **Mazur, W. M.; Duke, J. A.; Wähakä, K.; Rasku, S.; Adlercreutz, H.** Isoflavonoids and lignans in legumes: nutritional and health aspects in humans. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, USA, v.9, p.193-200, 1998.
25. **Miller, O.** *Laboratório para o clínico*. 6ª ed. Rio de Janeiro: Livraria Atheneu, 549p. 1986.
26. **Minnich, A.; Zilversmit, D. B.** Impaired triacylglycerol catabolism in hypertriglyceridemia of the diabetic, cholesterol-fed rabbit: a possible mechanism for protection from atherosclerosis. *Biochimica et Biophysica Acta*, USA, v.26, n.1002, Pte.3, p.324-332, 1989.
27. **Onunkwo, G. C.; Akah, P. A.; Udeala, O. K.** Studies on *Bridelia ferruginea* leaves. Stability and hypoglycaemic actions of leaf extract tablets. *Phytotherapy Research*, England, v.10, p.418-420, 1996.
28. **Park, B. H.; Rho, H. W.; Park, J. W.; Cho, C. G.; Kim, J. S.; Chung, H. T.; Kim, H. R.** Protective mechanism of glucose against alloxan-induced pancreatic beta-cell damage. *Biochemical and Biophysical Research Commu-nications*, USA, v.5, n.210, Pte.1, p.1-6, 1995.
29. **Sá, R. D. D. E.; Vireque, A. A.; Reis, J. E. D.; Guerra, M. D.** Evaluation of the toxicity of *Solanum lycocarpum* in the reproductive system of male mice and rats. *Journal of Ethnopharmacology*, England, v.73, n.1-2, p.283-287, 2000.
30. **Smith, E. L.; Hill, R. L.; Lehman, I. R. et al.** *Principles of biochemistry: mammalian*. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 612p. 1988.
31. **Sorenson, R. L.; Brejle, T. C.; Roth, C.** Effect of tyrosine kinase inhibitors on islet of Langerhans: evidence for tyrosine kinases in the regulation of insulin secretion. *Endocrinology*, USA, v.134, n.4, p.1975-1978, 1994.
32. **Statsoft, Irc.** *Statistica for windows* [computer program manual]. Tulsa, OK: Statsoft, Irc., 2000. <http://www.statsoft.com>
33. **Vinson, J. A.; Hao, Y.; Su, X.; Zubik, L.** Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *Scranton*, v.46, p.3630-3634, 1998.
34. **Whalen, M. D.; Mabry, T. J.** New 8-hydroxyflavonoids from *Solanum* section *Androceras*. *Phytochemistry*, England, v.18, p.263-265, 1979.
35. **White, M.; Kahn, R.** The insulin signaling system. *The Journal of Biological Chemistry*, England, v.269, n.1, p.1-4, 1994.
36. **Witmer, M. R.; Haddock, S. J.; Peltier, S. L.; Winocour, P. D.; Richardson, M.; Hatton, M. W. C.** Altered levels of antithrombin III and fibrinogen in the aortic wall of the alloxan-induced diabetic rabbit: evidence of a prothrombotic state. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, USA, v.119, p.221-230, 1992.
37. **Zhao, Z. H.; Watschinger, B.; Brown, C. D.; Beyer, M. M.; Friedman, E. A.** Variations of susceptibility to alloxan induced diabetes in the rabbit. *Hormone Metabolism Research*, USA, v.19, n.11, p.534-537, 1987.

Endereço para correspondência

Tânus Jorge Nagem

Universidade Federal de Ouro Preto - Departamento de Química
35400-000 - Ouro Preto - Minas Gerais - Brasil

E-mail: tjnagem.bh@zaz.com.br