

Camila Pereira Braga

AVALIAÇÃO METABÓLICA DE RATAS PRENHEZ DIABÉTICAS TRATADAS COM FLAVONOÍDE QUERCETINA E REPERCURSSÕES NA PROLE

Dissertação apresentada ao Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho”, Campus de Botucatu, para a obtenção do título de Mestre junto ao Programa de Ciências Biológicas (Farmacologia)

Orientadora: Prof^a Dr^a Ana Angélica Henrique Fernandes

Botucatu-SP
2011

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÉC. AQUIS. E TRAT. DA INFORMAÇÃO
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CAMPUS DE BOTUCATU - UNESP
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: *ROSEMEIRE APARECIDA VICENTE*

Braga, Camila Pereira

Avaliação metabólica de ratas prenhez diabéticas tratadas com flavonóide quercetina e repercussões na prole / Camila Pereira Braga. – Botucatu : [s. n.], 2011

Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Instituto de Biociências

Orientador: Ana Angélica Henrique Fernandes

Capes: 20803001

1. Diabetes - Metabolismo. 2. Bioenergética. 3. Flavonóide. 4. Gravidez.

Palavras-chave: Diabetes; Estreptozotocina; Flavonóides; Prenhez, Quercetina.

Dedicatória

A Deus, por tudo que proporciona na minha vida.

Aos meus pais, Wilson e Paulete, por tanto amor, carinho, confiança e por apoiarem meus sonhos. Vocês me deram muito mais que uma vida; ensinam-me a ir atrás dos meus sonhos, amenizam meus medos, participam de minhas conquistas. Renunciam seus próprios sonhos para sonhar os meus, respeitando minhas escolhas. Transformam decepções em afeto. Palavras seriam pouco para expressar tanto significado. O significado de um olhar compreensivo, uma lágrima emocionada, ou até mesmo os telefonemas diários apenas para conversar. Palavras são insuficientes para exprimir e agradecer tudo o que vocês representam para mim. Obrigada!!

Ao meu irmão, Alex, pelo carinho, incentivo e confiança.

Ao meu namorado, Felipe, por tanto companheirismo, paciência, incentivo, amor e por tornar a minha vida mais feliz.

Homenagem a orientadora

Agradeço por toda a paciência, carinho, incentivo e confiança depositada em mim. Agradeço também por me guiar em todas as fases desta dissertação e contribuir para meu amadurecimento científico, humano e profissional. Neste período que tivemos de convivência, suas qualidades de pesquisadora e de ser humano fizeram aumentar, ainda mais, minha admiração e estima. Querida orientadora Ana Angélica serei sempre grata por sua orientação dedicada.

Agradecimentos

Agradeço com muito carinho a minha família de São Paulo, por confiarem no meu trabalho.

À minha segunda família Marilda Correia Leite, Pâmela e Lívia por me acolherem com tanta gratidão, carinho e amizade.

À minha grande amiga Evelise por toda a sua ajuda desde a graduação, pelo incentivo, carinho, confiança e por nossa amizade.

Agradeço a minha querida amiga Rafaela, por tudo que me ajudou e apoiou nesses dois anos de mestrado.

Agradeço às minhas amigas Ana Carolina, Caroline, Krisley, Renata e Nathália, à distância e o tempo nunca irá nos separar, vocês fazem parte do meu coração!

Aos meus amigos e também companheiros de laboratório, Ana Carolina e Fernando por toda ajuda e também pela amizade.

Ao Fábio Henrique Fava, por toda a ajuda, amizade e colaboração na elaboração deste trabalho.

À Lurdes Ribeiro de Lemos pela ajuda e auxílio técnico.

À Profa. Dra. Fernanda Mani, pelo carinho, confiança, amizade e por suas palavras de incentivo.

Ao Prof. José Carlos Peraçoli por toda a confiança e apoio desde a graduação.

À seção de Pós-graduação e coordenação do Programa pelo suporte acadêmico.

À CAPES pelo apoio financeiro ao conceder a Bolsa de estudo e pela FUNDUNESP pelo auxílio à Pesquisa.

Muito Obrigada!!!!

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Composição centesimal média da ração.....	48
Tabela 2. Resultados médios obtidos para o ganho de peso corporal, consumo alimentar, consumo de água, concentração sérica de glicose, para os diferentes grupos experimentais.....	51
Tabela 3. Resultados médios obtidos para Energia Ingerida (EI; kcal/dia), Eficiência Alimentar (EA; g/kcal), consumo de proteínas (CP; g/dia), lipídios (CL; g/dia) e carboidrato (CC; g/dia) nos diferentes grupos experimentais.....	54
Tabela 4. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de colesterol total, LDL- colesterol, VLDL-colesterol, triacilgliceróis e HDL-colesterol, para os diferentes grupos experimentais.....	57
Tabela 5. Resultados médios obtidos para a atividade da alanina aminotransferase (ALT) sérica e hepática, e da lactato desidrogenase (LDH) sérica e cardíaca, para os diferentes grupos experimentais.....	60
Tabela 6. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de uréia e creatinina, para os diferentes grupos experimentais.....	62
Tabela 7. Resultados médios obtidos para a concentração de glicogênio hepático e cardíaco, de triacilglicerol hepático e de proteínas totais hepáticas e cardíacas, para os diferentes grupos experimentais.....	64
Tabela 8. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de proteínas totais, hidroperóxido de lipídio (HP), atividade sérica da glutathiona peroxidase (GSH-Px) e da superóxido dismutase (SOD), para os diferentes grupos experimentais.....	67

Tabela 9. Resultados médios obtidos para a o peso da prole e porcentagem de fetos pequenos (PIP), adequados (AIP) e grandes (GIP) para a idade de prenhez, para os diferentes grupos experimentais.....70

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Via do poliol estimulada pela hiperglicemia (Adaptado: REIS et al., 2008)..25	25
Figura 2. Formação de Espécies Reativas de Oxigênio e atividade das enzimas antioxidantes no diabetes mellitus (Adaptado: BRUCE-CHERTOW, 2004).....27	27
Figura 3. Associação entre a via do poliol, estresse oxidativo e complicações diabéticas (Adaptado: BROWNLEE et al., 2005).....27	27
Figura 4. Atuação da estreptozotocina sobre as células β -pancreáticas (Fonte: PICKUP & WILLIAMS, 1997).....29	29
Figura 5. Estrutura química dos flavonóides (Fonte: DI CARLO et al., 1999).....31	31
Figura 6. Sequência experimental.....42	42
Figura 7. Resultados médios obtidos para o ganho de peso corporal (g) para os diferentes grupos experimentais.....51	51
Figura 8. Resultados médios obtidos para o consumo alimentar (g/dia) para os diferentes grupos experimentais, na última semana analisada.....52	52
Figura 9. Resultados médios obtidos para o consumo de água (mL/dia) para os diferentes grupos experimentais, na última semana analisada.....53	53
Figura 10. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de glicose (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....53	53
Figura 11. Resultados médios obtidos para a energia ingerida (kcal/dia) e eficiência alimentar (g/kcal) para os diferentes grupos experimentais.....54	54
Figura 12. Resultados médios obtidos para o consumo de proteínas (g/dia), para os diferentes grupos experimentais.....55	55
Figura 13. Resultados médios obtidos para o consumo de lipídios (g/dia), para os diferentes grupos experimentais.....55	55

Figura 14. Resultados médios obtidos para o consumo de carboidratos (g/dia), para os diferentes grupos experimentais.....	56
Figura 15. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de colesterol total (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	57
Figura 16. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de triacilgliceróis (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	58
Figura 17. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de LDL-colesterol (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	58
Figura 18. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de VLDL-colesterol (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	59
Figura 19. Resultados médios obtidos para níveis séricos de HDL-colesterol (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	59
Figura 20. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de alanina aminotransferase (U/L), para os diferentes grupos experimentais.....	60
Figura 21. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de lactato desidrogenase (U/L), para os diferentes grupos experimentais.....	61
Figura 22. Resultados médios obtidos para a atividade hepática de alanina aminotransferase (U/gPt), para os diferentes grupos experimentais.....	61
Figura 23. Resultados médios obtidos para a atividade cardíaca de lactato desidrogenase (U/gPt), para os diferentes grupos experimentais.....	62
Figura 24. Resultados médios obtidos para níveis séricos de uréia (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	63
Figura 25. Resultados médios obtidos para níveis séricos de creatinina (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	63

Figura 26. Resultados médios obtidos para a concentração hepática de glicogênio (mg/g), para os diferentes grupos experimentais.....	64
Figura 27. Resultados médios obtidos para a concentração cardíaca de glicogênio (mg/g), para os diferentes grupos experimentais.....	65
Figura 28. Resultados médios obtidos para a concentração hepática triacilgliceróis (mg/g), para os diferentes grupos experimentais.....	65
Figura 29. Resultados médios obtidos para a concentração hepática de proteínas totais (g/100g), para os diferentes grupos experimentais.....	66
Figura 30. Resultados médios obtidos para a concentração cardíaca de proteínas totais (g/100g), para os diferentes grupos experimentais.....	66
Figura 31. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de proteínas totais (g/dL), para os diferentes grupos experimentais.....	67
Figura 32. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de hidroperóxido de lipídio (nmol/mL), para os diferentes grupos experimentais.....	68
Figura 33. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de glutathiona peroxidase (U/mL), para os diferentes grupos experimentais.....	69
Figura 34. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de superóxido dismutase (U/mgPt), para os diferentes grupos experimentais.....	69
Figura 35. Resultados médios obtidos para o peso da prole (g), para os diferentes grupos experimentais.....	70
Figura 36. Resultados obtidos para porcentagem de fetos pequenos (PIP), adequados (AIP) e grandes (GIP) para a idade de prenhez, para os diferentes grupos experimentais.....	71

SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS

LISTA DE FIGURAS

RESUMO

ABSTRACT

I. INTRODUÇÃO.....	19
1. Diabetes mellitus.....	19
2. Prognóstico clínico materno/perinatal no diabetes experimental.....	20
3. Espécies reativas de oxigênio e mecanismos antioxidantes.....	23
4. Indução experimental do diabetes mellitus.....	28
5. Flavonóides.....	30
6. Flavonóides e aspectos metabólicos.....	32
II. OBJETIVOS.....	38
1. Objetivos Geral.....	38
2. Objetivos Específicos.....	38
III. MATERIAL E MÉTODOS.....	40
1. Animais Experimentais.....	40
2. Instalação do Experimento.....	40
2.1. Indução do Diabetes mellitus.....	40
2.2. Acasalamento.....	41
2.3. Grupos Experimentais.....	41
3. Obtenção das amostras.....	42
4. Determinações séricas.....	43
4.1. Determinação de proteínas totais.....	43
4.2. Determinação da concentração de glicose.....	43

4.3. Determinação da concentração de triacilgliceróis.....	43
4.4. Determinação da concentração do colesterol total.....	43
4.5. Determinação da concentração de HDL-colesterol.....	44
4.6. Determinação da concentração de LDL e VLDL-colesterol.....	44
4.7. Determinação da concentração de creatinina.....	44
4.8. Determinação da concentração da uréia.....	44
4.9. Determinação das atividades da alanina aminotransferase e da lactato desidrogenase.....	44
4.10. Determinação de hidroperóxido de lipídio.....	45
4.11. Determinação da atividade da glutathione peroxidase.....	45
4.12. Determinação da atividade da superóxido dismutase.....	45
5. Determinações bioquímicas hepáticas e cardíacas.....	46
5.1. Determinação da concentração de proteínas totais, atividade da alanina aminotransferase e da lactato desidrogenase.....	46
5.2. Determinação da concentração de triacilgliceróis.....	46
5.3-Determinação da concentração do glicogênio.....	46
6. Análises da prole.....	47
7. Análise bromatológica da ração.....	47
8. Parâmetros nutricionais.....	48
9. Forma de análise dos resultados – Procedimento estatístico.....	49
IV. RESULTADOS.....	51
V. DISCUSSÃO.....	73
VI. CONCLUSÕES.....	97
VII. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	100

RESUMO

O Diabetes mellitus é uma síndrome metabólica caracterizada pela deficiência relativa ou absoluta da ação da insulina em órgãos alvo, expondo os tecidos à hiperglicemia crônica. Além disso, a deficiência insulínica ocasiona anormalidades no metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos. Durante a gestação, o diabetes cursa o pior prognóstico materno e fetal, com elevadas taxas de abortamento espontâneo, malformações congênitas, óbito intra-útero, macrossomia, prematuridade, distúrbios metabólicos e funcionais. Atualmente observa-se forte tendência na valorização de substâncias naturais para fins terapêuticos na medicina humana. Neste panorama, os flavonóides têm especial destaque, pois sendo produto de origem natural vem conquistando numerosos adeptos de sua utilização. Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o efeito da quercetina sobre parâmetros bioquímicos séricos, hepáticos e cardíacos, além do estresse oxidativo em ratas prenhez com diabetes mellitus tipo 1 induzido experimentalmente. Foram utilizadas 32 ratas prenhez *Wistar*, distribuídas em 4 grupos experimentais ($n=8$): G1 (normais, controle); G2 (normais, tratadas com quercetina); G3 (diabéticas não tratadas); G4 (diabéticas, tratadas com quercetina). O diabetes mellitus foi induzido com estreptozotocina (60mg/kg, i.p., dose única). Após 48 horas, as ratas que apresentaram concentração glicêmica acima de 220 mg/dl foram consideradas diabéticas e submetidas ao acasalamento. A prenhez foi verificada através de lavados vaginais, levando em consideração fatores indicativos de prenhez, como cabeças de espermatozóides e diagnóstico da fase estral. Com a confirmação da prenhez a quercetina foi administrada por gavagem, na concentração de 50 mg/kg de peso corporal, em intervalos de 7 dias, durante o período gestacional. Após este período, o soro e amostras de tecidos hepático e cardíaco foram obtidas e utilizadas nas determinações bioquímicas. O delineamento estatístico foi inteiramente ao acaso

com 4 tratamentos e 8 repetições; o nível de significância adotado foi de 5% de probabilidade. Os resultados obtidos indicaram que as ratas prenhez diabéticas (G3) apresentaram menor ($p < 0.05$) peso corporal, aumento ($p < 0.05$) do consumo de água e ração, além de hiperglicemia ($p < 0.05$). Enquanto que o tratamento com quercetina (G4) aumentou ($p < 0.05$) o peso corporal, reduziu ($p < 0.05$) o consumo alimentar e de água, parâmetros nutricionais com melhor controle glicêmico. Ratas prenhez diabéticas não tratadas (G3) demonstraram alterações séricas importantes como, elevação ($p < 0.05$) nas concentrações de colesterol total, LDL-colesterol, VLDL-colesterol, triacilgliceróis, uréia, creatinina, hidroperóxido de lipídio, atividade da alanina aminotransferase (ALT) e lactato desidrogenase (LDH). Além disso, apresentaram diminuição ($p < 0.05$) nos níveis séricos de proteínas totais, bem como na atividade da enzima antioxidante glutaciona peroxidase (GSH-Px). A quercetina (G4) foi efetiva em reduzir a dislipidemia e atividade de ALT e LDH, além de aumentar proteínas totais e atividade da GSH-Px. Em ratas prenhez diabéticas (G4) a quercetina, elevou o conteúdo hepático e cardíaco de proteínas totais e glicogênio. Sendo que a atividade cardíaca de LDH e de ALT no tecido hepático diminuiu ($p < 0.05$) com a administração de quercetina (G4). A prole de ratas expostas ao diabetes tipo 1 experimental, tratadas ou não, apresentaram filhotes classificados como pequenos para a idade de prenhez (PIP) e também não demonstraram alteração no peso corporal. Diante dos resultados obtidos pode-se concluir que, a quercetina demonstrou eficiência ao apresentar efeito antidiabetogênico, hepato-cardioprotetor, melhora sobre a dislipidemia, além de controlar o estresse oxidativo, em ratas prenhez diabéticas induzidas experimentalmente.

ABSTRACT

Diabetes mellitus is a metabolic syndrome characterized by relative or absolute insulin deficiency in target organs, exposing tissues to chronic hyperglycemia. In addition, insulin deficiency leads to abnormal metabolism of lipids, proteins and carbohydrates. During gestation, diabetes shows the worst maternal and fetal prognosis, including high rates of spontaneous abortion, congenital malformation, intrauterine death, macrosomia, prematurity, and metabolic and functional disorders. There is a strong tendency toward the appreciation of natural substances for therapeutic purposes in human medicine. In this context, flavonoids are worthy of note since, as products of natural origin, they have been gaining a large number of consumers. Thus, the present study aimed to assess the effect of quercetin on biochemical parameters of serum, liver and heart, addition to stress oxidative in pregnant rats with experimentally induced diabetes. The study included 32 pregnancy *Wistar* rats allocated to 4 experimental groups ($n=8$): G1 (normal, control); G2 (normal, treated with quercetin); G3 (diabetic, non-treated); G4 (diabetic, treated with quercetin). Diabetes mellitus was induced by using esterptozotocin (60mg/kg, i.p., single dose). After 48 hours, animals showing glucose level above 220 mg/dl were considered diabetic and were subjected to breeding. Pregnancy was verified by means of vaginal lavage, considering the predictors of pregnancy such as sperm heads and the estrous phase. Once pregnancy was established, quercetin was administered through gavage at the concentration of 50 mg/kg body weight at 7-day intervals, during pregnancy. After the experimental period, serum and tissue samples from the liver and the heart were obtained and used in the biochemical assays. Statistical design was completely randomized with 4 treatments and 8 replicates; the adopted significance level was 5% probability. The obtained results indicated that pregnant diabetic rats (G3) had lower ($p<0.05$) body weight, increased ($p<0.05$) water

and food intake, nutritional parameters, besides hyperglycemia ($p < 0.05$). On the other hand, treatment with quercetin (G4) increased ($p < 0.05$) the body weight and reduced ($p < 0.05$) food and water intake, nutritional parameters, showing better glycemetic control. Pregnant non-treated diabetic rats (G3) showed important serum changes such as increase ($p < 0.05$) in the levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, VLDL-cholesterol, triacylglycerols, urea, creatinine and lipid hydroperoxide, as well as in the activity of alanine aminotransferase (ALT) and lactate dehydrogenase (LDH). In addition, they had a decrease ($p < 0.05$) in the serum levels of total proteins and in the activity of the antioxidant enzyme glutathione peroxidase (GSH-Px). Quercetin (G4) was effective in improving these reduce dyslipidemia, the activity of ALT and LDH; increased total protein and activity of GSH-Px. In pregnant diabetic rats (G4), quercetin increased the hepatic level of total proteins and glycogen. LDH activity in the heart and ALT activity in the hepatic tissue of quercetin-treated (G4) decreased ($p < 0.05$). The litter of rats exposed to experimental diabetes type 1, treated or not, was classified as small for their gestational age (SPA) and did not show body weight change. Based on the obtained results, we can conclude that quercetin had efficient antidiabetogenic, hepatic and cardioprotector effects, besides dyslipidemia improvement and oxidative stress control in pregnant rats with experimentally induced diabetes.

I. INTRODUÇÃO

1. Diabetes mellitus

Diabetes mellitus é uma síndrome de etiologia múltipla, caracterizada pela deficiência relativa ou absoluta da insulina em exercer sua ação sobre órgãos-responsivos-alvo, assim a glicose permanece em alta concentração no sangue, com anormalidades observadas no metabolismo de lipídios, proteínas e carboidratos (REECE et. al., 2004; BROWNLEE, 2005; XIANG et al., 2010).

Segundo dados da Organização Mundial da Saúde (OMS) a prevalência de diabetes mellitus foi cerca de 171 milhões de pessoas em 2010 e há estimativa que este número pode aumentar para 366 milhões até 2030, ou seja, mais de 5% da população mundial estará acometida pela doença, o que pode alcançar proporções epidêmicas mundiais (GROSSMAN, 2008). Além disso, há uma projeção que, ainda neste século, o Brasil terá aproximadamente 11 milhões de indivíduos com diabetes mellitus (WILD et al., 2004).

A doença é uma das principais causas de elevadas taxas de mortalidade em decorrência de seus efeitos sobre os distúrbios cardiovasculares, principalmente aterosclerose, além de outras complicações, tais como retinopatias e insuficiência renal (UTSUNOMIYA, 2005). Desta forma, o diabetes passa ser importante problema de saúde pública, pois compromete a qualidade de vida e sobrevida dos indivíduos, além de envolver elevados custos no seu tratamento. Assim, estudos experimentais relacionados à causa, diagnóstico, tratamento e o conhecimento dos fatores de suas complicações, tornam-se necessários (ALBUQUERQUE, 2007).

Basicamente existem duas classes clínicas principais de diabetes. Diabetes mellitus tipo 1 ou insulino dependente conhecido como diabetes juvenil, causado pela destruição auto-imune das células β -pancreáticas e conseqüentemente incapazes de

produzir insulina em quantidades normais (BEARDSALL et al., 2006). A amplitude da destruição dessas células é variável, ocorrendo mais rapidamente em indivíduos jovens com falhas tanto na síntese como na secreção endógena de insulina (PERFETTI & AHMAD, 2000), sendo a insulino terapia o tratamento indicado para estes pacientes.

O diabetes mellitus tipo 2, insulino independente, também denominado de diabetes resistente à insulina, é caracterizado pela deterioração gradativa da função das células β -pancreáticas em indivíduos adultos e frequentemente obesos. Há relativa deficiência na secreção de insulina e resistência das células à ação deste hormônio (BEARDSALL et al., 2006), ou seja, aspectos do sistema de resposta insulínica estão defeituosos, como a diminuição no número de receptores celulares. Os tecidos perdem a sensibilidade à ação da insulina e, de forma compensatória, o pâncreas exacerba a sua produção, o que pode levar a apoptose, e assim instala-se a deficiência absoluta de insulina (ROSAK, 2002; OIKNINE & MOORADIAN, 2003).

Mais recentemente, segundo a ADA (2011), o diabetes mellitus gestacional compõe outra classe desta patologia. E pode ser definido como qualquer grau de intolerância a glicose com início ou primeiro reconhecimento durante a gestação, podendo ou não persistir após o parto (DETSCH et al., 2011).

2. Prognóstico clínico materno/perinatal no diabetes experimental

Considerando as alterações fisiológicas necessárias à adaptação do organismo materno durante a gravidez, como as metabólico-nutricionais (RUDGE & CALDERON, 2004), qualquer desequilíbrio materno, pode ocasionar profundas repercussões ao organismo embriofetal e ao recém-nascido (LESAGE et al., 2004; ZAMBRANO et al., 2005; ZAMBRANO et al., 2006). Além de aumentar a probabilidade destes indivíduos desenvolverem doenças cardíacas, hipertensão,

resistência à insulina e diabetes mellitus (BOLOKER et al., 2002; NATHANIELZ & THORNBURG, 2003).

Durante a gestação, o diabetes cursa o pior prognóstico materno e fetal com elevadas taxas de abortos espontâneos, malformações congênitas, óbito intra-útero, macrosomia (alargamento da circunferência torácica e abdominal em relação à circunferência da cabeça) (VAN ASSCHE et al., 2001), prematuridade e distúrbios metabólicos e respiratórios do neonato (ADA, 2011).

Na ausência de resposta pancreática adequada, característica do diabetes gestacional, ou nos casos de diabetes pré-existente, estabelece a hiperglicemia materna. Essa glicose aumentada apresenta difusão facilitada pela placenta e induz à hiperglicemia e hiperinsulinemia fetal, o que pode comprometer o desenvolvimento normal do feto (PIPER, 2002; GARCIA, 2008).

A função pancreática materna está aumentada durante a gestação, o que pode ocasionar o diabetes gestacional com graus de intolerância à glicose (RUDGE & CALDERON, 2004; MIRANDA & REIS, 2008).

O hiperinsulinismo fetal estimula a lipogênese, síntese tanto de proteínas como de glicogênio, estes processos podem facilitar o desenvolvimento da macrosomia. Estas condições, paradoxalmente podem levar a hipoglicemia hiperinsulinêmica neonatal, responsáveis por elevar as taxas de mortalidade do recém-nascido (GRENACHE & GRONOWSHI, 2006).

O diabetes mellitus na gestação pode predispor o feto a fatores associados com o ambiente intra-uterino anormal, como elevadas taxas de glicose, aminoácido e lipídios que podem aumentar a secreção de insulina e, talvez, levar ao desenvolvimento de resistência à insulina precocemente (PETIT et al., 2001).

Em estudos experimentais realizados por López-Soldado & Herrera, (2003) a hiperglicemia crônica no meio intra-uterino esteve associada à complicações maternas, tais como insuficiência renal (VAN ASSCHE et al., 2001), baixo fluxo sanguíneo útero placentário e deficiência no transporte de nutrientes na unidade feto-placentária (HOLEMANS et al., 1999), ocasionando restrição de crescimento intra-uterino do feto, com peso reduzido ao nascer comparado a prole de mães normoglicêmicas (HOLEMANS et al., 1999; VAN ASSCHE et al., 2001).

Sun et al. (2005) ao analisarem embriões de ratas diabéticas no período gestacional, demonstraram associação entre apoptoses e malformações do sistema nervoso do feto. Por sua vez, Reece et al. (2004) relataram que as malformações em animais experimentais estão relacionadas com a intensidade da hiperglicemia, sendo que 20% das malformações foram observadas em níveis glicêmicos de aproximadamente 300mg/dL, e 50 % para níveis de 600mg/dL.

Saito et al. (2010) relataram que a hiperglicemia pode afetar o estágio da implantação, bem como o desenvolvimento da placenta e feto.

Dentre os desvios de crescimento, a macrossomia é mais frequente, com risco aumentado de toco-traumatismos, distócias intraparto e distúrbios metabólicos (hipoglicemia), eletrolíticos (hipocalcemia e hipomagnesemia) e hematológicos (hiperbilirrubinemia, policitemia e tromboembolia) (DELGADO et al., 2000; PALLADINO et al., 2008).

As anomalias decorrentes de gestações complicadas pelo diabetes são as malformações do sistema nervoso central, caracterizadas pela regressão caudal e defeitos no tubo neural (anencefalia, encefalocele, meningomielocele, espinha bífida, holoprosencefalia). Dentre as cardiovasculares, estão a transposição dos grandes vasos, alteração no septo ventricular (*situs inversus*), hipoplasia do ventrículo esquerdo e a

miocardiopatia hipertrófica (CHO et al., 2000; MANDERSON et al., 2002; AERTS & VAN ASSCHE, 2006; PALLADINO et al., 2008). As complicações urogenitais e gastro-intestinais completam o quadro das malformações associadas à hiperglicemia intra-uterina no período de embriogênese.

Contudo, a patogênese dessas alterações ainda não está totalmente esclarecida, pois vários fatores estão envolvidos. Estudos comprovam que o estímulo principal é a hiperglicemia, estabelecida no meio intra-uterino, nas primeiras semanas de gestação, com produção de radicais livres, favorecendo o estresse oxidativo.

Além dessas malformações evidenciam outras complicações clínicas em condições diabéticas como a dificuldade à implantação, trabalho de parto pré-maturo, polidrâmnio e finalmente elevadas taxas de abortos (DAMASCENO et al., 2002; GABBE & GRAVES, 2003; RUDGE & CALDERON, 2004; PALLADINO et al., 2008; LIRA & DIMENSTEIN., 2010). Por sua vez, Al Ghafli et al. (2004) relataram aumento nas reabsorções embrionárias, morte fetal, bem como macrosomia em prole de ratas diabéticas.

Estudos indicam que o controle da glicemia é essencial para reduzir, ou até mesmo prevenir, as complicações clínicas relevantes do diabetes (JOHANSEN et al., 2005) e também diminuir a incidência de abortos espontâneos e má formação congênitas dos recém-nascidos de mães diabéticas (DOBLADO & MOLEY, 2007; SAITO et al., 2010).

3. Espécies reativas de oxigênio e mecanismos antioxidantes

Evidências demonstram que o diabetes mellitus está associado à produção aumentada de radicais livres derivados do oxigênio molecular, denominados de espécies reativas de oxigênio (ERO) (BONNEFONT-ROUSSELOT, 2004).

Radicais livres são átomos ou moléculas que possuem um ou mais elétrons não pareados em seu orbital mais externo, o que os tornam extremamente reativos (FRIDOVICH, 1998). Estão implicados na etiologia de grande número de alterações degenerativas, incluindo doenças cardiovasculares, diabetes, câncer e envelhecimento (BRAY, 2000). Podem ser formados no meio intracelular durante os processos oxidativos, envolvidos com a produção de energia na cadeia transportadora de elétrons e fosforilação oxidativa. Dentre as EROs, as principais são superóxido ($\bullet\text{O}_2^-$), hidroxil ($\bullet\text{OH}$), peroxil ($\bullet\text{RO}_2$), hidroperoxil ($\bullet\text{HRO}_2^-$) e peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (JOHANSEN et al., 2005; FORBES et al., 2008).

As EROs podem atuar sobre a grande maioria das estruturas celulares, causando danos às proteínas, membranas celulares, ácidos nucleicos, resultando em disfunção e destruição celular, com injúrias teciduais e, conseqüentemente, o estabelecimento de inúmeras condições patológicas (KAKKAR et al., 1998; KUROKI et al., 2003; MARITIM et al., 2003).

Na tentativa de impedir a ação tóxica das EROs, as células dispõem de sistemas antioxidantes que as inibem e protegem os sistemas biológicos contra os efeitos lesivos da oxidação excessiva (BIESALSKI, 2000).

A literatura descreve mecanismos bioquímicos à respeito das anormalidades relacionadas com a exposição prolongada dos tecidos à hiperglicemia, a qual favorece o estresse oxidativo, por afetar as defesas antioxidantes em indivíduos diabéticos, dificultando, desta maneira, a remoção de radicais livres (REIS et al., 2008).

A via dos polióis é um dos mecanismos, no qual a hiperglicemia estimula a aldose redutase e, portanto a conversão de glicose à sorbitol que eleva a razão NADP/NADPH₂, condição que resulta em baixa atividade da glutatona redutase. Esta enzima é capaz de regenerar a glutatona reduzida que servirá de substrato para a

glutationa peroxidase (Figura 1) (TABATABAEI et al., 2008) e assim manter a sua atividade (FORBES et al., 2008).

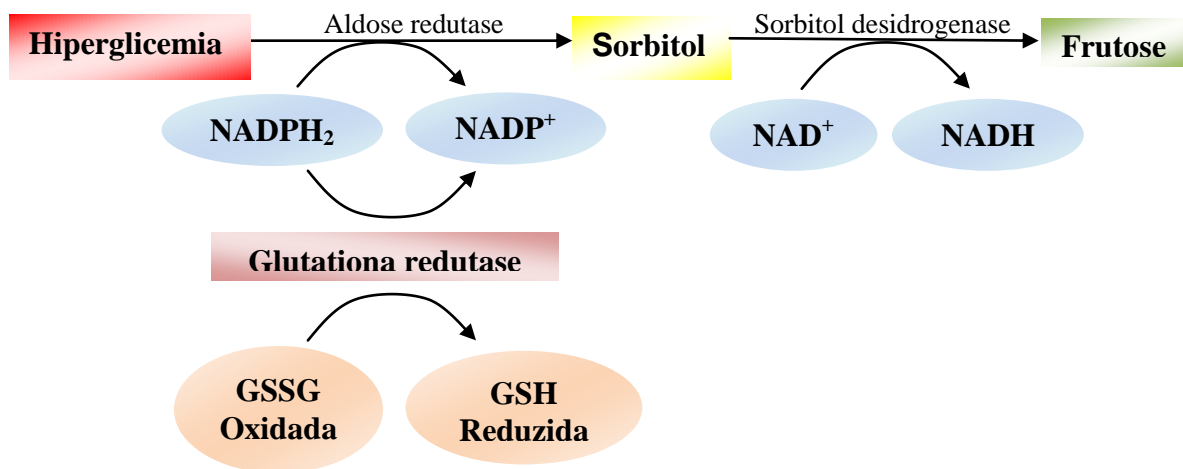


Figura 1. Via do poliol estimulada pela hiperglicemia (Adaptado: REIS et al., 2008).

Segundo Gregory & Kelly (2011) a atividade da aldose redutase foi inibida nas células em meio contendo glicose e quercetina, desta forma houve controle da via dos polióis e, conseqüentemente aumento da atividade da glutatona peroxidase.

Anormalidades no metabolismo energético observadas no diabetes mellitus leva a oxidação excessiva de ácidos graxos, promovendo o aumento da cadeia transportadora de elétrons e, conseqüentemente maior geração de ERO (KUROKI et al., 2003).

ERO causam, *in vitro*, danos a via de sinalização da insulina e diminuição da translocação dos transportadores de glicose (GLUT-4) nos adipócitos. Em adição, a oxidação de lipídios e de proteínas está associada com o desenvolvimento das complicações do diabetes (CUNHA et al., 2009; SILVA et al., 2011). Modelos animais com diabetes, que apresentem o *status* redox similar ao humano, serão úteis para analisar possíveis mecanismos que estejam envolvidos na relação entre diabetes e estresse oxidativo.

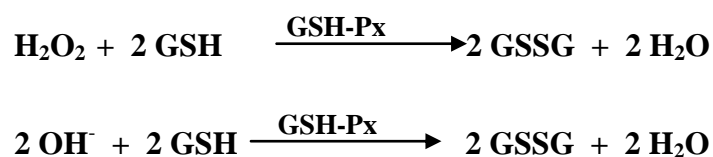
Segundo Yamada & Grisham (1991) e Krinsky (1992) a primeira linha de defesa contra o dano oxidativo são os antioxidantes endógenos enzimáticos, como as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase e glutatona peroxidase (GSH-Px). Há também os

antioxidantes não enzimáticos, como os lipossolúveis (carotenos, tocoferóis, quinonas e bilirrubinas) e os hidrossolúveis (ácido ascórbico, ácido úrico e proteínas ligadas a metais).

A superóxido dismutase corresponde a uma família de enzimas com diferentes grupos prostéticos em sua constituição. É responsável pela dismutação do radical superóxido ($O\dot{O}_2$) em H_2O_2 e O_2 na presença de prótons H^+ (ACHARYA et al., 1991), segunda a reação:



A glutathiona peroxidase catalisa a redução do peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e peróxidos orgânicos a água, através da conversão da glutathiona reduzida (GSH), como doadora de hidrogênio, em glutathiona oxidada (GSSG) (MARITIM et al., 2003), segunda a reação:



Estudos relatam a correlação entre hiperglicemia e estresse oxidativo, porém o mecanismo de ação envolvido é complexo e parcialmente compreendido. Contudo, sabe-se que a hiperglicemia leva a produção excessiva de espécies reativas derivadas do metabolismo de oxigênio e, portanto excede a capacidade do sistema antioxidante endógeno (CONSENTINO et al., 1997; AL-SHAMSI et al. 2006; ORSOLIC et al., 2011).

Esta hipótese é sustentada por evidências bioquímicas associadas à hiperglicemia, como auto-oxidação da glicose, formação de produtos finais de glicação avançada, ativação da via do polióis e cadeia transportadora de elétrons. Estes processos podem favorecer a produção de ERO e determinar o desenvolvimento e progressão do

diabetes mellitus, além das complicações associadas (Figura 2) (BRUCE-CHERTOW, 2004; FAKHER et al., 2007).

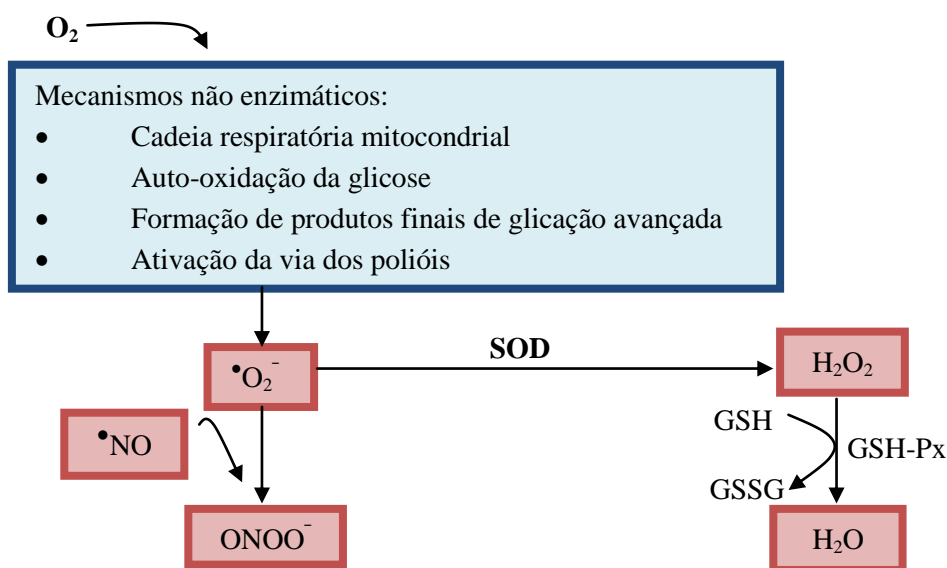


Figura 2. Formação de Espécies Reativas de Oxigênio e atividade das enzimas antioxidantes no diabetes mellitus (Adaptado: BRUCE-CHERTOW, 2004).

A redução da capacidade antioxidante endógena e o excesso de formação e/ou remoção insuficientes das ERO resulta em estresse oxidativo, que conduz a danos celulares (RAMESH & PUGALENDI, 2005; LOPES et al., 2008) e as complicações diabéticas. O aumento de ERO tem sido atribuído a glicação não enzimática das proteínas e auto-oxidação da glicose devido a hiperglicemia (VICENTIN et al., 2011).

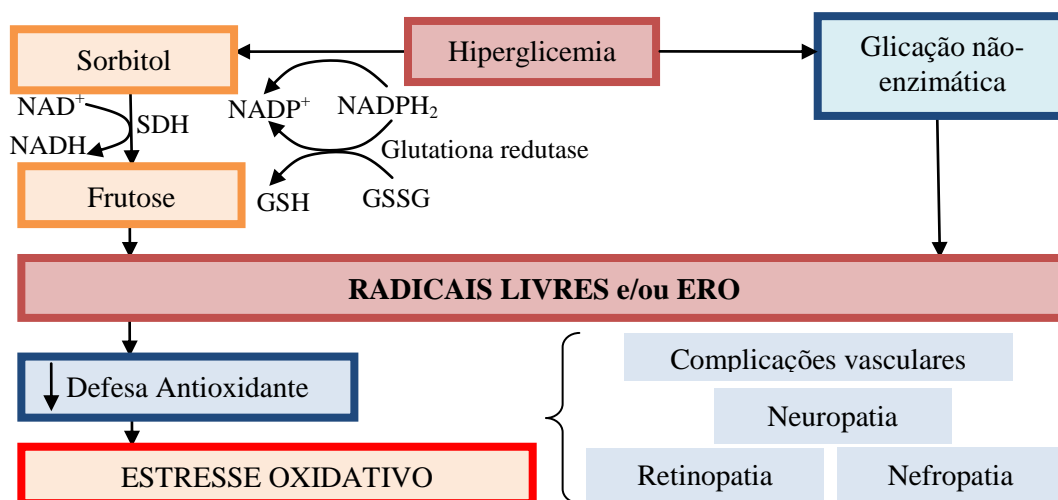


Figura 3. Associação entre a via do poliol, estresse oxidativo e complicações diabéticas

(Adaptado: BROWNLEE et al., 2005).

4. Indução experimental do diabetes mellitus

Desde que estudos em humanos para compreender as alterações metabólicas causadas pelo diabetes na gestação são limitados, sejam por razões éticas ou por múltiplas variáveis de difícil controle no meio intra-uterino, um modelo animal adequado torna-se necessário para facilitar o diagnóstico e o tratamento da fisiopatogênese diabética.

Modelos animais têm sido extensivamente utilizados em pesquisas sobre o diabetes. Além de compreender os mecanismos da patogênese e complicações decorrentes da doença, os tratamentos para o diabetes, incluindo transplante de células das ilhotas e estratégias preventivas, são inicialmente investigados em modelos animais (REES & ALCOLADO, 2005; ZHAO & REECE, 2005).

Tem-se estudado métodos para indução do diabetes experimental, tais como, pancreatectomia parcial ou total, o uso de hormônios anti-insulínicos, a exposição à hidrocortisona e lesões no sistema nervoso central. Porém a administração de agentes químicos β -citotóxicos como a aloxana e a estreptozotocina (REIS & ALCOLADO, 2005) consiste numa maneira eficiente para promover o diabetes melitus insulino dependente tipo 1 e assim, torna-se possível o estudo de mecanismos fisiopatológicos, atividade hipoglicemiante e anti-diabetogênica de certos compostos.

A estreptozotocina (STZ) é um antibiótico, de natureza glicosamina-nitrosuréia, com propriedades tóxicas, isolada de *Streptomyces achromogenes* e é captada pelas β -pancreáticas através transportadores de glicose GLUT-2 (XIANG et al., 2010).

As células β são mais sensíveis a ação da estreptozotocina em relação a outros tipos celulares, especialmente as de roedores devido a baixa expressão gênica à enzimas antioxidantes (KANETO et al., 2002). E notoriamente as células β -pancreáticas

humanas são extremamente resistentes aos efeitos diabetogênicos da estreptozotocina (YANG & WRIGHT, 2002; SILVA et al., 2011).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar a ação da estreptozotocina sobre danos às células β -pancreáticas. Sugere-se que a estreptozotocina atua como agente alquilante sobre a estrutura do DNA por radical $\bullet\text{CH}_3$ (SZKUDELSKI, 2001; BÓLZAN & BIANCHI, 2002). E também atua estimulando a produção de ERO (O_2^- , H_2O_2 e OH), com elevação na peroxidação lipídica e diminuição na atividade das enzimas antioxidantes das células β -pancreáticas (WEST et al., 2000; DAMASCENO et al., 2002; EVELSON et al., 2005; SILVA et al., 2011).

Um dos principais efeitos tóxicos da STZ envolve a alteração da estrutura do DNA, o qual é fragmentado pelas EROs, comprometendo, desta forma, a biossíntese e secreção de insulina (TABATABAEI et al., 2008; XIANG et al., 2010) (Figura 4). Assim, Bolzán & Bianchi (2002) relataram que a STZ interfere no metabolismo energético das células β -pancreáticas, pois inibe o ciclo do ácido cítrico, limitando a produção de ATP mitocondrial, que frequentemente resulta em apoptose celular.

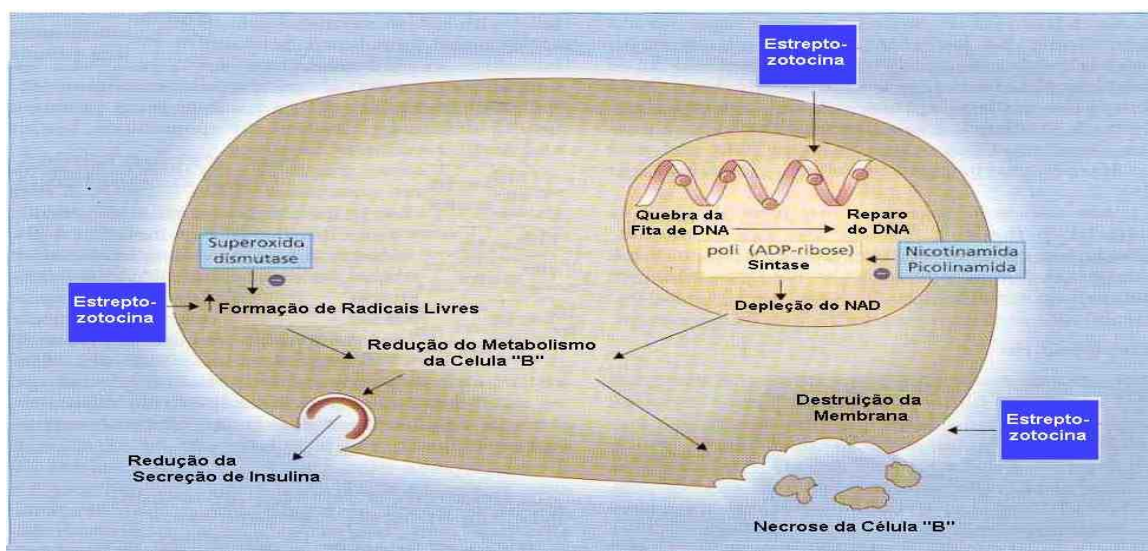


Figura 4. Atuação da estreptozotocina sobre as células β -pancreáticas (Fonte: PICKUP & WILLIAMS, 1997).

Contudo, outros mecanismos de ação podem ser descritos para STZ como geradora de monóxido de nitrogênio e lesões estruturais das macromoléculas como DNA, proteínas e fosfolipídios de membranas (ZHAO & REECE, 2005; CUNHA et al., 2009).

Calderon et al. (1992) padronizaram o modelo do binômio diabetes e prenhez, e demonstraram que ratas com diabetes induzido por estreptozotocina, apresentaram diferentes repercussões placentárias em função do nível glicêmico. A hiperglicemia crônica no meio intra-uterino leva ao esgotamento das células β -pancreáticas, com produção reduzida de insulina (ERIKSSON et al., 1980; VERHAEGHE et al., 1989), além de alterações no fluxo uterino-placentário e nas trocas materno-fetais (CALDERON et al., 1999; DAMASCENO, 2002).

5. Flavonóides

Os flavonóides compõem ampla classe de substâncias de origem vegetal, cuja síntese não ocorre nos animais. Entretanto, tais compostos possuem uma série de propriedades farmacológicas que atuam sobre sistemas biológicos de forma benéfica para o organismo, sendo indicado para tratamento de doenças degenerativas mediadas por estresse oxidativo (LOPEZ-REVUELTA et al., 2006).

Flavonóides são compostos polifenólicos biossintetizados a partir da via dos fenilpropanóides e do acetato, precursores de outros grupos principalmente como aminoácidos alifáticos e terpenóides (MANN, 1987). A quercetina, naringerina e a rutina são os flavonóides com maior distribuição entre as plantas e com alto poder antioxidante (MANACH et al., 1997).

Mais de 8.000 flavonóides já foram identificados (PIETTA, 2000) e sua estrutura básica consiste em um núcleo fundamental, constituído por quinze átomos de

carbono arranjados em três anéis, sendo dois anéis fenólicos substituídos (A e B) e um pirano (cadeia heterocíclica C) acoplado ao anel A (Figura 5).

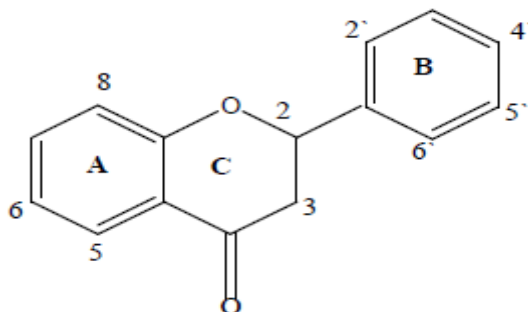


Figura 5. Estrutura química dos flavonóides (Fonte: DI CARLO et al., 1999).

Os flavonóides são antioxidantes efetivos devido à suas propriedades sequestrantes de radicais livres e por quelar íons metálicos, protegendo assim as células dos radicais livres e, portanto, da peroxidação lipídica. A propriedade antioxidante é direcionada sobre o radical hidroxil ($\bullet\text{OH}$) e o ânion superóxido (O_2^-), espécies altamente reativas envolvidas no desencadeamento da peroxidação lipídica (KAHRAMAN et al., 2003).

Além disso, os flavonóides apresentam propriedades estabilizadoras de membranas, podendo envolver processos do metabolismo intermediário (GALATI et al., 2002).

Dentre os flavonóides, a quercetina é mais abundante e está presente normalmente nos vegetais na forma glicosilada como quercetina-3-rutinosídeo (OLTHOF et al., 2000). Atua como antioxidante ao inibir o processo de formação de radicais livres em três etapas, iniciação – através da interação com íons superóxido; formação de radicais hidroxil - por quelar íons de ferro; e na peroxidação lipídica - por reagir com radicais peroxi de lipídeos (PIETTA et al., 2000; AHLENSTIEL et al., 2003; BELHIN et al., 2004).

Além disso, a quercetina sequestra radicais de oxigênio como ($\bullet\text{OH}$ e O_2^-) inibe a xantina oxidase e a peroxidação lipídica. O radical hidroxil e o ânion superóxido promovem dano tecidual por iniciarem a peroxidação lipídica (BELHING et al., 2004). Desta forma, a quercetina pode apresentar atuação protetora contra fatores que induzem o estresse oxidativo (GREGORY & KELLY, 2011).

A nefropatia diabética, considerada uma das principais responsáveis pelas complicações renais crônicas, foi controlada pela melhora na depuração da uréia e da creatinina na presença de quercetina, além de aumentar atividade das enzimas antioxidantes no tecido renal (ANJANEYULU & CHOPRA, 2004).

Estudos realizados por Kahraman et al. (2003) demonstraram que a administração de quercetina em ratos com isquemia/reperfusão renal, reduziu o nível das substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, fator de necrose tumoral, bem como o aumento de glutatona e da atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase.

Dias et al. (2005) e Bona (2010) relataram que a quercetina em ratos com diabetes mellitus tipo 1, preveniu o estresse oxidativo. Enquanto Vessal et al. (2003) e Mahesh & Menom (2004) observaram efeito hipoglicemiante em animais diabéticos na presença de quercetina.

6. Flavonóides e aspectos metabólicos

A embriopatia diabética (defeitos no nascimento e abortos espontâneos), resultante de um ambiente intra-uterino metabolicamente anormal (BUCHANAN & KITZMILLER, 1994). Embora os mecanismos precisos ainda não estejam bem esclarecidos, a literatura aponta para aumento na produção de radicais livres em resposta ao distúrbio metabólico decorrente do diabetes, sugerindo que o estresse oxidativo exerce forte influência sobre as complicações reprodutivas materna e à patogênese da embriopatia diabética (DAMASCENO et al., 2002; SOUZA et al., 2009).

Diversos estudos têm demonstrado que a suplementação de antioxidantes à ratas diabéticas, no período gestacional, diminui a incidência de malformações fetais e reabsorções embrionárias, evidenciando normalidade no crescimento e desenvolvimento embrionário (AL GHAFI et al., 2004; WENTZEL et al., 2005).

A doença cardiovascular é a principal responsável pela redução de sobrevida de pacientes diabéticos, sendo a causa mais frequente de mortalidade, pois apresenta grande variedade de distúrbios vasculares, incluindo infarto do miocárdio. Por sua vez, a dislipidemia é um dos principais fatores de risco para os distúrbios cardiovasculares em pacientes diabéticos (LETHO et al., 1997). As alterações lipídicas mais frequentes na população diabética são hipertrigliceridemia, baixo nível de HDL-colesterol e alto nível de LDL-colesterol. Em estudo realizado por Arai et al. (2000) e Silva et al. (2002) o consumo de flavonóides associou-se a baixa incidência de aterosclerose, devido à proteção de LDL-colesterol contra a lipoperoxidação.

A utilização de flavonóides tem despertado interesse na clínica devido aos efeitos benéficos sobre doenças cardiovasculares. Estudos epidemiológicos demonstraram correlação inversa entre distúrbios cardiovasculares e consumo de dietas ricas em flavonóides. Verificou-se aumento sérico da HDL-colesterol e diminuição tanto na concentração sérica de triacilgliceróis como de LDL-colesterol (HERTOG et al., 1992; AHLENSTIEL et al., 2003), além de protegê-las da oxidação (CONSENTINO et al., 1997).

A cardiomiopatia diabética é originada como sendo resultado de complexas relações entre anormalidade metabólicas que acompanham o diabetes e suas conseqüências celulares, levando a alterações tanto na estrutura como função miocárdica (BOUDINA & ABEL, 2007).

Babu & Srinivasan (1995) relataram que pacientes com nefropatia diabética e com baixa concentração sérica de colesterol apresentaram menor grau de lesão renal comparados aos pacientes com alto nível sérico de colesterol.

Em outros estudos a concentração plasmática e hepática de colesterol total e de triacilgliceróis reduziram, enquanto que o nível sérico de HDL-colesterol aumentou com a administração de flavonóides (BOK et al., 1999; SILVA et al., 2002). Ratos diabéticos tratados com flavonóides apresentaram queda na concentração sérica tanto de colesterol como de triacilgliceróis (MIYAKE et al., 1998; MENEZES et al., 2007) e redução da atividade sérica da aspartato aminotransferase (SANDERS et al., 2001). Lean et al. (1999) relataram que a concentração sérica de albumina, globulinas e de bilirrubinas não alterou nos pacientes diabéticos tratados com dietas ricas em flavonóides.

A associação entre hiperlipidemia e doenças coronarianas está bem estabelecida e fundamenta-se principalmente no papel do colesterol no desenvolvimento da aterosclerose. O acúmulo das lipoproteínas de baixa densidade (LDL) sobre a membrana endotelial torna-se fator de risco para a aterosclerose e doenças cardiovasculares (YOSHIDA et al., 2005). Por outro lado, a fração HDL impede este depósito, uma vez que atua transportando o excesso de colesterol dos tecidos extra-hepáticos para o fígado (WHITNEY, 1997). Embora a patogênese dessa enfermidade seja complexa, um dos fatores reside na oxidação dos ácidos graxos de fosfolipídios da LDL-colesterol, provocando, desta forma, a endocitose pelos macrófagos presentes na camada subendotelial, o que contribui para a formação de células *foam* e conseqüentemente o desenvolvimento de aterosclerose (BRUCE-CHERTOW, 2004; GOLDBERG et al., 2008; MATHEUS et al., 2008).

Supõe-se que os flavonóides, primeiramente, possam reduzir a geração de radicais livres nos macrófagos ou ainda podem proteger os fosfolipídios estruturais da LDL contra a oxidação provocadas pelos radicais livres. Além disso, podem reduzir α -tocoferol pela doação de átomos de hidrogênio ao radical α -tocoferol; quando este perde hidrogênio durante a peroxidação lipídica (FRANKEL et al., 1993; DORNAS et al., 2007; OLIVEIRA et al., 2010).

A hiperglicemia observada no diabetes mellitus está intimamente relacionada com distúrbios lipidêmicos, como aumento da LDL-colesterol e de triacilgliceróis, e redução da HDL-colesterol, elevando o risco de doenças isquêmicas cardiovasculares e cerebrovasculares. Por outro lado, a susceptibilidade da LDL à glicação e à oxidação parece estar relacionada ao controle glicêmico inadequado e pela redução no sistema de defesa antioxidante, observada no diabetes mellitus. Dessa forma, a redução da hiperglicemia é determinante como fator benéfico, pois diminui o estresse oxidativo e reduz a aterogênese diabética (JOHANSEN et al., 2005; SHAMIR et al., 2007; TIEPPO et al., 2009).

O reconhecimento celular entre LDL circulante e seu receptor de membrana é dificultado quando a lipoproteína torna-se glicada no estado diabético. Assim a LDL glicada pode contribuir para o aumento de risco de desenvolver aterosclerose em pacientes diabéticos (GHAFARI & MOJAB, 2007).

Embora não há evidências científicas sobre as repercussões maternas nas gestações complicadas pelo diabetes, sabe-se que as perinatais são claramente dependentes do controle rigoroso da hiperglicemia materna. Portanto, recomenda-se maior compreensão sobre o diabetes e suas complicações no período gestacional para que se tenha um planejamento adequado do protocolo terapêutico e avaliação criteriosa dos riscos maternos e perinatais.

Desde que as complicações crônicas degenerativas do diabetes são as principais causas de elevados índices de mortalidade, o controle destas complicações torna-se essencial. Assim a administração de substâncias biologicamente ativas como vitaminas, minerais e antioxidantes se destaca no sentido de diminuir as desordens metabólicas ocasionadas no diabetes mellitus (ROGOLIC et al.; 2005; LIRA & DIMENSTEIN et al., 2010).

Considerando que o estresse oxidativo induzido pela geração de radicais livres mediada pela hiperglicemia, e conseqüentemente o desenvolvimento do diabetes mellitus, torna-se evidente que a utilização de antioxidante pode compor uma estratégia eficiente no sentido de reduzir as complicações diabéticas (CERIELLO & MOTZ, 2004)

Atualmente observa-se forte tendência na valorização de substâncias naturais para fins terapêuticos na medicina humana. Paralelamente, a ciência tem se esforçado no sentido de desenvolver novas drogas, cada vez mais eficientes e menos tóxicas. Neste panorama, os flavonóides têm especial destaque, pois sendo produto de origem natural vem conquistando numerosos adeptos de sua utilização. Porém, para que estes compostos possam ser efetivamente utilizados com a finalidade terapêutica, há necessidade de estudos, no sentido de manter os níveis normais dos parâmetros bioquímicos e possível controle do estresse oxidativo.

II.OBJETIVOS

1.Objetivo geral

Avaliar as alterações metabólicas séricas e teciduais em ratas prenhez com diabetes tipo 1 induzido experimentalmente e tratadas com quercetina.

2. Objetivos específicos

Considerando-se a prevalência do diabetes mellitus tipo 1, as complicações no período gestacional e as propriedades biológicas dos flavonóides, os objetivos específicos do presente trabalho foram:

- ❖ Determinar as alterações metabólicas do diabetes mellitus tipo 1 induzido por estreptozotocina, através de parâmetros nutricionais, bioquímicos séricos e teciduais;
- ❖ Evidenciar o efeito do diabetes mellitus tipo 1 sobre o estresse oxidativo;
- ❖ Analisar os efeitos metabólicos da administração de quercetina sobre os parâmetros nutricionais, bioquímicos séricos e teciduais em ratas prenhez diabéticas;
- ❖ Identificar os efeitos da administração de quercetina sobre o estresse oxidativo em ratas prenhez com diabetes mellitus tipo 1 experimental;
- ❖ Analisar as repercussões do diabetes mellitus sobre a classificação do peso da prole.

III. MATERIAL E MÉTODOS

1. Animais Experimentais

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética na Experimentação Animal do Instituto de Biociências/Universidade Estadual Paulista (UNESP) – “Campus de Botucatu”, os quais estavam de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, previstos pelo Colégio Brasileiro na Experimentação Animal (COBEA).

Os animais foram provenientes do Biotério Central da UNESP/“Campus de Botucatu” e transferidos para o Laboratório de Experimentação Animal do Departamento de Química e Bioquímica/IB-UNESP-Botucatu. Foram utilizados 48 ratos (*Rattus norvegicus*), raça *Wistar*, sendo 32 fêmeas e 16 machos, com peso inicial em média de 250g, com 73 dias de idade. Os animais foram mantidos em gaiolas de plásticos, em ambiente com temperatura ($25 \pm 2^{\circ}\text{C}$) e fotoperíodo (ciclos 12:12 horas claro/escuro) controlados.

Os animais receberam água e ração comercial (Purina Labina, Campinas-SP) *ad libitum* durante o período experimental. O controle da ingestão de água e de ração foi realizado diariamente e a pesagem dos animais efetuada semanalmente.

2. Instalação do Experimento

2.1. Indução do Diabetes mellitus

O Diabetes mellitus experimental foi induzido nas ratas com aproximadamente 73 dias de idade, através da administração intraperitoneal de estreptozotocina, em dose única, na concentração de 60 mg/kg de peso corporal. A estreptozotocina foi diluída em tampão citrato de sódio 0,1 M pH 4,5 e os animais receberam 1 mL da solução

preparada. Após 48 horas foram retiradas amostras sanguíneas por punção da cauda e a glicemia foi determinada através de glicosímetro (Advantage). As ratas que apresentaram concentração de glicose acima de 220 mg/dL foram consideradas diabéticas e submetidas ao acasalamento (BABU & SRINIVASAN, 1995).

2.2. Acasalamento

Para o acasalamento manteve-se duas fêmeas na presença de um macho, no horário das 18:00 horas. A prenhez era verificada no dia seguinte às 7:00 horas. Para tanto utilizou-se de lavados vaginais colhidos com auxílio de uma pipeta de *Pauster* contendo 10 μ L de solução fisiológica a 0,9%. No material colhido era verificado a presença de fatores indicativos de prenhez, como, cabeças de espermatozóides e diagnóstico da fase estral. A confirmação da prenhez foi indicada como dia gestacional zero (DG 0), segundo Marcondes et al.(2002).

2.3. Grupos Experimentais

Foram utilizadas 32 ratas prenhez divididas aleatoriamente nos seguintes grupos experimentais ($n=8$):

G1= (normais, controle) – ratas normais que receberam ração e água;

G2= (normais, tratadas) – ratas normais que receberam quercetina, ração e água;

G3= (diabéticas) – ratas diabéticas que receberam ração e água;

G4= (diabéticas, tratadas) – ratas diabéticas que receberam quercetina, ração e água.

As ratas pertencentes aos grupos G2 e G4 receberam o flavonóide quercetina (SIGMA. Q-0125), via intragástrica (gavagem), na concentração de 50 mg/kg de peso corporal (FERNANDES et al., 2010), no primeiro dia gestacional (DG 0) e após intervalos de 7 dias, durante o período gestacional (21 dias), segundo Figura 7.

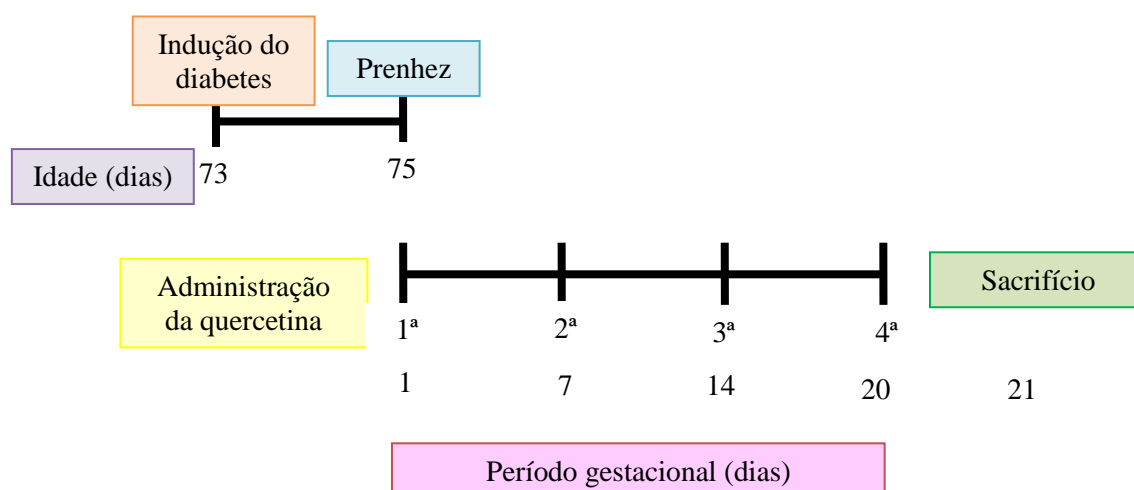


Figura 6. Sequência experimental

3. Obtenção das amostras

No final do período experimental (21 dias), os animais foram anestesiados (cloridrato de cetamina 10%, 0,1 mL/100g de peso corporal, i.p.) e sacrificados por fratura cervical e decapitação. O sangue foi coletado e o soro separado por centrifugação a 6000 rpm, por 15 minutos, e utilizado para determinação de proteínas totais, glicose, triacilgliceróis, colesterol total, HDL-colesterol, VLDL-colesterol, LDL-colesterol, uréia, creatinina e hidroperóxido de lipídio, bem como a atividade da lactato desidrogenase (LDH – EC 1.1.1.27), da alanina aminotransferase (ALT – EC 2.6.1.2), da glutathiona peroxidase (GSH-Px – EC 1.11.1.9) e da superóxido dismutase (SOD – EC 1.15.1.1). Após a retirada do sangue, o fígado e o coração foram imediatamente retirados e lavados em solução salina (9%). As amostras de aproximadamente 200 mg de tecido cardíaco e hepático foram estocadas em “freezer” à -80°C para as determinações de proteínas totais, glicogênio, triacilgliceróis, atividade da LDH e ALT.

4. Determinações séricas

4.1. Determinação de proteínas totais

Foram determinadas empregando-se o método de Biureto, onde as ligações peptídicas das proteínas reagem com íon cúprico, em meio alcalino, resultando em um complexo de cor violeta, cuja intensidade é proporcional à concentração de proteínas totais na amostra (MOURA, 1982).

4.2. Determinação da concentração de glicose

A glicose sanguínea, por ação da glicose-oxidase, é oxidada a ácido glicônico e forma peróxido de hidrogênio. Este peróxido de hidrogênio (H_2O_2) formado reage por ação da peroxidase com 4-aminoantepirina e com 1,4-diclorofenol. Por junção oxidativa forma-se aintipirilquinonimina de cor vermelha. A intensidade de coloração é proporcional à concentração de glicose (MOURA, 1982).

4.3. Determinação da concentração de triacilgliceróis

Os triacilgliceróis foram determinados através de sua hidrólise enzimática produzindo glicerol e ácidos graxos. Segundo Soloni (1971), o glicerol oxida-se com ácido peródico e formaldeído, o qual é quantificado colorimetricamente como 3,5 diacetil-1,4 diidrolutidina.

4.4. Determinação da concentração do colesterol total

O colesterol foi determinado enzimaticamente pela colesterol oxidase com hidrólise enzimática prévia dos ésteres, mediante uma lipase. A água oxigenada, liberada na oxidação produz fenol oxidado e 4-aminofenazona, catalisada pela peroxidase, com formação de quinoneiimina vermelha (MOURA, 1982).

4.5. Determinação da concentração de HDL-colesterol

As lipoproteínas de baixa e muito baixa densidade (LDL e VLDL) foram precipitadas seletivamente pelo ácido fosfotungstíco. No sobrenadante, separado por centrifugação, encontram-se as lipoproteínas de alta densidade (HDL), onde foi determinado o colesterol incorporado as mesmas (LOPES-VIRELLA et al., 1977).

4.6. Determinação da concentração de LDL e VLDL-colesterol

Os valores de LDL e VLDL-colesterol foram obtidos pela equação de Friedewald (COHN & ROTH, 1996).

4.7. Determinação da concentração de creatinina

A creatinina foi determinada segundo método de Folin-Wu, no qual a creatinina reage com o picrato alcalino em meio tamponado, com prévia desproteinização em ácido pícrico, obtendo-se um composto colorido. A reação de cor final é tamponada e segue a lei de Beer até 4 mg/dL (MOURA, 1982).

4.8. Determinação da concentração de uréia

A concentração de uréia foi determinada enzimaticamente através da urease, onde houve formação do produto final, o azul de idofenol, cuja intensidade de cor formada é diretamente proporcional à concentração de uréia presente na amostra (FAWCETT & SCOTH, 1960).

4.9. Determinação das atividades da alanina aminotransferase (EC 2.6.1.2) e da lactato desidrogenase (EC 1.1.1.27)

A atividade da alanina aminotransferase foi determinada segundo técnica de Wilkinson et al. (1965) e a lactato desidrogenase de acordo com Moura (1982),

utilizando o método UV otimizado, onde foi medido o consumo de NADH_2 , que é proporcional à atividade da enzima (U/L) presente na amostra.

4.10. Determinação de hidroperóxido de lipídio

Foi determinado através da oxidação do sulfato ferroso amoniacal (Fe^{2+}) na presença de alaranjado de xilenol, ácido sulfúrico e butilato hidroxitolueno (BHT) em metanol à temperatura ambiente. O Fe^{3+} formado reagiu com alaranjado de xilenol e formou cromógeno cuja intensidade de coloração foi medida espectrofotometricamente (JIANG et al., 1991). A concentração de hidroperóxido de lipídio foi expressa em nmol/mL.

4.11. Determinação da atividade da glutathiona peroxidase (GSH-Px – EC 1.11.1.9)

A atividade da glutathiona peroxidase foi determinada segundo método de Nakamura et al. (1974), na presença de peróxido de hidrogênio. A mistura da reação foi preparada com tampão fosfato de sódio, NADPH_2 , azida sódica, EDTA, glutathiona reduzida (GSH) e glutathiona redutase. Através da oxidação do NADPH_2 , a 340 nm, na presença da glutathiona redutase, a qual catalisa a redução da glutathiona oxidada (GSSG), se determinou a atividade da GSH-Px, expressa em U/mL.

4.12. Determinação da atividade da superóxido dismutase (SOD – EC 1.15.1.1)

A atividade da superóxido dismutase foi determinada pela técnica de Crouch et al. (1981), tendo como base a capacidade da enzima inibir a redução do nitroblue-tetrazólico (NBT) por radicais livres gerados pela hidroxilamina em meio alcalino (pH 10). A hidroxilamina gera fluxo de $\text{O}_2^{\bullet-}$ do NBT para blue-formazana em temperatura ambiente. Quando a amostra foi adicionada, a velocidade de redução do NBT foi

inibida, conforme a atividade da SOD na amostra. A atividade da enzima foi expressa em U/mg de proteínas totais.

5. Determinações bioquímicas hepáticas e cardíacas

5.1. Determinação da concentração de proteínas totais, atividade da alanina aminotransferase e da lactato desidrogenase

As amostras de 200 mg de tecidos hepático e cardíaco (ventrículo esquerdo) foram homogeneizadas em tampão fosfato de sódio (0,01 M) pH 7,0, e o homogeneizado centrifugado a $12\ 000 \times g$, durante 30 minutos a -4°C (PEREIRA et al., 1998). O sobrenadante foi utilizado para determinar a concentração das proteínas totais (g/100g de tecido), atividade da alanina aminotransferase (U/gPt), e da lactato desidrogenase (U/gPt) no tecido cardíaco, através dos mesmos métodos utilizados para as determinações séricas.

5.2. Determinação da concentração de triacilgliceróis

Para a determinação de triacilgliceróis, amostras do tecido hepático de aproximadamente 200 mg foram homogeneizadas em mistura de clorofórmio/metanol (2:1). O homogeneizado recebeu 4 mL de clorofórmio e 4 mL de água e foi filtrado, em seguida as amostras ficaram em repouso durante 24 horas. Após, o sobrenadante (fase aquosa) foi retirado com auxílio de uma micropipeta e em seguida, desprezado (BLIGH & DYER, 1996). Na fração restante, se determinou a concentração de triacilgliceróis (mg/g de tecido) através do método utilizado para determinação no soro.

5.3. Determinação da concentração glicogênio

Na determinação do glicogênio, amostras de 200 mg de tecido hepático e cardíaco foram homogeneizadas (3000 rpm por 10 minutos) com ácido perclórico (0,6

mol/l). Do sobrenadante se retirou uma alíquota (10 µL) para determinar a concentração de glicose inicial e outra de 10 µL, que recebeu amiloglicosidase juntamente com tampão acetato de sódio (0,05 M pH 4,5), e se determinou a concentração de glicose final. A concentração de glicogênio (mg/g de tecido) foi determinada pela diferença entre as concentrações de glicose final e inicial, segundo Roehrig & Allred (1974). A concentração de glicose foi determinada segundo Moura (1982).

6. Análise da prole

Após o procedimento de laparotomia, a prole foi separada e pesada. O peso corporal foi classificado em relação ao peso corporal do grupo controle, em 3 faixas (SAITO et al., 2010):

- ❖ AIP (peso adequado para a idade de prenhez): cujo peso corporal seja compreendido entre a média mais ou menos 1,7 de desvio padrão de média do grupo controle.
- ❖ PIP (pequenos para a idade de prenhez): cujo peso corporal seja inferior à média menos 1,7 de desvio padrão da média do grupo controle.
- ❖ GIP (grandes para a idade de prenhez): cujo peso corporal seja maior que a média mais 1,7 de desvio padrão da média do grupo controle.

7. Análise Bromatológica da ração

A análise bromatológica da ração (Purina Labina, Campinas-SP) foi realizada no Laboratório de Bromatologia - Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição/Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”/USP – Piracicaba/SP.

As análises químicas da composição de proteína, lipídios e carboidratos, bem como de energia metabolizável foram realizadas de acordo com a metodologia indicada pela Association of Official Analytical Chemists – AOAC (2006). Os valores obtidos

são expressos em kilocalorias (kcal) e gramas para proteína, lipídios e carboidratos, em 100 g de ração (Tabela 1).

Tabela 1. Composição centesimal média da ração.

Componentes	g/100 g	Kcal/100g
Proteína	1,14	4,56
Lipídios	3,77	33,93
Carboidratos	85,82	343,28

Valor energético = 381,77 kcal/100 g

8. Parâmetros nutricionais

Após o período gestacional determinou os parâmetros nutricionais considerando o consumo alimentar diário médio, quantidade de energia ingerida, as porcentagens de proteínas, lipídios e carboidratos e o ganho de peso corporal. Foram calculados de acordo com BURNEIKO et al. (2006) e EBAID et al. (2006):

- ❖ Energia Ingerida (EI; kcal/dia) = consumo médio de ração x energia metabolizável (kcal/g);
- ❖ Eficiência Alimentar (EA; g/kcal) = ganho de peso corporal (g)/energia ingerida;
- ❖ Consumo de proteínas (CP; g/dia) = consumo médio de ração x consumo de proteínas;
- ❖ Consumo de lipídios (CL; g/dia) = consumo médio de ração x consumo de lipídios;
- ❖ Consumo de carboidratos (CC; g/dia) = consumo médio de ração x consumo de carboidratos.

9. Forma de análise dos resultados – Procedimento estatístico

Para as variáveis bioquímicas e nutricionais estudadas foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado com 4 tratamentos e 8 repetições, segundo esquema da análise de variância (ANOVA):

C.V.	G.L.
Tratamentos	3
Resíduo	29
Total	32

O nível de significância adotado para as análises estatísticas foi de 5% de probabilidade e as estatísticas F foram significativas quando $p < 0.05$. Foi utilizado Teste de Tukey para a comparação entre as médias dos grupos (ZAR, 1996). Para a análise da classificação da prole foi utilizado o teste de Goodman, que permite a comparação de proporções entre os grupos (CURI & MORAES, 1981).

IV. RESULTADOS

Tabela 2. Resultados médios obtidos para o ganho de peso corporal, consumo alimentar, consumo de água, concentração sérica de glicose, para os diferentes grupos experimentais.

GRUPOS	Ganho de peso corporal (g)	Consumo alimentar (g/dia)	Consumo de água (mL/dia)	Glicose (mg/dL)
G1	127,11 ± 12,82 c	26,41 ± 3,05 a	43,04 ± 5,15 a	110,93 ± 21,58 a
G2	137,57 ± 15,77 c	29,08 ± 2,80 ab	45,98 ± 3,90 a	110,69 ± 9,80 a
G3	63,84 ± 27,07 a	50,85 ± 3,90 c	255,85 ± 40,02 c	309,2 ± 56,26 c
G4	88,83 ± 13,46 b	35,74 ± 7,90 b	121,85 ± 50,21 b	163,71 ± 41,00 b

Médias ± Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significantes entre os grupos ($p < 0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

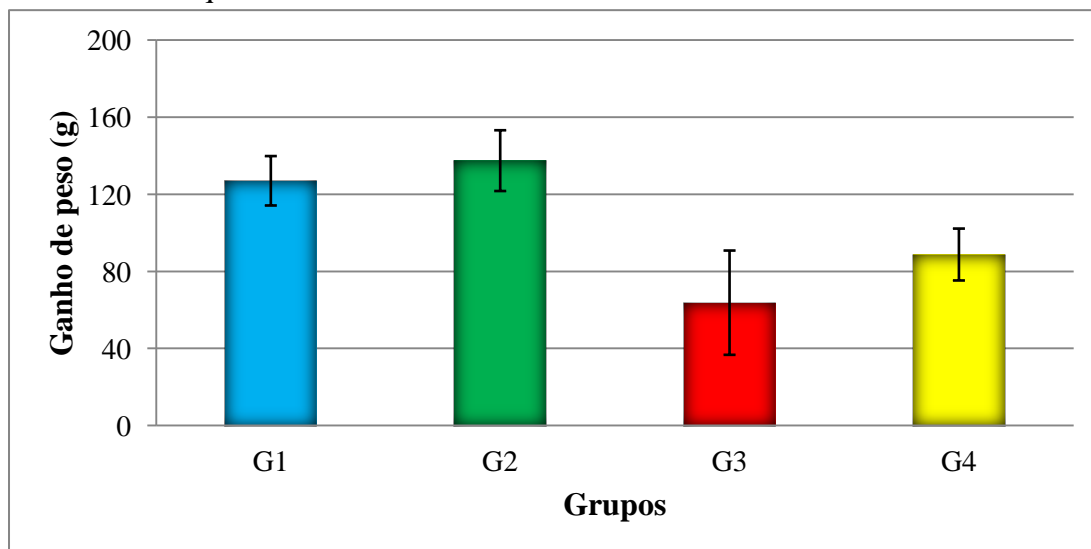


Figura 7. Resultados médios obtidos para o ganho de peso corporal (g) para os diferentes grupos experimentais.

Através da Tabela 2 e Figura 7 verifica-se que ratas prenhez diabéticas tratadas com quercetina (G4) apresentaram maior ($p < 0.05$) ganho de peso corporal em relação às ratas prenhez diabéticas não tratadas (G3). No entanto, esses valores demonstraram-se

diminuídos ($p < 0.05$) em relação aos obtidos pelos grupos controle (G1) e controle tratado (G2), os quais não diferiram entre si.

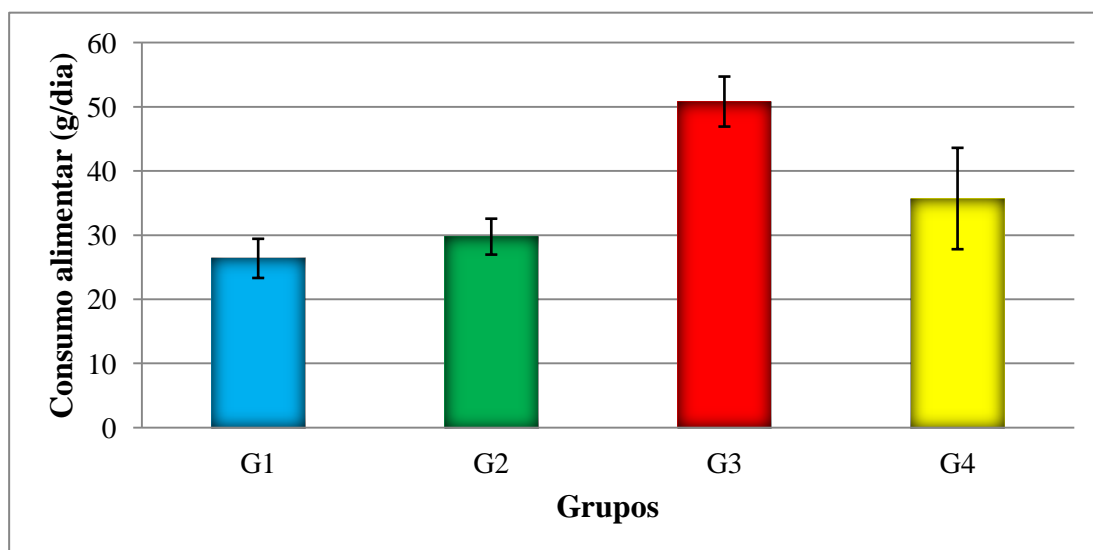


Figura 8. Resultados médios obtidos para o consumo alimentar (g/dia) para os diferentes grupos experimentais, na última semana analisada.

As ratas prenhez diabéticas (G3) apresentaram maior ($p < 0.05$) consumo alimentar, comparativamente aos demais grupos. A administração da quercetina reduziu ($p < 0.05$) a quantidade de ração ingerida em ratas prenhez diabéticas e apresentou valores próximos ao obtido pelas ratas prenhez não diabéticas que receberam apenas quercetina (G2), porém não demonstrou queda em relação ao grupo controle (G₁ - Tabela 2; Figura 8).

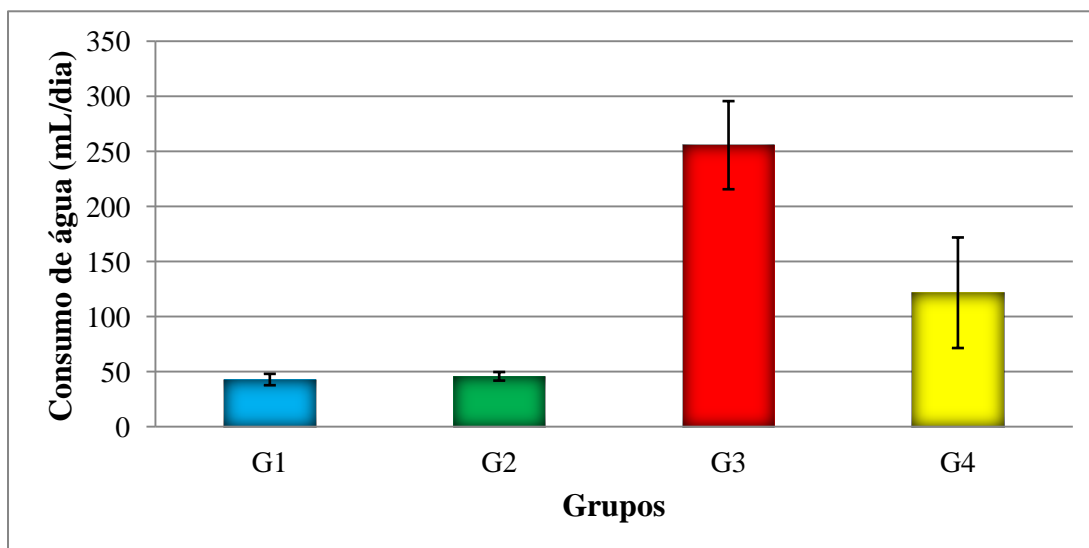


Figura 9. Resultados médios obtidos para o consumo de água (mL/dia) para os diferentes grupos experimentais, na última semana analisada.

Na Tabela 2 e Figura 9, pode-se observar que o consumo de água aumentou de forma significativa em ratas prenhez diabéticas não tratadas (G3). Embora o tratamento com a quercetina tenha diminuído ($p < 0.05$) a quantidade de água ingerida em animais diabéticos, não foi suficiente em reduzir à valores próximos aos obtidos para os animais dos grupos G1 e G2.

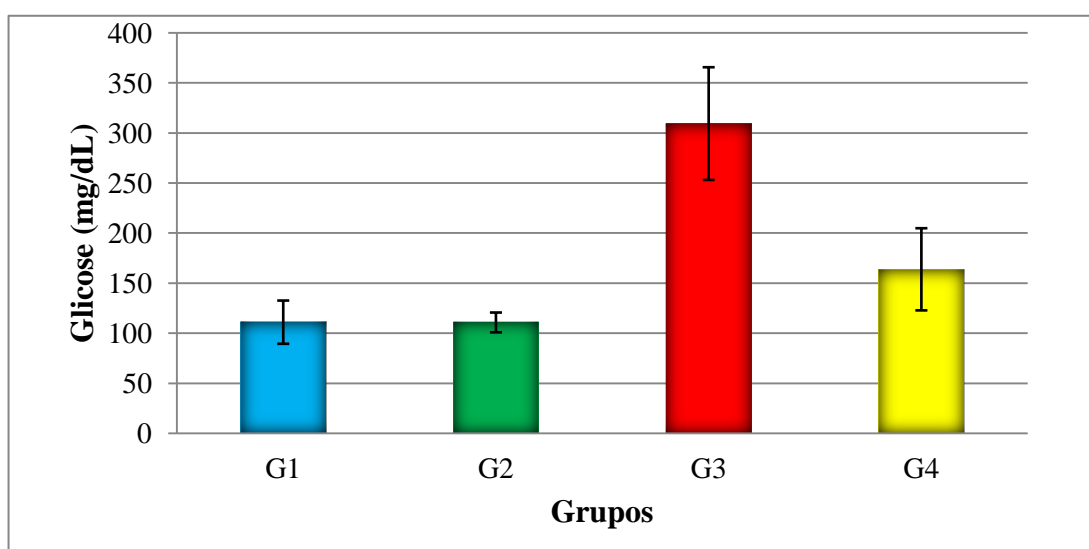


Figura 10. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de glicose (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

Ratas prenhez diabéticas (G3) apresentaram aumento ($p<0.05$) na concentração sérica de glicose, em relação aos demais grupos. No entanto, ao receberem quercetina (G4), demonstraram redução significativa ($p<0.05$) na glicemia, porém com valores superiores aos obtidos para G1 e G2 (Tabela 2; Figura 10).

Tabela 3. Resultados médios obtidos para Energia Ingerida (EI; kcal/dia), Eficiência Alimentar (EA; g/kcal), consumo de proteínas (CP; g/dia), lipídios (CL; g/dia) e carboidrato (CC; g/dia) nos diferentes grupos experimentais.

PARÂMETROS NUTRICIONAIS	GRUPOS			
	G1	G2	G3	G4
EI (kcal/dia)	100,62±11,62a	113,53±10,69ab	193,74±14,85c	136,16±30,12b
EA (g/kcal)	1,27±0,011a	1,22±0,14a	0,32±0,012b	0,69±0,20c
CP (g/dia)	0,30±0,03a	0,34±0,03ab	0,58±0,04c	0,41±0,09b
CL (g/dia)	1,00±0,12a	1,12±0,10ab	1,92±0,35c	1,35±0,29b
CC (g/dia)	22,66±2,62a	25,57±2,40ab	43,64±3,51c	30,67±6,78b

Médias \pm Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significantes entre os grupos ($p<0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

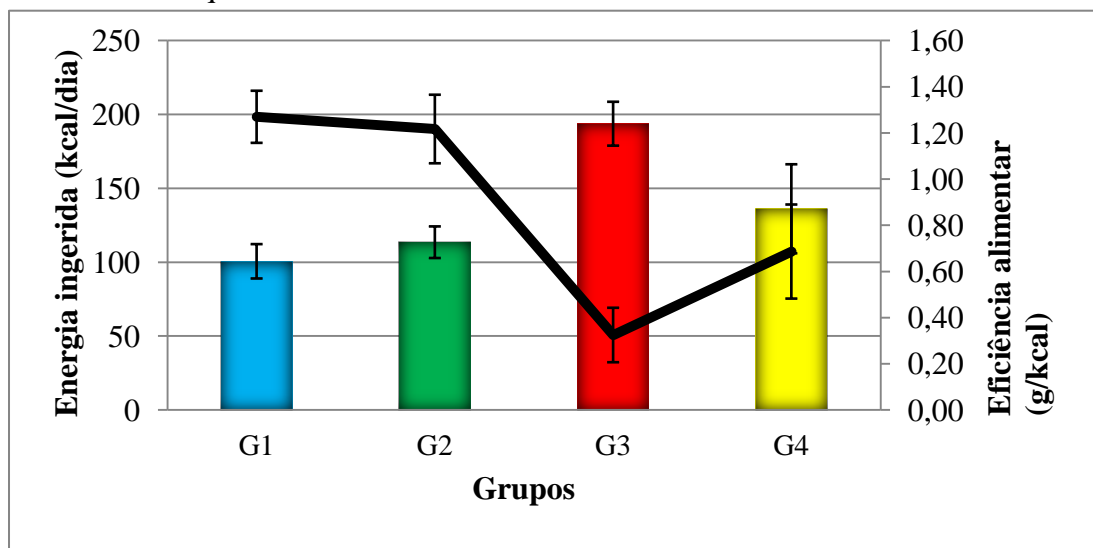


Figura 11. Resultados médios obtidos para a energia ingerida (kcal/dia) e eficiência alimentar (g/kcal) para os diferentes grupos experimentais.

Os resultados obtidos para os parâmetros nutricionais estão expostos na Tabela 3. A energia ingerida apresentou elevação ($p < 0.05$), enquanto a eficiência alimentar foi menor nas ratas prenhez diabéticas não tratadas (G3). Resultados opostos se observa com a administração de quercetina nos animais diabéticos (G4). Não foram observadas alterações significantes nestes parâmetros entre G1 e G2 (Figura 11).

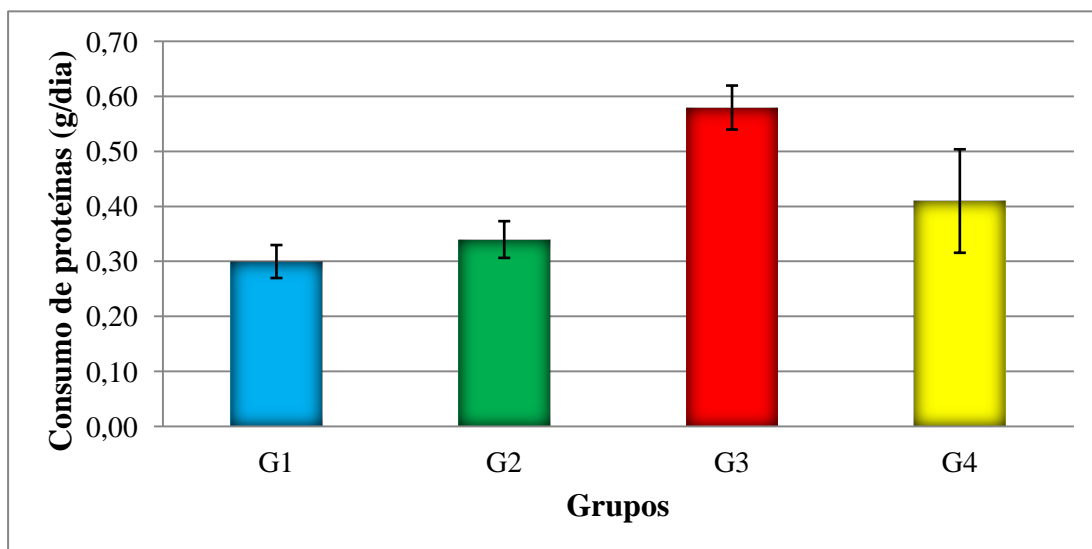


Figura 12. Resultados médios obtidos para o consumo de proteínas (g/dia), para os diferentes grupos experimentais.

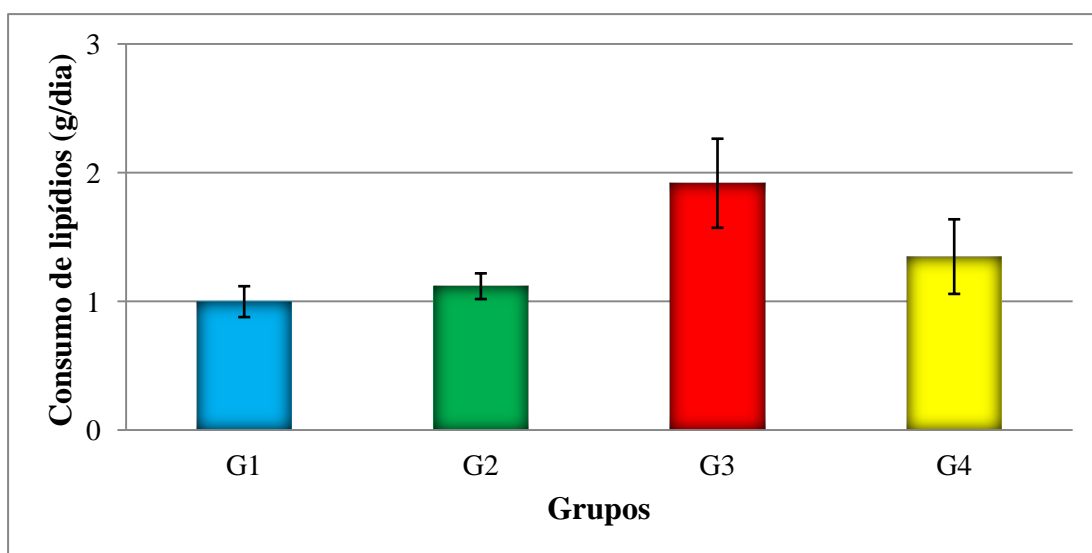


Figura 13. Resultados médios obtidos para o consumo de lipídios (g/dia), para os diferentes grupos experimentais.

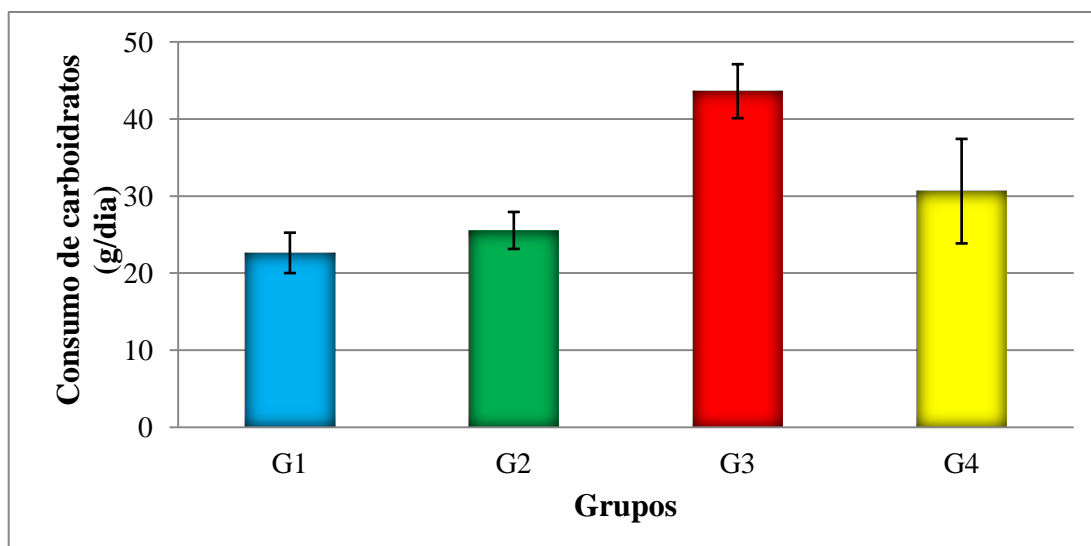


Figura 14. Resultados médios obtidos para o consumo de carboidratos (g/dia), para os diferentes grupos experimentais.

As ratas diabéticas sem tratamento (G3), apresentaram valores superiores ($p < 0.05$) para consumo de proteínas, carboidratos e lipídios, quando comparados aos demais grupos. Ao passo que animais pertencentes a G4, apresentaram diminuição nestes parâmetros, os quais atingiram valores próximos aos observados ($p > 0.05$) para o grupo controle G2 (Tabela 3; Figura 12,13 e 14).

Tabela 4. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de colesterol total, LDL- colesterol, VLDL-colesterol, triacilgliceróis e HDL-colesterol, para os diferentes grupos experimentais.

GRUPOS	Colesterol total (mg/dL)	Triacil-gliceróis (mg/dL)	LDL-colesterol (mg/dL)	VLDL-colesterol (mg/dL)	HDL-colesterol (mg/dL)
G1	100,56±11,32a	129,54±10,23a	36,93±9,49a	25,98±1,98a	37,64±7,50a
G2	118,08±27,82a	133,21±20,12a	41,32±9,98a	26,64±4,02a	38,02±6,21a
G3	227,82±30,43b	217,44±16,33c	145,31±29,69b	42,5±1,96b	34,79±6,03a
G4	132,02±32,93a	191,29±19,69b	40,66±17,24a	38,25±3,93b	35,91±13,90a

Médias ± Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significantes entre os grupos ($p < 0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

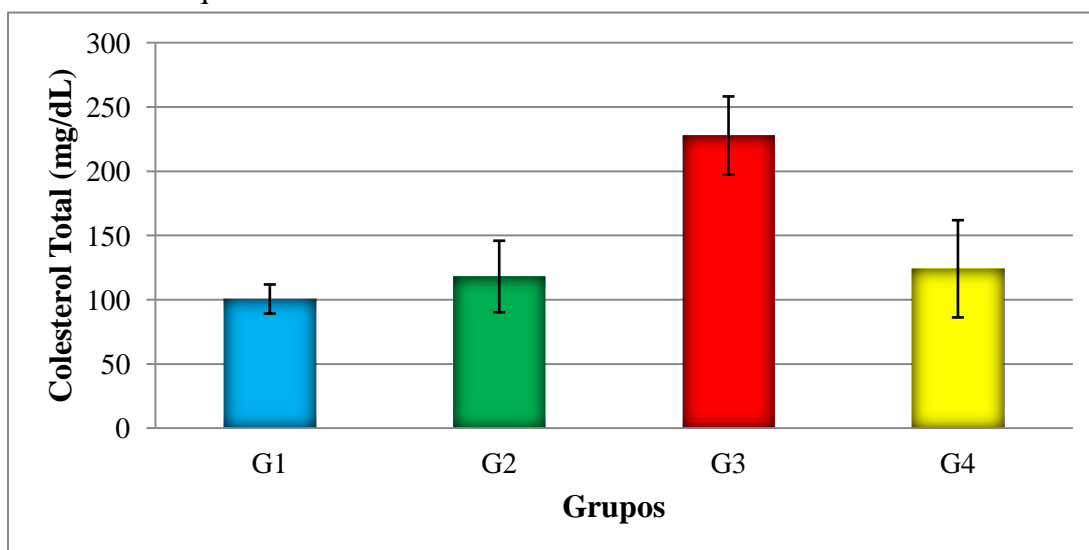


Figura 15. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de colesterol total (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

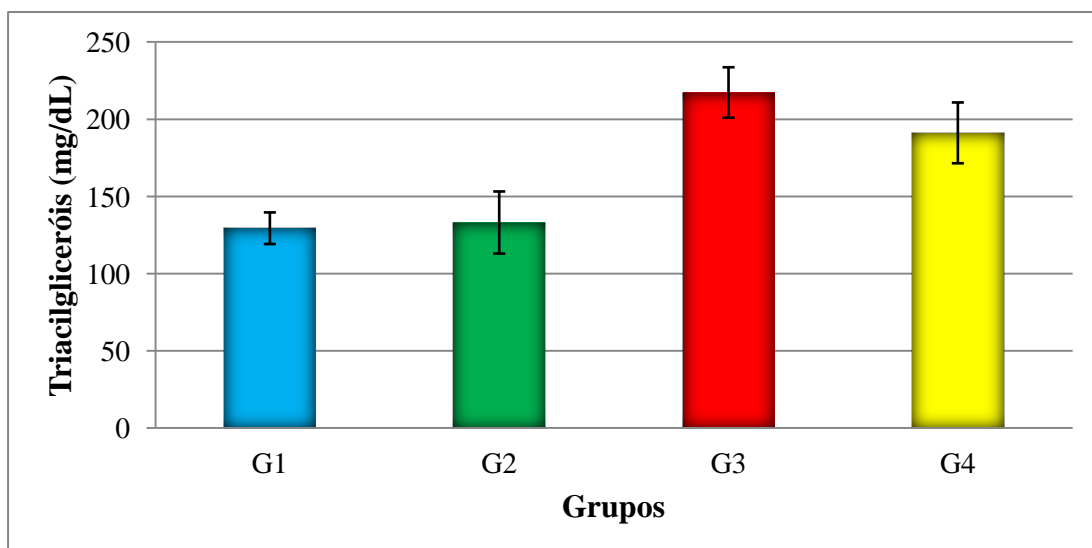


Figura 16. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de triacilgliceróis (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

A Tabela 4 apresenta os resultados obtidos para o perfil lipídico sérico nos grupos experimentais. Ratas diabéticas não tratadas (G3) apresentaram maior ($p < 0.05$) concentração sérica de colesterol total e de triacilgliceróis, enquanto que o tratamento com quercetina reduziu ($p < 0.05$) em animais diabéticos (G4) (Figura 15 e 16).

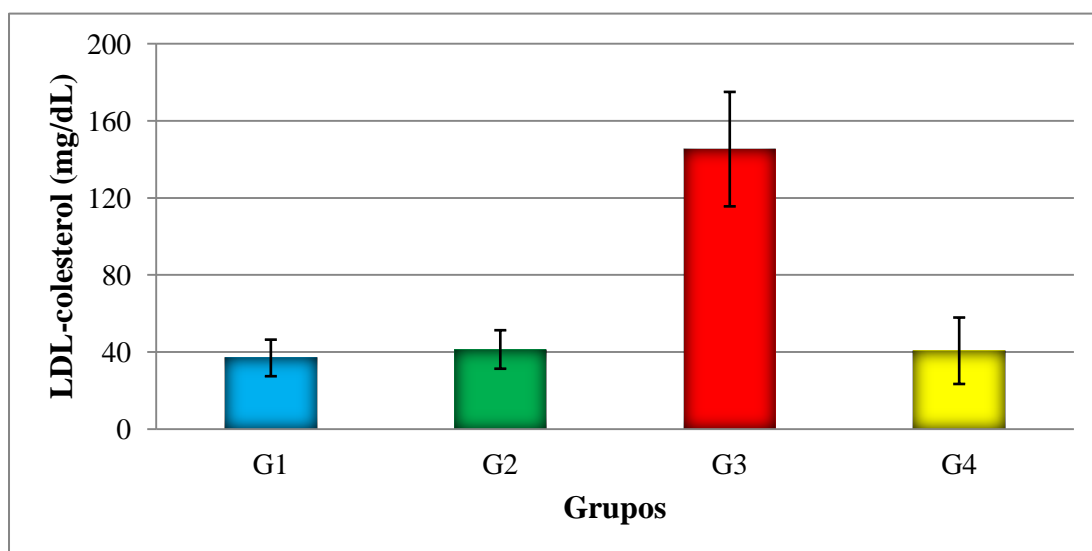


Figura 17. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de LDL-colesterol (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

A administração da quercetina em animais diabéticos (G4) apresentou queda ($p < 0.05$) nos níveis de LDL-colesterol, com valores similares aos dos grupos G1 e G2 (Tabela 4; Figura 17).

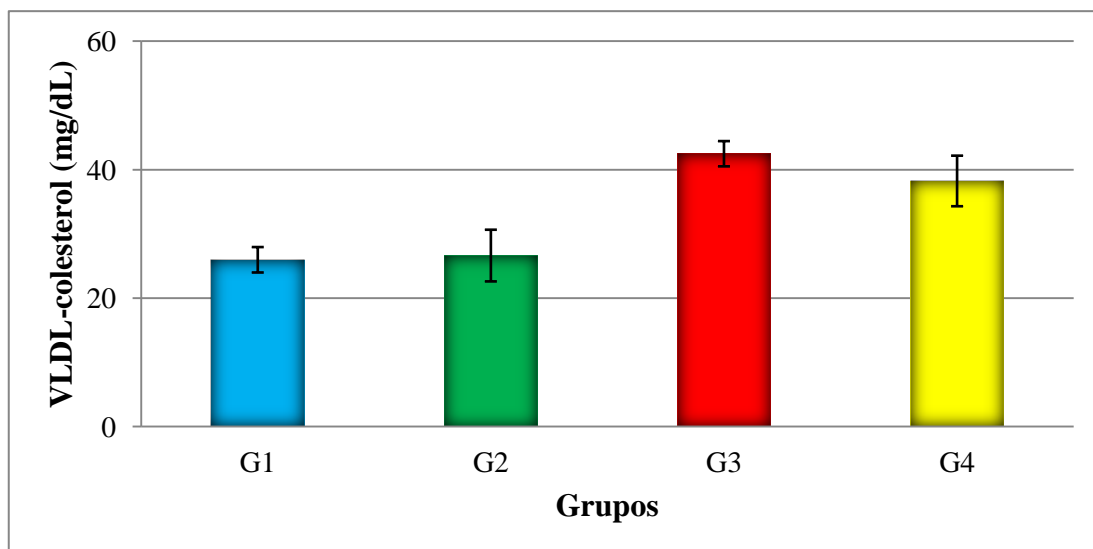


Figura 18. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de VLDL-colesterol (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

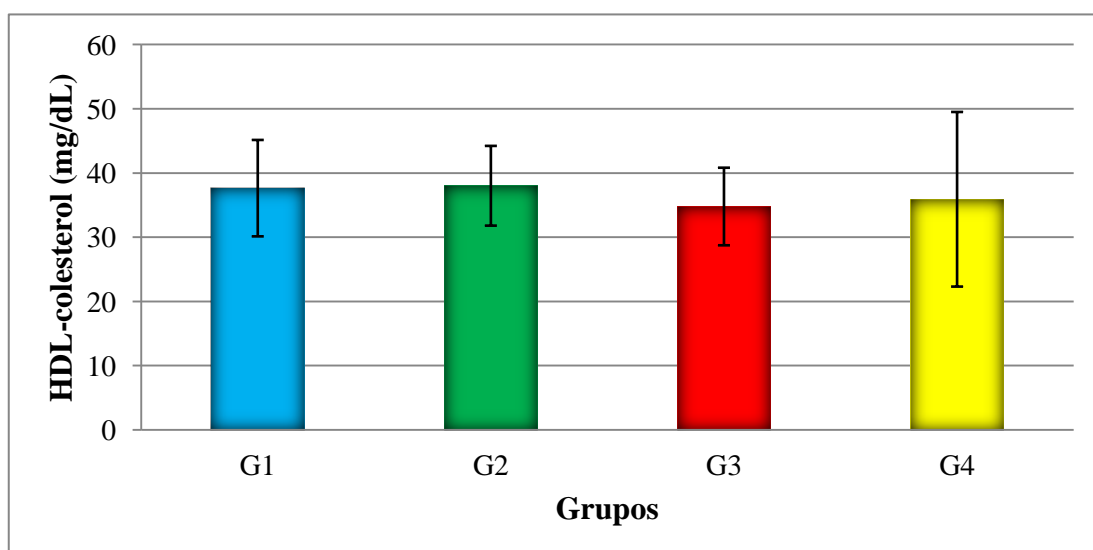


Figura 19. Resultados médios obtidos para níveis séricos de HDL-colesterol (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

Não foram observadas alterações significantes na concentração de VLDL-colesterol entre G3 e G4, os quais apresentaram valores superiores em relação aos demais grupos. Quanto à concentração sérica de HDL-colesterol, não houve diferenças ($p > 0.05$) entre os grupos experimentais (Tabela 4; Figura 18 e 19).

Tabela 5. Resultados médios obtidos para a atividade da alanina aminotransferase (ALT) sérica e hepática, e da lactato desidrogenase (LDH) sérica e cardíaca, para os diferentes grupos experimentais.

GRUPOS	SORO		FÍGADO	CORAÇÃO
	ALT (U/L)	LDH (U/L)	ALT (U/gPt)	LDH (U/gPt)
G1	68,35±15,31a	97,80±17,85a	84,40±20,29a	101,77±29,73a
G2	79,88± 7,09a	98,38±12,32a	123,69±12,41b	102,93±28,41a
G3	207,87±20,20c	188,84±26,59b	152,01± 26,24c	149,79±18,20b
G4	151,62±36,04b	90,36±19,08a	106,77±22,38b	95,35±20,81a

Médias ± Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significantes entre os grupos ($p < 0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

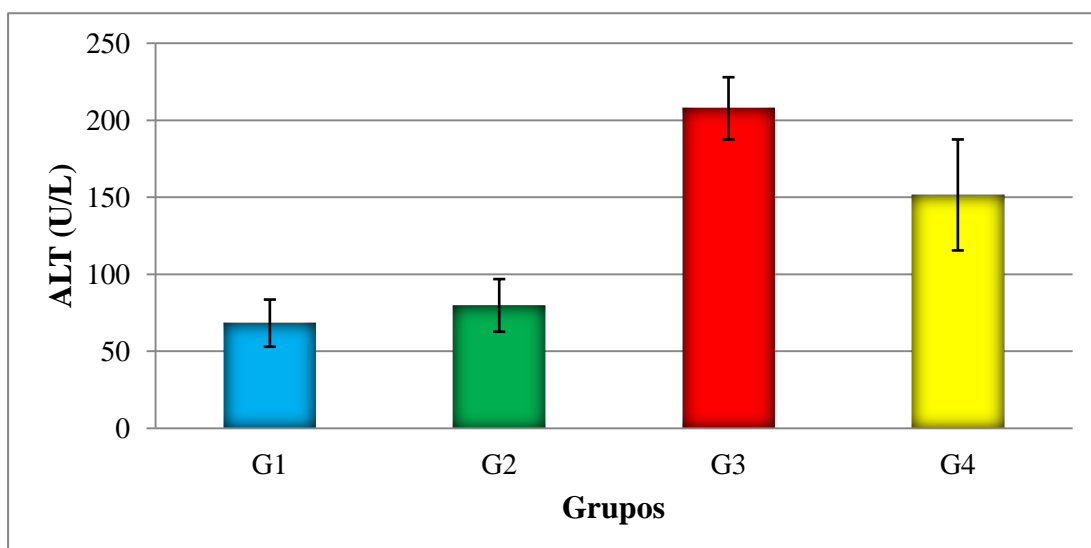


Figura 20. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de alanina aminotransferase (U/L), para os diferentes grupos experimentais.

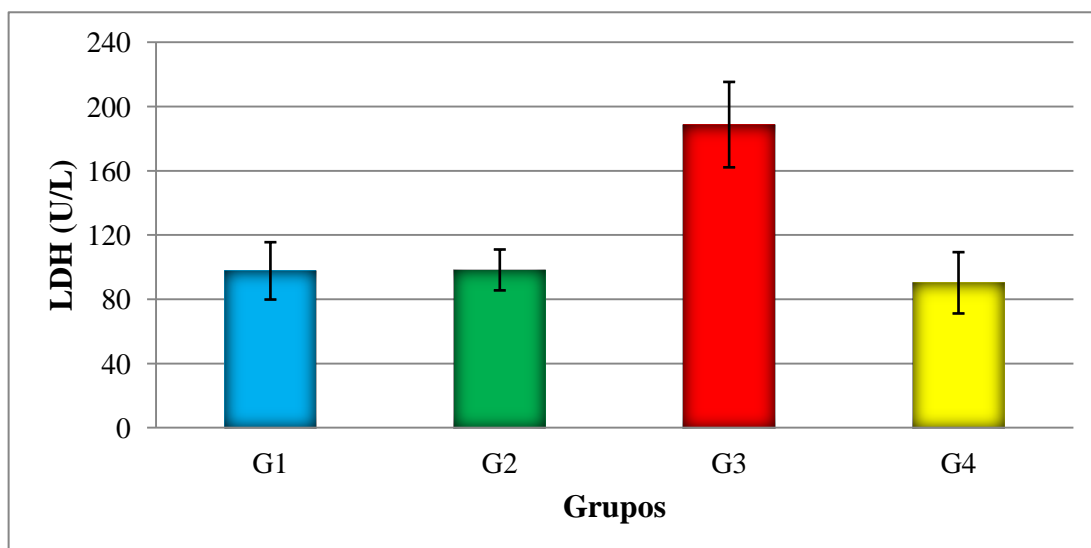


Figura 21. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de lactato desidrogenase (U/L), para os diferentes grupos experimentais.

A atividade sérica de alanina aminotransferase (ALT) e de lactato desidrogenase (LDH) aumentou de forma significativa em ratas prenhez diabéticas (G3), comparativamente aos demais grupos, ao passo que as ratas diabéticas ao receberem quercetina demonstraram redução ($p < 0.05$) na atividade sérica tanto de ALT quanto de LDH, sendo que os valores obtidos para a LDH não diferiram ($p > 0.05$) entre os grupos G1 e G2 (Tabela 5; Figuras 20 e 21).

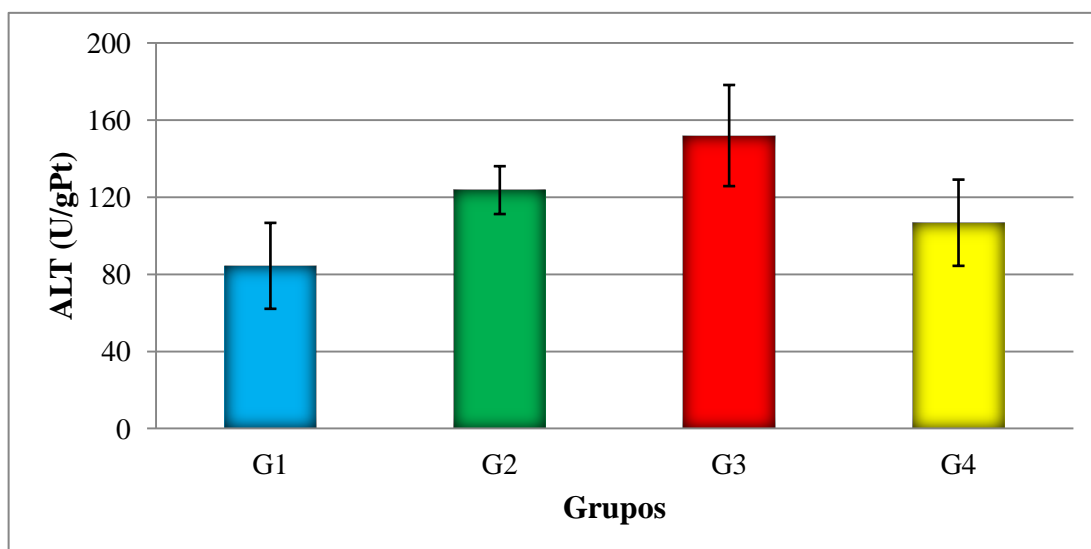


Figura 22. Resultados médios obtidos para a atividade hepática de alanina aminotransferase (U/gPt), para os diferentes grupos experimentais.

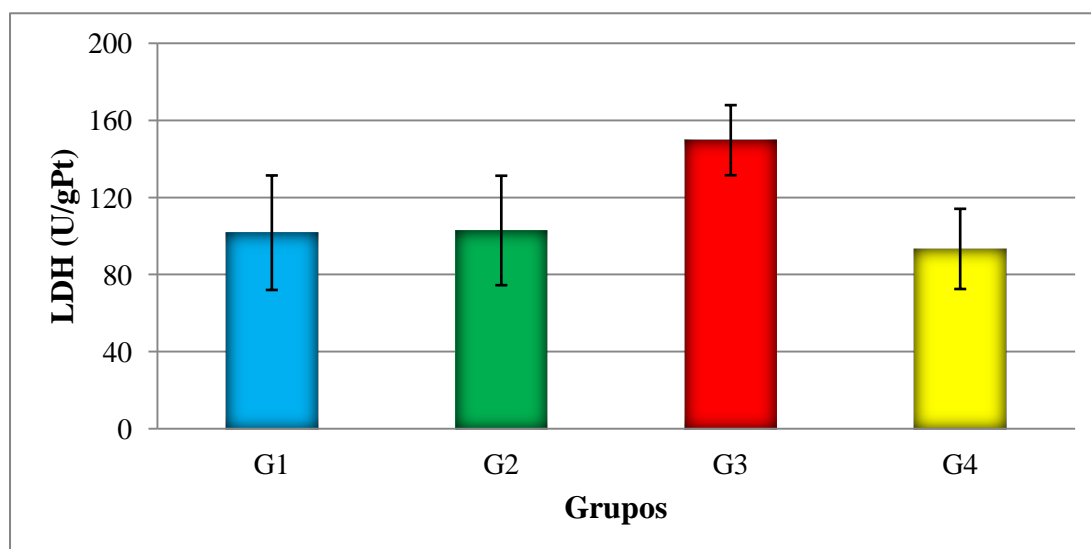


Figura 23. Resultados médios obtidos para a atividade cardíaca de lactato desidrogenase (U/gPt), para os diferentes grupos experimentais.

A atividade hepática de ALT foi maior ($p < 0.05$) nas ratas diabéticas (G3) e aquelas diabéticas tratadas com quercetina, mas não diferiram de G2 (Tabela 5, Figura 22). O tratamento com a quercetina em animais submetidos à estreptozotocina reduziu ($p < 0.05$) a atividade de LDH no tecido cardíaco, comparativamente àquelas diabéticas não tratadas, porém não diferiu dos grupos G1 e G2 (Tabela 5; Figura 23).

Tabela 6. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de uréia e creatinina, para os diferentes grupos experimentais.

GRUPOS	Uréia (mg/dL)	Creatinina (mg/dL)
G1	58,54±6,55a	0,99±0,29a
G2	56,67±10,49a	1,10±0,13ab
G3	126,58±19,75b	2,67±0,29c
G4	69,54±8,14a	1,47±0,38b

Médias ± Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significantes entre os grupos ($p < 0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

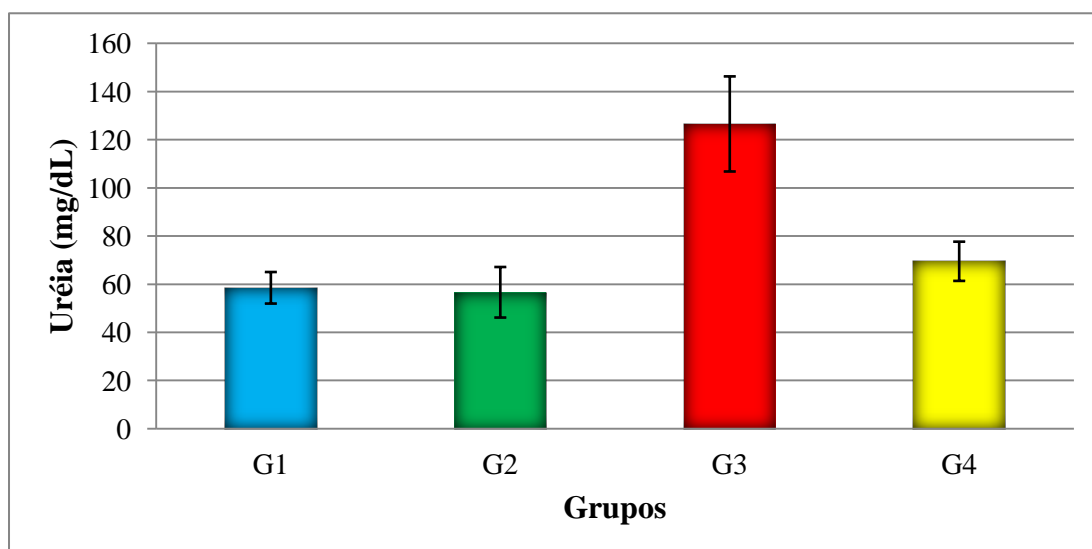


Figura 24. Resultados médios obtidos para níveis séricos de uréia (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

A concentração sérica de uréia apresentou-se aumentada ($p < 0.05$) em ratas diabéticas não tratadas (G3); enquanto àquelas expostas a estreptozotocina que receberam quercetina (G4) apresentaram diminuição no nível sérico de uréia, o qual não diferiu estatisticamente dos grupos G1 e G2 (Tabela 6; Figura 24).

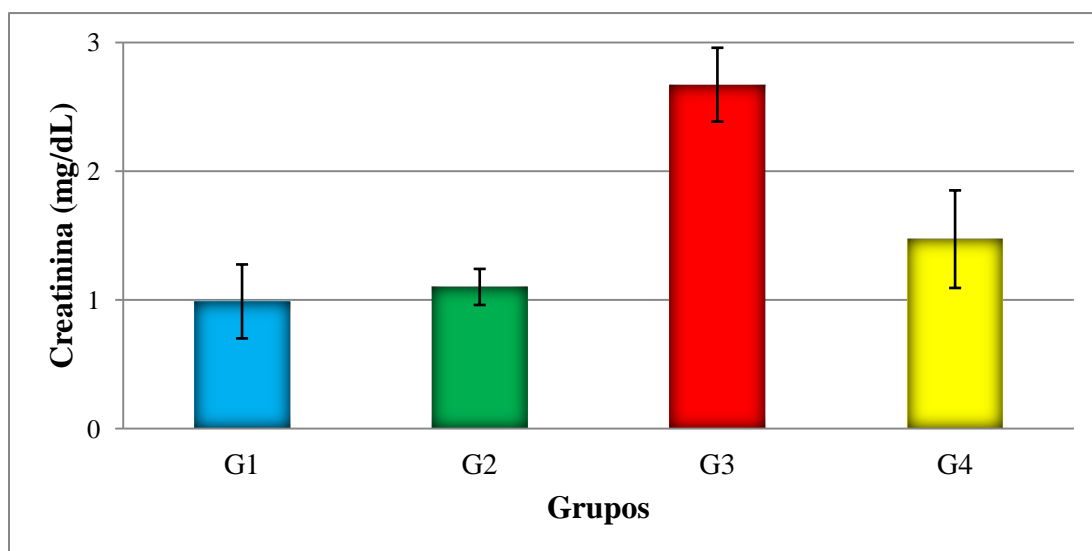


Figura 25. Resultados médios obtidos para níveis séricos de creatinina (mg/dL), para os diferentes grupos experimentais.

Em relação à concentração sérica de creatinina, o tratamento com a quercetina em animais submetidos ao diabetes experimental (G4) provocou queda significativa neste parâmetro, mas não atingiu valores próximos aqueles obtidos para o grupo

controle (G₁). Por outro lado, não foi possível verificar variações significantes entre os grupos G2 e G4 (Tabela 6; Figura 25).

Tabela 7. Resultados médios obtidos para a concentração de glicogênio hepático e cardíaco, de triacilglicerol hepático e de proteínas totais hepáticas e cardíacas, para os diferentes grupos experimentais.

GRUPOS	FÍGADO			CORAÇÃO	
	Glicogênio (mg/g)	Triacilgli- ceróis (mg/g)	Proteínas totais (g/100g)	Glicogênio (mg/g)	Proteínas totais (g/100g)
G1	59,84±5,28b	18,77±3,23a	34,85±5,02b	47,37±3,65b	18,23±3,60b
G2	53,24±6,64b	20,57±5,64a	34,68±4,18b	40,69±7,20b	19,06±2,51b
G3	35,98±6,03a	22,34±4,57a	27,74±3,73a	33,35±3,26a	14,46±1,33a
G4	51,47±7,24b	17,61±6,19a	36,59±6,49b	43,34±5,25b	17,79±1,05b

Médias ± Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significantes entre os grupos ($p < 0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

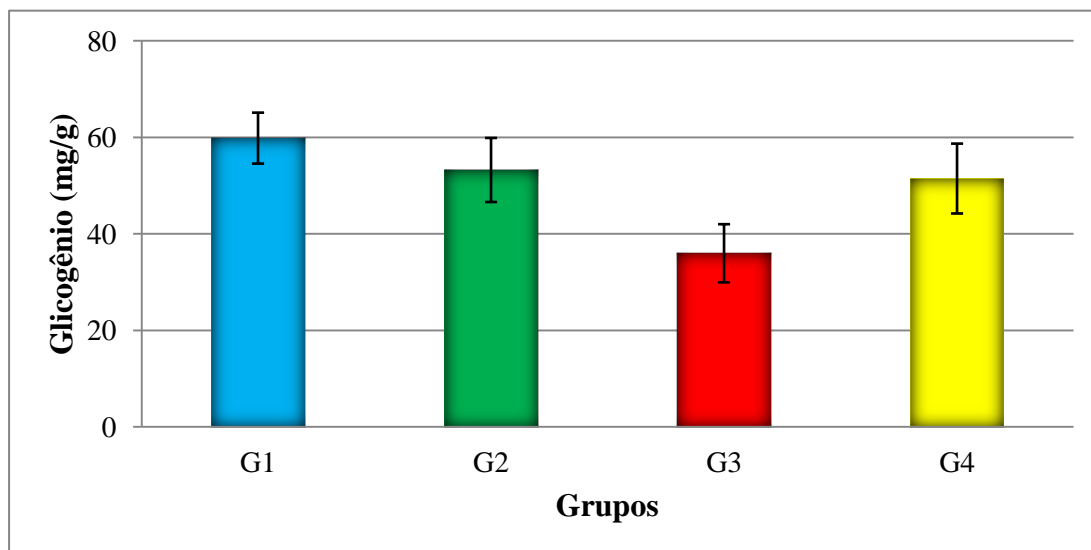


Figura 26. Resultados médios obtidos para a concentração hepática de glicogênio (mg/g), para os diferentes grupos experimentais.

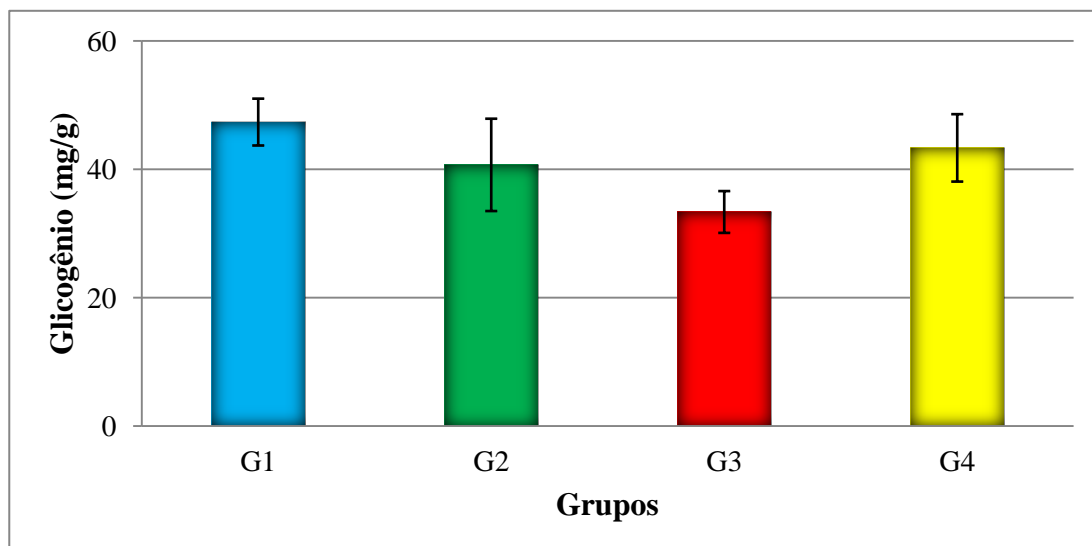


Figura 27. Resultados médios obtidos para a concentração cardíaca de glicogênio (mg/g), para os diferentes grupos experimentais.

O tratamento com a quercetina em ratas prenhez diabéticas foi eficiente em aumentar, de forma significativa ($p < 0.05$) os níveis hepáticos e cardíacos de glicogênio, permanecendo com valores próximos aos obtidos para os grupos controles ($G_1 = G_2 = G_4$). Por outro lado, a concentração de glicogênio em animais diabéticos (G_3), apresentou-se diminuída ($p < 0.05$) tanto no fígado como no coração, em relação aos demais grupos, os quais não diferiram entre si (Tabela 7; Figuras 26 e 27).

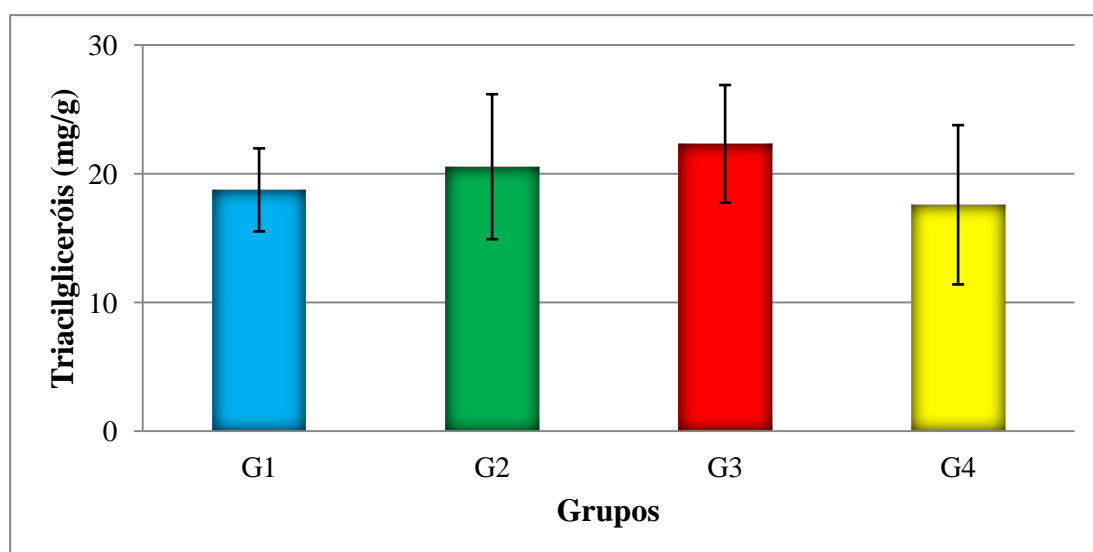


Figura 28. Resultados médios obtidos para a concentração hepática triacilgliceróis (mg/g), para os diferentes grupos experimentais.

De acordo com a Tabela 7 e a Figura 28, verifica-se que a concentração de triacilgliceróis no tecido hepático não apresentou alterações significantes entre os grupos ($p>0.05$; $G1=G2=G3=G4$).

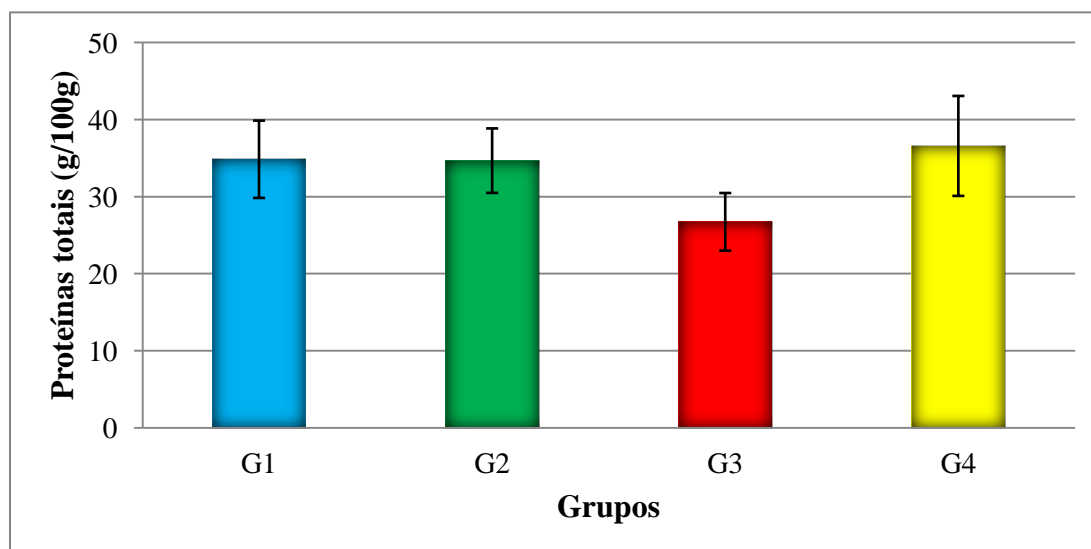


Figura 29. Resultados médios obtidos para a concentração hepática de proteínas totais (g/100g), para os diferentes grupos experimentais.

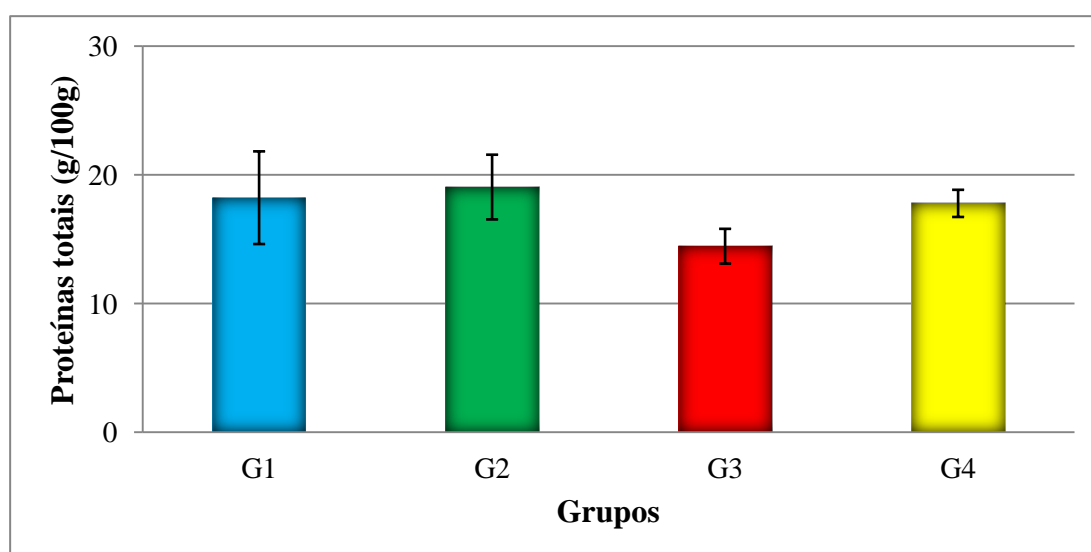


Figura 30. Resultados médios obtidos para a concentração cardíaca de proteínas totais (g/100g), para os diferentes grupos experimentais.

A concentração de proteínas tanto no tecido hepático como no tecido cardíaco de animais não tratados (G3) apresentou-se diminuída ($p<0.05$) em relação aos demais animais. Enquanto que os animais diabéticos tratados com a quercetina (G4)

demonstraram aumento significativo no conteúdo de proteínas hepáticas e cardíacas. Sendo que estes valores não diferiram ($p > 0.05$) de G1 e G2 (Tabela 7; Figura 29 e 30).

Tabela 8. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de proteínas totais, hidroperóxido de lipídio (HP), atividade sérica da glutathiona peroxidase (GSH-Px) e da superóxido dismutase (SOD), para os diferentes grupos experimentais.

GRUPOS	Proteínas totais (g/dL)	Hidroperóxido de lipídio (nmol/mL)	Gutathiona peroxidase (U/mL)	Superóxido dismutase (U/mgPt)
G1	9,85±1,50c	6,36±1,01a	127,03±9,52c	12,73±2,39a
G2	9,33±0,87c	7,10±0,91ab	120,36±9,88c	11,5±2,53a
G3	5,02±0,72a	9,84±0,78c	80,21±3,32a	9,94±2,61a
G4	6,62±1,02b	7,99±0,88b	111,66±3,32b	12,35±2,58a

Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0.05$). Médias \pm Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

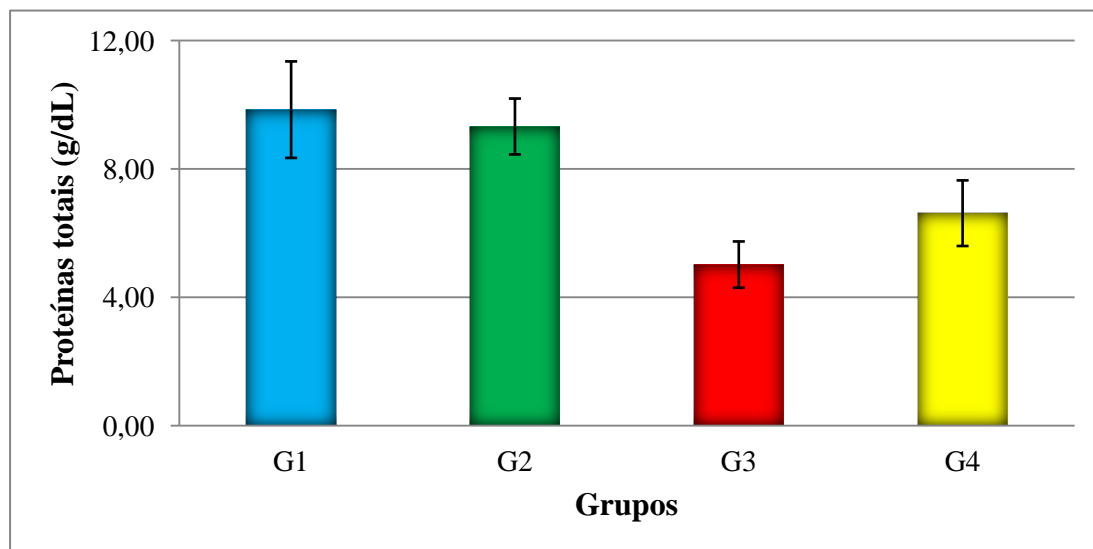


Figura 31. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de proteínas totais (g/dL), para os diferentes grupos experimentais.

Os resultados obtidos para os níveis de proteínas totais séricas indicam diminuição ($p < 0.05$) para as ratas diabéticas que não receberam o tratamento (G3), ao

passo que a administração da quercetina aumentou ($p < 0.05$), porém mesmo com a elevação, os valores foram menores ($p < 0.05$) àqueles obtidos para G1 e G2 (Tabela 8; Figura 31).

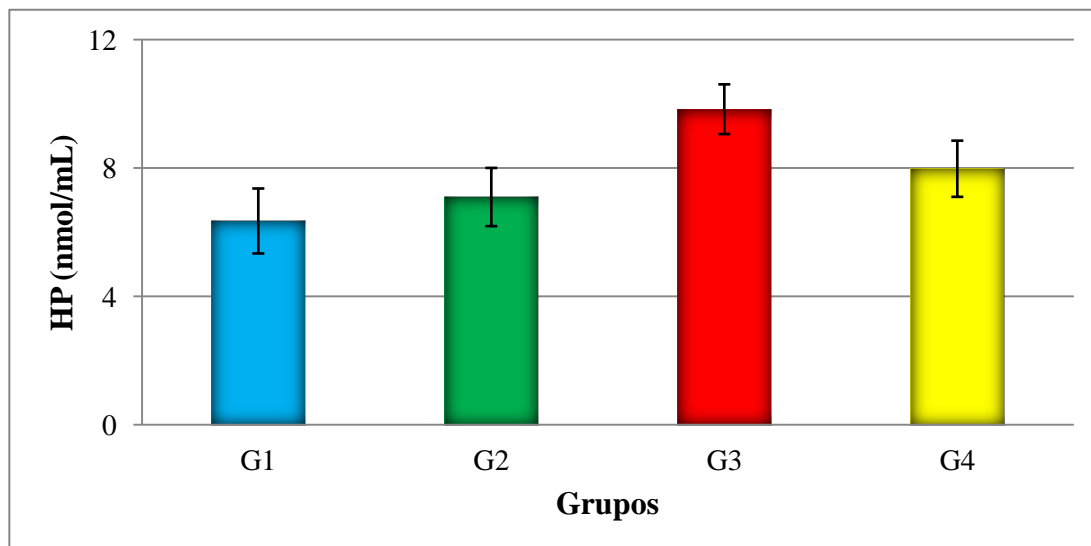


Figura 32. Resultados médios obtidos para a concentração sérica de hidroperóxido de lipídios (nmol/mL), para os diferentes grupos experimentais.

A Tabela 8 demonstra os parâmetros do estresse oxidativo entre os diferentes grupos. As concentrações séricas de hidroperóxido de lipídios estiveram elevadas ($p < 0.05$) em animais expostos a estreptozotocina (G3), em relação aos demais grupos. A suplementação com a quercetina, no entanto, diminuiu ($p < 0.05$) a geração de hidroperóxido de lipídios em ratas diabéticas (G4 – Figura 32).

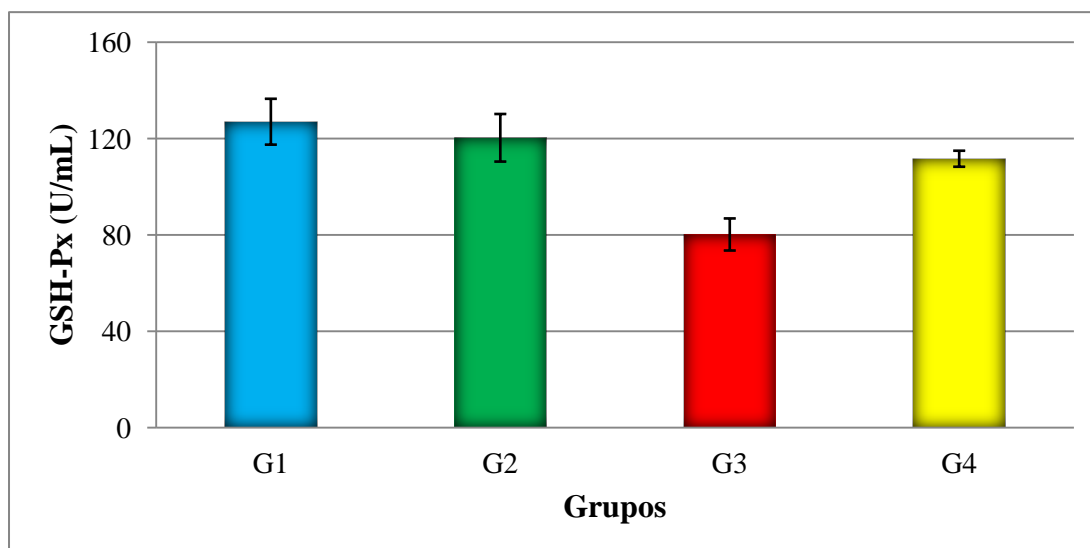


Figura 33. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de glutathiona peroxidase (U/mL), para os diferentes grupos experimentais.

A atividade sérica de glutathiona peroxidase mostrou-se diminuída no grupo diabético não tratado (G3), diferindo dos demais grupos (G1, G2 e G4). No entanto, ratas diabéticas tratadas (G4) apresentaram elevação na atividade de glutathiona peroxidase, porém sem atingir resultados próximos ($p < 0.05$) aos obtidos pelos animais do grupo controle (Figura 33).

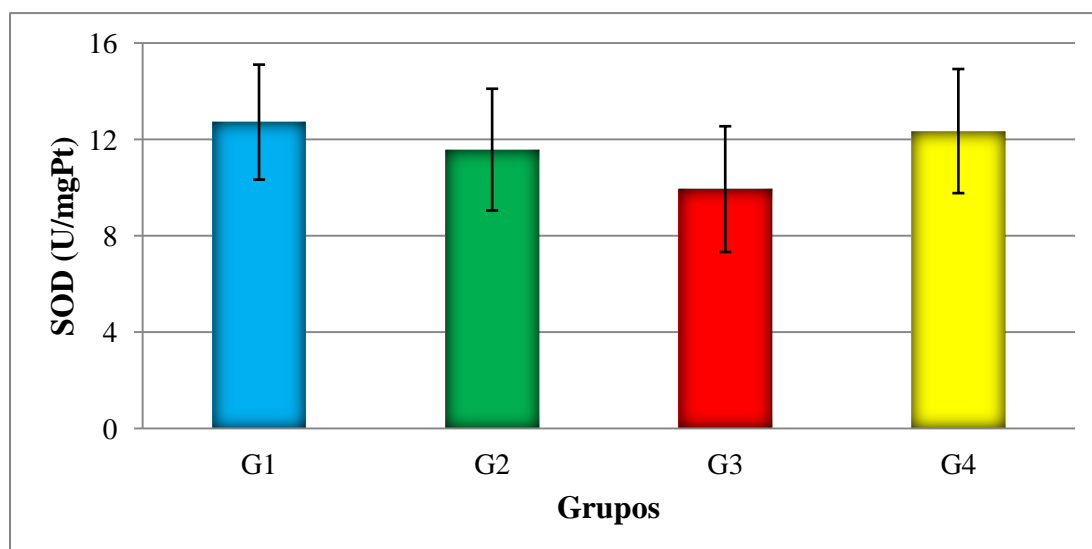


Figura 34. Resultados médios obtidos para a atividade sérica de superóxido dismutase (U/mgPt), para os diferentes grupos experimentais.

Quanto a atividade sérica da superóxido dismutase, observa-se que não houve diferenças significantes ($p > 0.05$) entre os grupos, podendo inferir que a quercetina não alterou a atividade desta enzima antioxidante (Figura 34).

Tabela 9. Resultados médios obtidos para a o peso da prole e porcentagem de fetos pequenos (PIP), adequados (AIP) e grandes (GIP) para a idade de prenhez, para os diferentes grupos experimentais.

GRUPOS	PESO (g)	AIP	PIP	GIP
		% (n ⁰)	% (n ⁰)	% (n ⁰)
G1	4,16 ± 0,81b	98,9 (88) b	1,1 (1) a	0,0 (0) a
G2	4,47 ± 0,64b	97,9 (92) b	0,0 (0) a	2,1 (2) a
G3	2,85 ± 0,99 a	64,3 (45) a	35,7 (25) b	0,0 (0) a
G4	2,87 ± 0,64 a	65,8 (52) a	34,2 (27) b	0,0 (0) a

Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0.05$). Médias ± Desvios Padrão. Médias seguidas de letras distintas indicam diferenças significativas entre os grupos ($p < 0.05$). G1= controle; G2= quercetina; G3= diabéticas; G4= diabéticas + quercetina.

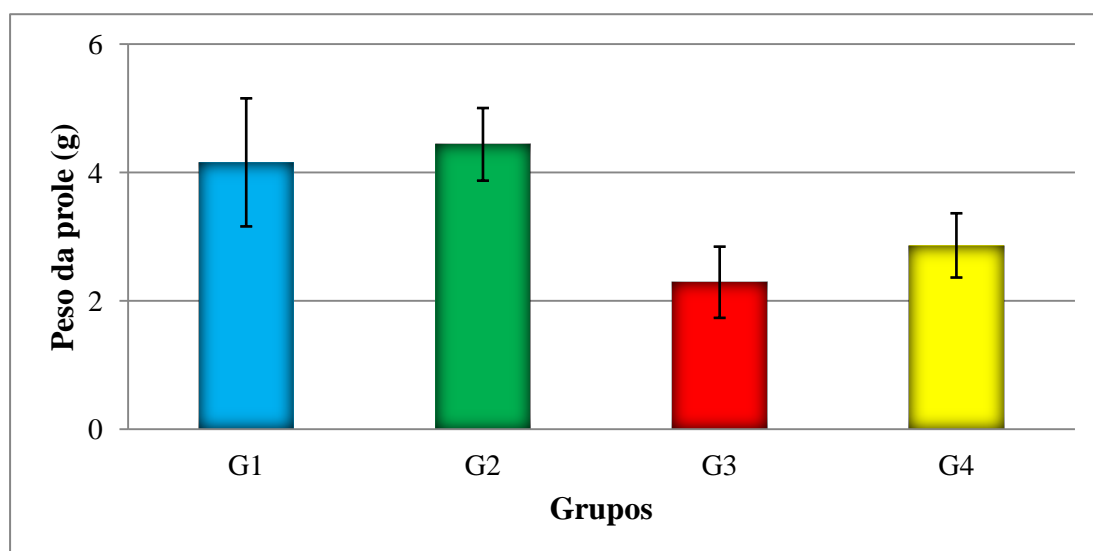


Figura 35. Resultados médios obtidos para o peso da prole (g), para os diferentes grupos experimentais.

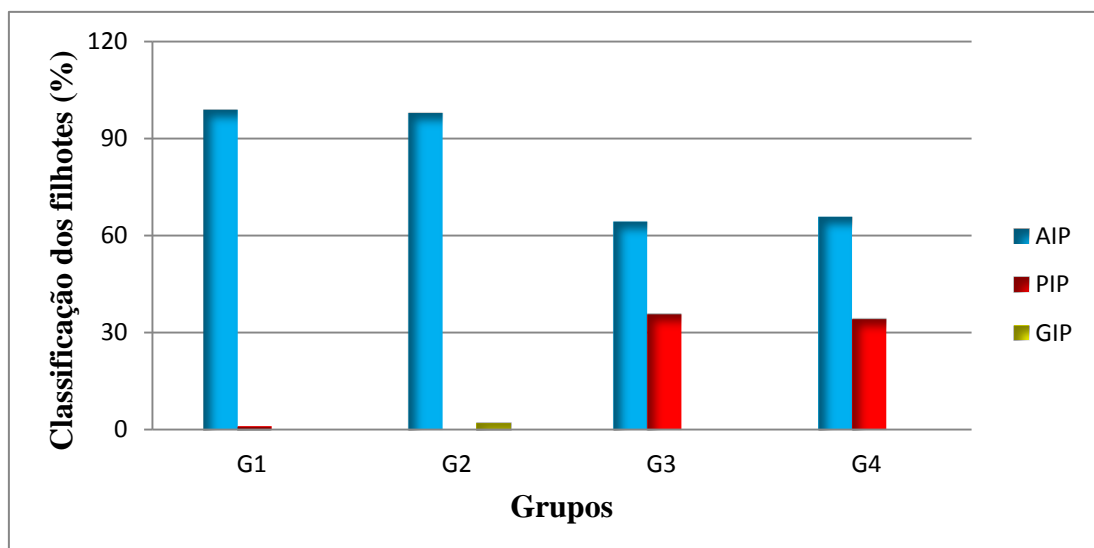


Figura 36. Resultados obtidos para porcentagem de fetos pequenos (PIP), adequados (AIP) e grandes (GIP) para a idade de prenhez, para os diferentes grupos experimentais.

Analisando a Tabela 9 e a Figura 35 verifica-se que a prole de mães diabéticas (G3 e G4), apresentou diminuição no peso corporal ($p < 0.05$), bem como maiores porcentagens de filhotes ($p < 0.05$) classificados como pequenos para a idade de prenhez (PIP), comparativamente a prole dos pertencentes aos grupos G1 e G2 (Figura 36).

V. DISCUSSÃO

A gestação induz alterações metabólicas e fisiológicas no organismo materno no sentido de garantir o desenvolvimento normal do fetal. O metabolismo adapta-se para fornecer nutrição e oxigenação adequadas à unidade fetoplacentária em desenvolvimento. Desde que a adaptação hormonal na gravidez apresenta características diabetogênicas, naquelas portadoras de diabetes pré-gestacional, tais características tornam-se ainda mais complexas e diversificadas (BRAGA, 2002).

Após a injeção de estreptozotocina (STZ) ratas prenhez diabéticas não tratadas (G3) desenvolveram sintomas clássicos de diabetes mellitus insulino dependente (tipo 1), ou seja, maior ingestão hídrica (polidipsia), aumento de consumo alimentar (polifagia) e hiperglicemia. Resultados semelhantes foram observados por Volpato et al. (1999), Vessal et al. (2003), Spadotto (2007) e Sinzato (2009), indicando a ação diabetogênica da estreptozotocina.

A utilização da estreptozotocina constitui um modelo para induzir diabetes mellitus insulino dependente (tipo 1) em animais experimentais, pois atua seletivamente sobre as células β -pancreáticas (KIRSTEN et al., 2010) que contém transportadores de glicose GLUT-2 (ELSNER et al., 2000), destruindo-as. Alguns mecanismos são propostos para explicar a citotoxicidade produzida pela STZ. A alcalinização do DNA celular e subsequente ativação da poli-ADP ribose sintetase causam depleção de NAD^+ nas células pancreáticas, com subsequente redução no nível de ATP e posterior inibição da síntese e secreção da insulina (BENNETT & PEGG, 1981; BOLZAN & BIANCHI, 2002). Por outro lado, evidências indicam que a geração de radicais livres pode apresentar papel essencial no efeito diabetogênico da STZ (TAKASU et al., 1991; SILVA et al., 2011).

Embora tenha havido aumento tanto no consumo alimentar como na energia ingerida, as ratas diabéticas (G3) apresentaram menor ganho de peso corporal, resultando em menor eficiência alimentar.

A perda de peso corporal é uma das manifestações mais comuns do diabetes mellitus tipo 1 e pode ser resultado tanto da degradação excessiva de proteínas como da elevada lipólise (DELVIN, 2007).

Estas observações foram relacionadas às condições metabólicas especiais dos animais diabéticos, que são incapazes de utilizar a glicose adequadamente como substrato metabólico tecidual para produção de energia. De forma compensatória oxidam ácidos graxos provenientes da mobilização de triacilgliceróis armazenados no tecido adiposo (lipólise). Além disso, ocorre catabolismo oxidativo de proteínas estruturais, especialmente as musculares, desta forma, há fornecimento de esqueleto carbônico dos aminoácidos que podem ser tanto oxidados, para gerar energia, como direcionados para a gliconeogênese – processo inibido pela insulina (ORSOLIC et al., 2011).

O aumento no consumo alimentar pode ser devido à indisponibilidade de moléculas de glicose no meio intracelular, e também pela eliminação excessiva de glicose através da urina (glicosúria). Esta condição priva o organismo de considerável parte das calorias ingeridas através da dieta (ARDUINO, 1980).

A ingestão de água foi elevada em ratas diabéticas não tratadas, devido à diurese intensa (DELVIN, 2007), uma vez que a concentração de glicose no filtrado glomerular está aumentada, em decorrência da hiperglicemia.

No diabetes tipo 1 a hiperglicemia pode ser devido à baixa utilização periférica da glicose, e anormalidades observadas no metabolismo da glicose, principalmente ativação tanto da gliconeogênese como da glicogenólise hepática. Desta forma, o fígado

passa a exportar quantidade excessiva de glicose para a corrente sanguínea (BARTH et al, 2007). Outros fatores podem contribuir para a elevação da concentração sérica de glicose como a alta ingestão alimentar observada em ratas prenhez diabéticas não tratadas (Tabela 2; Figuras 8 e 10).

O aumento na ingestão alimentar levou ao aumento nos parâmetros nutricionais, tais como, ingestão energética, consumo de carboidratos, lipídios e proteínas nas ratas prenhez diabéticas (G3).

A administração da quercetina em ratas prenhez diabéticas (G4) apresentou aumento no ganho de peso corporal, além de reduzir tanto o consumo alimentar como a ingestão hídrica e a glicemia. Estes resultados são consistentes com Coskun et al. (2005), Kobori et al., 2009, Khaki et al., (2010) ao reportarem o efeito benéfico da administração da quercetina em ratos diabéticos. Além disso, a quercetina diminuiu a energia ingerida e aumentou a eficiência alimentar nas ratas prenhez expostas ao efeito da STZ.

A melhora dos parâmetros acima mencionados, na presença do flavonóide quercetina, pode ser atribuída a sua habilidade em promover maior controle do estado hiperglicêmico, como tem sugerido Orsolich et al. (2011).

Neste contexto, Youl et al. (2010) e Gregory & Kelly (2011) relataram que flavonóides normalizaram o teste de tolerância à glicose por preservar a integridade e função das células β -pancreáticas contra os danos oxidativos.

O potencial antioxidante da quercetina pode ser atribuído a vários elementos estruturais, como: presença de hidroxilas em posição orto no anel B - grupo catecol, dupla ligação entre o C2 e C3 e hidroxilas substituídas em C3 e C4 em proximidade com a carbonila em C4 (SILVA et al., 2002; MACHADO et al., 2008; LOA et al., 2009).

Assim a atividade antioxidante dos flavonóides pode ser consequência das suas propriedades de óxido-redução, as quais desempenham importante papel na neutralização de ERO (DEGÁSPARI & WASZCZYNSKYJ, 2004). Dessa forma, os flavonóides demonstram eficiência contra moléculas oxidantes envolvidas na oxidação e diminuição dos danos tanto sobre a estrutura do DNA como de ácidos graxos dos fosfolipídios das membranas celulares (MARCHAND, 2002). Portanto, flavonóides podem preservar a integridade das células β -pancreáticas e permitir a sínteses e secreção de insulina e conseqüentemente a queda na concentração sérica de glicose.

Por outro lado, Fernandes et al. (2010) sugeriram que o efeito benéfico do flavonóide rutina sobre o nível glicêmico em ratos diabéticos, pode ocorrer por um mecanismo independente de insulina, com atuação extra-pancreática, na qual a utilização de glicose em tecidos extra-hepáticos é estimulada, uma vez que não houve alteração no nível de insulina.

Estudos epidemiológicos sugeriram que os compostos com propriedades antioxidantes podem diminuir as complicações do diabetes mellitus, ao reduzir o nível sérico de glicose, através da manutenção do equilíbrio entre a produção de ERO e a atividade de enzimas antioxidantes, evitando, desta forma, o estresse oxidativo (FORBES et al., 2008).

Segundo Kamalakkannan & Prince (2006), ratos diabéticos suplementados com flavonóides apresentaram melhor controle da hiperglicemia e maior proteção contra peroxidação lipídica induzida pela estreptozotocina.

Em estudo realizado por Kim et al. (2011) revelou que a quercetina preveniu os danos oxidativos em ratos diabéticos, resultando em aumento na secreção de insulina. Ishida et al. (2004) sugeriram que a redução do estresse oxidativo poderia preservar as

células β -pancreáticas, assim, aumentar a utilização da glicose pelos tecidos periféricos e conseqüentemente maior controle glicêmico.

Neste sentido, Kaneto et al. (2005) indicaram que o tratamento com antioxidantes exercem efeito benéfico sobre o diabetes ao preservar a estrutura do RNAm, de modo a garantir a expressão gênica para a síntese da insulina.

Existe uma relação estreita entre dietas ricas em flavonóides e o metabolismo de glicose. Os flavonóides ao promoverem a entrada de glicose na célula, aumentam a atividade de enzimas glicolíticas e glicogênicas - elevando tanto a oxidação como o depósito de glicose – e ao mesmo tempo reduzem a atividade de enzimas envolvidas tanto na gliconeogênese como na glicogenólise (SARKHAIL et al., 2007), além de inibir a glicose-6-fosfatase no fígado.

Portanto, a melhora no ganho de peso corporal, no consumo de ração e ingestão hídrica observados nas ratas prenhez diabéticas tratadas com a quercetina pode estar relacionada à restauração da integridade das células β -pancreáticas, demonstrando, portanto atividade hipoglicemiante.

Estudos demonstraram que a dislipidemia é considerada fator de risco importante na prevalência de eventos cardiovasculares relacionados principalmente à aterosclerose (ANDERSON et al., 1997). As conseqüências da doença vascular aterosclerótica constituem-se uma das principais causas de morbimortalidade a pacientes diabéticos. Contudo doenças coronarianas constituem forte contra-indicação para mulheres diabéticas, no período gestacional e pode ser ainda preditor para interrupção da gravidez (GOLBERT & CAMPOS, 2008).

No presente estudo, ratas prenhez com diabetes mellitus tipo 1 (G3) demonstraram hiperlipidemia, ou seja, aumento na concentração sérica de colesterol total, triacilglicerídeos, LDL-colesterol e VLDL-colesterol (Tabela 4; Figuras 15 a 18).

Estes resultados são consistentes com Gleissner et al. (2006), ao observarem alterações no perfil lipídico sérico, com tendência aterogênica, em condições diabéticas.

Dano cardiovascular pode ser também consequência do aumento na produção de ERO (DROGE, 2002). Neste sentido, tem sido proposto que produtos da lipoperoxidação, principalmente aldeído, são capazes de reagir com partículas de LDL-colesterol, promovendo a oxidação dos fosfolípidos e da apolipoproteína B₁₀₀, modificando sua estrutura e, desta forma dificultando o reconhecimento celular e captação por receptores (NOUROOZ & ZADEH et al., 1996).

Neste contexto, estudos demonstraram a correlação da existência entre dislipidemia e hiperglicemia em ratos diabéticos (MATHEUS et al., 2008; TABATABAEI et al., 2008). E indicaram, que a hiperglicemia crônica resulta em maior oxidação e glicação da lipoproteína LDL-colesterol, a qual tornam-se mais densa e, portanto aterogênica, devido a pouca afinidade por seu receptor de membrana, permanecendo retidas na circulação sanguínea (CASTRO et al., 2005).

Sanchez-Vera et al. (2007) sugeriram a associação positiva entre hiperglicemia e aumento tanto de colesterol total como de LDL-colesterol (SANCHEZ-VERA et al., 2007).

Desde que a estreptozotocina promove citotoxicidade às células β -pancreáticas e gera radicais livres (TABATABAEI et al., 2008), pode-se inferir que as ratas do grupo G4 estiveram inseridas num contexto de fatores metabólicos, que provavelmente favoreceram o desenvolvimento de complicações cardiovasculares, tendo o nível de colesterol total e de LDL-colesterol elevado nestes animais.

Valastyan et al. (2008) relataram que LDL glicadas ou oxidadas apresentam baixa especificidade com seu receptor de membrana, o que poderia prejudicar a endocitose e a internalização da lipoproteína na célula.

O acúmulo de LDL modificada (glicada e/ou oxidada) apresenta efeitos pró-aterogênicos, tendo início o processo inflamatório local, que consiste em uma série de eventos como toxicidade às células endoteliais, recrutamento de monócitos, baixa mobilidade de macrófagos e, conseqüentemente, o surgimento de células de *foam* e aterosclerose (MATHEUS et al., 2008).

Ratas diabéticas tratadas com quercetina (G4) apresentaram queda na concentração sérica de colesterol total e de LDL-colesterol, a valores próximos aos obtidos para os animais do grupo controle (Tabela 4; Figura 15 e 17).

Há evidências na literatura que flavonóides apresentam efeito hipolipidêmico. Assim, Ricardo et al. (2001) e Dornas et al., (2007) ao realizarem estudos com os flavonóides, naringenina e rutina, verificaram redução no nível sérico de colesterol em ratos hiperlipidêmicos.

Contudo, Knekt et al. (2004) relataram que o decréscimo na concentração sérica de LDL-colesterol pode ter ocorrido devido a elevação no catabolismo da VLDL-colesterol, precursor de LDL-colesterol, na presença de flavonóides.

A capacidade de elevar a excreção de sais biliares e a inibição da atividade da HMG-CoA redutase, são dois mecanismos de ação que podem ser atribuídos aos flavonóides para explicar seu efeito benéfico sobre o metabolismo lipídico (NAGEM et al., 2001).

Neste contexto, Khera & McGuire (2005) relataram a importância de diminuir a atividade da HMG-CoA redutase como terapêutica, no sentido de minimizar a dislipidemia, fator relevante nos distúrbios cardiovasculares, verificados em paciente diabéticos.

Supõem-se que os flavonóides, além de reduzirem a geração de radicais livres, podem regenerar o α -tocoferol reduzindo-o ao doar átomos de hidrogênio (DORNAS et al., 2007).

A administração de quercetina esteve associada com a redução da placa aterosclerótica em animais alimentados com dieta rica em lipídios (JUZWIAK et al., 2005).

Shamir et al. (2007) ressaltaram que o controle glicêmico adequado nos diabéticos foi fundamental para diminuir o nível plasmático de colesterol total e de LDL-colesterol.

Desta forma, pode-se indicar o efeito anti-aterogênico da quercetina, pela capacidade em reduzir a dislipidemia no estado diabetogênico. Neste caso, a glicação das partículas de LDL-colesterol poderia estar inibida, assim como a formação de produtos pró-aterogênicos, uma vez que a quercetina promoveu maior controle glicêmico.

De acordo com a Tabela 4 e Figura 18, pode-se verificar que a concentração sérica de VLDL-colesterol e de triacilgliceróis elevaram-se em ratas prenhez expostas a estreptozotocina (G3).

O catabolismo das lipoproteínas VLDL-colesterol e quilomícrons, nos tecidos adiposo e musculares envolve a atividade da lipase lipoprotéica, enzima dependente de insulina (VALASTYAN et al., 2008). Assim, a diminuição da atividade da lipase lipoprotéica, contribui para manter alta a concentração de VLDL-colesterol (ROSS, 1999).

A gravidez normal associa-se frequentemente com o perfil lipídico aterogênico, tais como formação de LDL-colesterol oxidada e baixa atividade da lipase lipoprotéica. Contudo, na gestação de mulheres diabéticas estes fatores estão exacerbados (SATTAR

et al., 1997; BRIZZI et al., 1999; TOESCU et al., 2004), além da lipólise elevada. Neste caso, ocorre aumento do fluxo de ácidos graxos para o fígado, onde podem ser esterificados em triacilgliceróis e incorporados, juntamente com colesterol, na lipoproteína VLDL-colesterol, as quais são liberadas na corrente sanguínea (GOLDBERG et al., 2008).

Por sua vez, Gleissner et al. (2006) relataram que a concentração de triacilgliceróis e de VLDL-colesterol aumentou no sangue de indivíduos diabéticos a medida que a atividade da lipase lipoprotéica diminuiu. O aumento do nível de VLDL-colesterol também esteve relacionado com baixo controle glicêmico (FEITOSA, 2008).

Considerando que a biossíntese e a degradação extra-celular das lipoproteínas determinam a concentração de triacilgliceróis e VLDL-colesterol na corrente sanguínea, pode explicar a elevação destes parâmetros em ratas prenhez diabéticas (Tabela 4; Figuras 16 e 18).

No presente estudo verificou-se que a quercetina administrada em ratas prenhez diabéticas (G4) foi capaz de reduzir o nível de triacilgliceróis e apresentar tendência em reduzir a concentração sérica de VLDL-colesterol, indicando, desta forma a capacidade de reverter os distúrbios no metabolismo lipídico, estabelecidos no estado diabético.

Estes resultados são consistentes com obtidos por Fernandes et al. (2009) ao relatarem o efeito hipolipidêmico da narigerina sobre o nível de triacilgliceróis em ratos com diabetes mellitus tipo 1 e sugeriram que dietas ricas em flavonóides podem ser consideradas indicadoras de agentes anti-aterogênicos.

A redução dos níveis de triacilgliceróis também pode devido a redução da hiperglicemia. Esta hipótese é sustentada desde que a quercetina foi eficiente em reduzir a hiperglicemia em ratas prenhez diabéticas, provavelmente por aumentar a utilização da glicose pelos tecidos periféricos, e também a lipólise. Desta forma, pode ter ocorrido

baixa formação de triacilgliceróis a partir de ácidos graxos excedentes no fígado conforme relatado por Cardoso et al. (2011).

Portanto, o efeito benéfico da quercetina sobre o perfil lipídico no diabetes mellitus tipo 1 pode ser evidenciado pelo maior controle sobre a lipólise, que fornece aproximadamente 75% de ácidos graxos para serem reesterificados em triacilgliceróis.

De acordo com Jeon et al. (2007) e Orsolich et al. (2011) a naringerina foi efetiva em reduzir o colesterol plasmático ao inibir sua síntese hepática, e também diminuir a concentração de triacilgliceróis. Os autores concluíram que os flavonóides podem modular o metabolismo de lipídios e reduzir as síndromes envolvendo dislipidemias, frequentemente observadas no diabetes mellitus.

No presente estudo, verificou que a concentração sérica da lipoproteína HDL-colesterol não diferiu entre os grupos experimentais analisados. Resultados opostos foram obtidos por Costacou et al. (2008) ao relatarem decréscimo na taxa de HDL-colesterol e aumento do fator de risco para acidentes cardiovasculares em pacientes diabéticos, uma vez que esta lipoproteína tem a capacidade de remover o excesso de colesterol dos tecidos periféricos e levá-lo para o fígado através do transporte reverso do colesterol (GENEST et al., 1999, KARAKILCIK et al., 2004).

Analisando a atividade sérica da alanina aminotransferase (ALT) e da lactato desidrogenase (LDH) verifica-se aumento em ratas prenhez diabéticas não tratadas (Tabela 5; Figuras 20 e 21).

A atividade da ALT e da LDH são frequentemente utilizadas como enzimas diagnósticas, pois são importantes biomarcadoras de lesão dos tecidos hepático e cardíacos, respectivamente (MARCHESINI, 2003), em ensaios expostos a agentes tóxicos. A atividade destas enzimas encontra-se elevada no plasma sanguíneo sempre que há alteração na estrutura celular acompanhada pelo aumento da permeabilidade da

membrana plasmática, o que pode provocar o extravasamento da enzima para meio extra-celular (BURTIS et al., 2008; YANG et al., 2009).

Desta forma, o conhecimento da atividade destas enzimas (ALT e LDH) no plasma sanguíneo torna-se importante no sentido de avaliar o grau de toxicidade hepática e cardíaca.

A elevação na atividade sérica da ALT e da LDH pode ser decorrente do comprometimento tanto hepático como cardíaco promovido pelas condições estabelecidas no diabetes mellitus tipo 1.

Kim et al. (2011) relataram dano hepático e conseqüentemente aumento na atividade sérica da ALT em ratos expostos a estreptozotocina ou à aloxana.

O aumento da atividade da ALT no sangue de indivíduos diabéticos é atribuído a disfunção hepática, envolvendo alterações na integridade das membranas celulares e injúria tecidual, provocadas pelo estresse oxidativo nesta condição patológica (SAEED et al., 2008).

A lipoperoxidação de membranas biológicas devido ao estresse oxidativo, observado frequentemente no diabetes, pode provocar lesão celular e permitir o extravasamento destas enzimas do meio intracelular para a corrente sanguínea (TAKAIKE et al., 2004; SAEED et al., 2008).

A quercetina administrada em ratas diabéticas (G4) reduziu a atividade destas enzimas no soro sanguíneo, desta maneira, foi eficiente em minimizar os possíveis efeitos tóxicos provocados pela estreptozotocina. Resultados semelhantes foram obtidos por Lee et al., 2003 e Miltersteiner et al., 2003 ao demonstrarem que a atividade da ALT no plasma atingiu valores fisiológicos, após o tratamento com a quercetina.

A quercetina, através de sua propriedade antioxidante, pode ter impedido a lipoperoxidação lipídica das membranas celulares, de modo a recuperar a integridade da

estrutura celular e retenção das enzimas no compartimento intra-celular. Assim o flavonóide demonstra seu efeito hepato-cardioprotetor e controle sobre o dano oxidativo, restabelecendo a função cardíaca e hepática em animais com diabetes mellitus (G4).

Em condições diabéticas a molécula de glicose presente no plasma sanguíneo torna-se indisponível às células, portanto os tecidos dependem da oxidação de ácidos graxos e das proteínas teciduais para obtenção de energia. As proteínas musculares ao serem catabolisadas liberam alanina para o fígado. No citosol dos hepatócitos, este aminoácido transfere, através de reação de transaminação catalisada pela ALT, o grupo α -amino para o α -cetoglutarato, formando glutamato e piruvato, o qual é carboxilado e desviado para a via da gliconeogênese, processo metabólico ativado em indivíduos diabéticos (VOET et al., 2008).

No presente estudo a atividade hepática da ALT no fígado encontra-se elevada em ratas diabéticas (G3 – Tabela 5; Figura 22). Nestas condições, como relatado por Punitha et al. (2005), a elevação da atividade da ALT no fígado, observada em ratos diabéticos pode ser atribuída a alta gliconeogênese.

A administração de quercetina em animais diabéticos (G4) reduziu a atividade da ALT no tecido hepático. Diante disso, pode-se inferir que a quercetina regulou a atividade da ALT no fígado, provavelmente por prevenir a degradação de proteínas tanto hepática como musculares, que disponibilizariam aminoácidos glicogênicos, principalmente alanina – substrato da enzima para a via da gliconeogênese.

Contudo, a diminuição da atividade da ALT no soro sanguíneo de animais diabéticos que receberam a quercetina pode ser consequência, tanto da menor liberação da enzima para a corrente sanguínea, como da regulação da gliconeogênese que, conduziria a redução enzimática.

A lactato desidrogenase catalisa a redução do piruvato à lactato na presença de NADH e conseqüentemente a reoxidação desta coenzima a NAD^+ em condições anaeróbicas (PAPOTI et al., 2003).

As ratas prenhez diabéticas apresentaram aumento da atividade cardíaca da lactato desidrogenase (Tabela 5; Figura 23). Desde que o tecido cardíaco é essencialmente aeróbico, a alta atividade da LDH pode indicar comprometimento dos processos metabólicos oxidativos envolvidos na geração de energia, tais como, ciclo do ácido cítrico e fosforilação oxidativa, os quais ocorrem no compartimento mitocondrial.

A administração de quercetina em ratas prenhez diabéticas reduziu a atividade da LDH no tecido cardíaco à valores próximos aos obtidos para os animais controle. Assim esses resultados sugerem melhora no metabolismo energético oxidativo nas células cardíacas, favorecendo a formação de acetil-CoA a partir do piruvato e aumento da razão NAD^+/NADH , o que pode ter ocasionado decréscimo na atividade da LDH (SEKAR et al., 2005).

Desta forma, pode ocorrer o restabelecimento da função cardíaca e possivelmente, a prevenção de cardiopatias associadas (PRABHU et al., 2006). Portanto a normalização da atividade da LDH no soro das ratas prenhez diabéticas tratadas (G4) pode ser atribuída ao menor extravasamento da LDH para o sangue, como também pelo metabolismo oxidativo favorecido, na presença do flavonóide.

Estudos clínicos demonstraram que a hiperglicemia é um importante fator para o desenvolvimento e progressão de doenças renais em pacientes diabéticos (HAIDARA et al., 2009).

O catabolismo oxidativo dos aminoácidos libera além do esqueleto carbônico, o grupo α -amino na forma de íon amônio (NH_4^+) que é convertido em uréia no fígado. O esqueleto carbônico pode ser convertido em acetil-CoA, piruvato ou ainda em alguns

intermediários do ciclo do ácido cítrico e serem oxidados, sendo empregados como combustíveis metabólicos. Contudo, no diabetes mellitus tipo 1 a gliconeogênese está ativada e os aminoácidos glicogênicos atuam como principais precursores desta via metabólica. Desta forma, a degradação oxidativa das proteínas teciduais eleva-se e conseqüentemente a geração de uréia, a qual é excretada através da urina (VOET et al., 2008).

A creatinina é um composto nitrogenado, formado a partir da desfosforilação da fosfocreatina. O músculo esquelético é o principal depósito de fosfocreatina, e portanto torna-se relevante na produção de creatinina, a qual é lançada na circulação sanguínea e excretada através da urina (HEYMSFIELD et al., 2005). Como a produção de creatinina é relativamente constante, aumentos na concentração plasmática desse composto indicam diminuição da excreção renal.

Os níveis de creatinina e de uréia plasmática refletem a taxa de filtração renal, de forma que a elevação destes compostos nitrogenados indicam deficiência renal. Assim a dosagem de creatinina e de uréia no sangue torna-se importante para avaliação da função renal, pois a concentração está aumentada à medida que diminui a velocidade da filtração glomerular (GONZÁLEZ, 2009; LIMA, 2009).

No presente estudo a deficiência renal foi evidenciada através da análise de uréia e de creatinina. Pode-se observar que o diabetes tipo 1 induziu aumento nestes parâmetros em ratas prenhez (Tabela 6; Figuras 24 e 25), indicando possível comprometimento da função renal. Estes resultados são consistentes com Saeed et al. (2008) que evidenciaram elevação nestes parâmetros nitrogenados no plasma de indivíduos diabéticos com nefropatia. Além disso, a alta concentração sérica de uréia pode ser indicativo do catabolismo excessivo de proteínas (EL-DEMERDASH et al., 2005).

Sabe-se também que as nefropatias são frequentemente acompanhadas pela dislipidemia diabética. Embora, o controle da glicemia seja o principal fator na prevenção da nefropatia diabética, elevação no nível sérico de colesterol sérico pode também estar associada à diminuição da função renal. O controle da hipercolesterolemia tem sido eficaz na redução de distúrbios renais (MATHUR et al., 2002).

A correlação entre filtração glomerular e dislipidemia foi demonstrada por Lin et al. (2002) em portadores de diabetes. Nesse estudo, os autores observaram que em indivíduos com menor taxa de filtração glomerular, ocorria maior concentração de triacilgliceróis e menor concentração de HDL, quando comparados à indivíduos com taxa de filtração glomerular normal.

A ação lipotóxica dos ácidos graxos tem sido abordada como um dos mecanismos responsáveis pela lesão renal em pacientes diabéticos. O acúmulo excessivo de ácidos graxos no tecido renal bloqueia as vias de sinalização celular, podendo ocasionar disfunção celular ou induzir apoptose, acompanhada de lesão renal (MOORHEAD et al., 1991).

Após a administração da quercetina em animais diabéticos (G4), foi observado redução tanto na concentração sérica de uréia como de creatinina, em relação ao grupo G3. Desta forma, pode-se associar o efeito benéfico da quercetina sobre a toxicidade renal. Esses resultados corroboram com os obtidos por Anjaneyulu e Chopra (2004) ao observarem aumento na depuração da uréia e da creatinina em ratos diabéticos tratados com flavonóides.

Além disso, a queda na concentração de uréia pode ser atribuída ao melhor controle tanto da glicemia como da dislipidemia. Neste sentido, Waltner et al. (2002) relataram que flavonóides diminuíram a produção hepática de glicose, por regular a codificação de genes das enzimas gliconeogênicas mais especificamente da

fosfoenolpiruvato carboxilase e correlacionaram esses eventos com melhora no funcionamento glomerular em condições diabéticas.

Desde que elevados níveis de colesterol e de LDL-colesterol assumam importante papel no desenvolvimento de glomerulosclerose e deterioração renal em pacientes diabéticos (HAIDARA et al., 2009), a quercetina ao reduzir o nível de colesterol, triacilgliceróis e de LDL-colesterol pode ter contribuído para o efeito benéfico sobre a função renal.

Neste contexto, Trachtman et al. (1995) verificaram queda no depósito de LDL-oxidada em glomérulos de ratos com injúria renal crônica assim como, maior controle da hiperlipidemia e da proteinúria, na presença de antioxidantes.

Por sua vez, Athyros et al. (2004) demonstraram que o controle da dislipidemia esteve associado à *clearance* da creatinina em indivíduos diabéticos.

Sabe-se que a síntese de glicogênio no diabetes mellitus tipo 1 está inibida, ao passo que a glicogenólise está ativada, fato que pode explicar a diminuição do conteúdo de glicogênio, tanto no tecido hepático como cardíaco, observado em ratas diabéticas não tratadas (G3). Resultados semelhantes foram encontrados por Barth et al. (2007), Costa et al. (2008) e Fernandes et al. (2009).

Puniyhavathi et al. (2008) verificaram aumento na atividade da glicose-6-fosfatase e conseqüentemente redução na concentração de glicogênio no fígado de ratos diabéticos.

As ratas prenhez diabéticas tratadas com quercetina (G4) apresentaram maior conteúdo de glicogênio no tecido hepático e cardíaco. Sugerindo a influência da quercetina sobre o metabolismo do glicogênio, melhorando seu depósito nos tecidos e possivelmente a homeostase glicêmica no estado diabetogênico. Desta forma, pode-se

inferir que a glicogenólise hepática e cardíaca esteve diminuída na presença do flavonóide.

Por outro lado, a administração de flavonóides conteve a hiperglicemia pós-prandial em pacientes com diabetes mellitus insulino dependente por inibir a atividade da α -glicosidase e da α -amilase (LIN et al., 2002). Do mesmo modo, Li et al. (2009) trabalhando com cinética enzimática, observaram que os flavonóides, quercetina e rutina, atuaram como efetivos inibidores não competitivos da α -glicosidase.

Desde que a glicose-6-fosfato é substrato para a biossíntese de glicogênio, a restauração do glicogênio pela quercetina, pode ser devido a inibição da glicose-6-fosfatase no fígado, prevenindo a conversão de glicose-6-fosfato a glicose desfosforilada, a qual é exportada para a corrente sanguínea, como relatado por Wittenstein et al. (2002).

Segundo Jung et al. (2004) os flavonóides apresentam papel preventivo importante na progressão da hiperglicemia, particularmente por aumentar a glicólise hepática e diminuir a glicogenólise e/ou a gliconeogênese.

Flavonóides foram descritos com agentes antihiperglicêmico, pois diminuíram a atividade da glicogênio fosforilase ao inibir a fosforilação desta enzima (KATO et al., 2008).

A concentração de triacilgliceróis no tecido hepático não demonstrou alterações entre os diferentes grupos experimentais (Tabela 7; Figura 28). Esses resultados apontam para uma possível ausência de esteatose diabética em ratas prenhez diabéticas. A esteatose hepática é frequentemente associada ao desequilíbrio entre a superprodução de triacilgliceróis e a velocidade de liberação deste lipídio do fígado, através da lipoproteína VLDL-colesterol. Entretanto, resultados opostos foram obtidos por Jenkins et al. (2006) e Fernandes et al. (2009), os quais relataram depósito excessivo de

triacilgliceróis no tecido hepático de ratos com diabetes mellitus tipo 1, em decorrência da esterificação de ácidos graxos liberados durante a lipólise, ativada em condições diabéticas.

Ratas prenhez diabéticas apresentaram diminuição na concentração de proteínas hepática e cardíaca (Tabela 7; Figura 29 e 30). Esta queda pode ser explicada pela degradação de proteínas teciduais, seja para manter a gliconeogênese ou para obtenção de energia, através da oxidação completa da cadeia carbônica dos aminoácidos (SARKHAIL et al., 2007).

A baixa quantidade de proteína estrutural foi correlacionada com a diminuição em sua síntese, devido aos efeitos deletérios das EROs sobre a estrutura do RNAm, no tecido cardíaco de ratos diabéticos (PRABHU et al., 2006).

A administração de quercetina em ratas diabéticas (G4) promoveu aumento de proteínas tanto hepáticas como cardíacas, comparativamente às aquelas não tratadas (G3). Estes resultados podem ser correlacionados com a atividade antioxidante do flavonóide ao preservar as células β -pancreáticas, e conseqüentemente redução da gliconeogênese, preservando por sua vez, o conteúdo de proteínas teciduais.

A concentração sérica de proteína totais esteve reduzida no grupo exposto à estreptozotocina (G3). Enquanto que a quercetina foi efetiva em aumentar a concentração de proteínas séricas em ratas prenhez diabéticas (G4 - Tabela 8; Figura 31).

Por sua vez, Haidara et al. (2009) verificaram que a administração de antioxidantes preveniu o aumento da proteinúria e, conseqüentemente regulou o nível sérico de proteínas em ratos diabéticos.

Diversos estudos têm enfatizado o papel das espécies reativas de oxigênio como mecanismo responsável pela toxicidade da glicose sobre as células β -pancreáticas. Estas

células são extremamente sensíveis a ERO devido a alta exigência energética e baixa expressão de enzimas antioxidantes, como superóxido dismutase (SOD) e glutathione peroxidase (GSH-Px) (CERIELLO & MOTZ 2004; SIMMONS, 2006).

A geração excessiva de ERO altera a secreção de insulina e diminui a expressão gênica das células β -pancreáticas, o que pode induzir a morte celular (KANETO et al., 2002; SAKAI et al., 2003).

Lee et al. (2003) atribuíram a diminuição no nível sérico de proteínas a elevada proteinúria, devido a nefropatia diabética.

O estresse oxidativo no diabetes, com aumento de espécies reativas de oxigênio na mitocôndria, está associado a vários mecanismos envolvendo a hiperglicemia como fator principal, que resulta na estimulação da via poli-ol, produção intracelular de precursores dos produtos de glicação avançada (AGE), ativação da proteína quinase C (PKC) e ativação da via da hexosamina (LAPOLLA et al., 2005; ROLO & PALMEIRA, 2006; SILVA et al., 2011).

Vários estudos têm demonstrado que o diabetes mellitus está associado ao estresse oxidativo, através da produção excessiva de ERO e/ou redução do sistema endógeno antioxidante (BROWNLEE, 2005; COSKUN et al., 2005; VICENTINI et al., 2011).

O diabetes é caracterizado pelo aumento da oxidação de ácidos graxos em detrimento a degradação oxidativa de glicose e lactato. O aumento de ácidos graxos livres estimula a sinalização de receptores α ativados pelo proliferador do peroxissoma (PPAR α), com consequente transcrição de genes envolvidos no catabolismo de ácidos graxos (FINCK et al., 2003). A oxidação excessiva de ácidos graxos favorece a produção de EROs que podem promover lipotoxicidade (MCGAVOCK et al., 2006).

Os ácidos graxos insaturados são particularmente vulneráveis à ação de ERO devido à maior exposição dos átomos de hidrogênio. Na presença de oxigênio, estes átomos são facilmente removidos pelas EROs, resultando em radicais lipídicos que reagem com o oxigênio molecular, formando hidroperóxido de lipídios (JENEY et al., 2002).

Na gestação, em situações fisiológicas, os mecanismos de defesa antioxidante aumentam de maneira proporcional aos produtos da peroxidação. Porém, a gestação associada à condição diabética pode exacerbar o estresse oxidativo, uma vez que há decréscimo nos componentes antioxidantes (MYATT & CUI 2004; SOUZA et al., 2009). Assim, há evidências de inúmeras alterações no organismo materno, o que contribuem para as complicações diabéticas associadas (AMARAL et al., 2008).

A concentração sérica de hidroperóxido de lipídios em ratas prenhez diabéticas não tratadas aumentou (Tabela 8; Figura 32). Desde que a peroxidação lipídica, frequentemente observada no diabetes mellitus, é marcada pelo elevado nível de hidroperóxido de lipídio (RAMESH & PUGALENDI, 2005), estes resultados comprovam, de certa forma, o estabelecimento do estresse oxidativo no diabetes experimental.

O nível de malonaldeído também esteve aumentado em animais diabéticos, refletindo alta produção do radical superóxido, que se reduz completamente e torna-se estável na presença de antioxidantes (HAIDARA et al., 2009).

Johansen et al. (2005) e Fakher et al. (2007) descreveram a associação entre o controle glicêmico inadequado com elevados níveis de hidroperóxido de lipídio no diabetes mellitus.

A quercetina administrada em animais diabéticos (G4) normalizou a concentração sérica de hidroperóxido de lipídio, porém com concentração acima

daqueles obtidos para G1. De certa forma, pode-se observar que a quercetina exerceu controle sobre o estresse oxidativo, uma vez que hidroperóxido de lipídio são considerados biomarcadores do estresse oxidativo.

Segundo Sarkhail et al. (2007) a atividade das enzimas antioxidantes, glutathione peroxidase e superóxido dismutase tem mostrado importante papel na manutenção dos níveis fisiológicos de peróxido de hidrogênio, decorrente da dismutação do radical superóxido, gerados durante a exposição à estreptozotocina.

Estudos revelaram que há depleção no mecanismo endógeno das defesas antioxidantes no diabetes, com alterações na atividade das enzimas antioxidantes (SINDHU et al., 2004; AKSOY et al., 2005).

A atividade sérica da GSH-Px reduziu-se em ratas prenhez diabéticos (G3). Estes resultados são respaldados com aqueles verificados por Kiss et al. (2009) ao observarem diminuição na atividade desta enzima, o que comprova possível alteração sobre o sistema o sistema endógeno antioxidante, que seria importante para conter a produção excessiva de ERO em ratas diabéticas no período gestacional.

Majithiya & Balaraman (2005) associaram o decréscimo do sistema antioxidante à hiperglicemia, devido a glicação das enzimas antioxidantes, podendo alterar a estrutura e a função enzimática, favorecendo, desta forma o estresse oxidativo.

A administração da quercetina em ratas diabéticas aumentou a atividade enzimática de GSH-Px; demonstrando sua atuação como antioxidante.

A observação de que animais pertencentes a G4 apresentem valores superiores para a atividade da glutathione peroxidase, comparativamente a G3, permite avaliar a capacidade antioxidante da quercetina. Considerando a importância da glutathione peroxidase ao catalisar a redução do peróxido de hidrogênio, estes animais estariam protegidos do estresse oxidativo.

Embora a atividade de SOD tenha apresentado relevância para manutenção dos níveis fisiológicos de peróxido de hidrogênio, devido à dismutação do radical superóxido, gerado durante a exposição à estreptozotocina (SARKHAIL et al., 2007), e com baixa expressão gênica no diabetes mellitus (FORBES et al., 2008), sua atividade não foi alterada entre os grupos experimentais.

Estudos descrevem a ação da quercetina como antioxidante agindo na redução da formação de ERO por inibição enzimática ou quelando metais envolvidos na produção de radicais livres, aumentando ou até mesmo protegendo as defesas antioxidantes (COTELLE, 2001).

A ação antioxidante da quercetina também pode ser explicada pela sua participação em inibir enzimas como a ciclooxigenase, lipoxigenase e xantina oxidase que estão envolvidas na citotoxicidade oxidativa (ROBASZKIEWICZ et al., 2007).

Contudo, Kahraman et al. (2003), Anjaneyulu & Chopra (2004), Dias et al. (2005) e Shukla et al (2006) verificaram diminuição do estresse oxidativo na presença da quercetina em animais diabéticos através da elevada atividade das enzimas catalase e superóxido dismutase.

A classificação do peso da prole em adequado (AIP), pequeno (PIP) e grande (GIP) para a idade de prenhez, pode contribuir para confirmar os resultados atribuídos à hiperglicemia no meio intra-uterino (CALDERON et al., 1999). A prole de mães diabéticas tratadas e não tratadas com a quercetina (G3 e G4) obtiveram maior porcentagem de filhotes classificados como PIP, comparativamente aos grupos G1 e G2. Esses resultados são respaldados por outros autores como England et al., 2001; Jaakkola et al., 2001, Kiss et al., 2009 e Souza et al., 2009. Vale ressaltar que, no grupo diabético tratado, não houve filhotes classificados como GIP. E a incidência de PIP foi reduzida de 35,7% (diabética não-tratada) para 34,2% (diabética tratada).

Em trabalhos experimentais essas alterações também foram observadas em prole de mães diabéticas, com pesos diferenciados de acordo com a fase em que o diabetes se manifestava, ou seja, quando a doença ocorria já no início da prenhez, os recém-nascidos eram classificados em maior porcentagem como PIP. E quando o estabelecimento do diabetes ocorria no final do período gestacional, frequentemente os animais nasciam acima do peso esperado (AERTS, 1990).

A gestação complicada pelo diabetes e pela elevada demanda metabólica exigida pelos tecidos fetais, placenta e anexos, exige mecanismos compensatórios que, possivelmente se não forem adequados podem levar ao comprometimento materno e fetal (LOTGERING et al., 1999). Em ratas, o diabetes induz à restrição do crescimento intra-uterino, aumentando o número de recém-nascidos classificados como pequenos para a idade de prenhez (PIP). Estas desordens podem estar relacionadas com a hiperglicemia no meio intra-uterino (RUGE et al., 2007).

Além disso, foi demonstrado que em mulheres diabéticas, ocorre o espessamento das membranas e restrição do espaço intervilo (CALDERON et al, 1999), com conseqüente redução da circulação sanguínea e nas trocas materno-fetais; com isso o fluxo de sangue total para a placenta em ratas diabéticas é reduzida em 50% no final da gravidez (DAMASCENO et al., 2002), restringindo os níveis de oxigênio e nutrientes para o feto, o que pode ocasionar maior porcentagem em PIP.

Embora a quercetina tenha reduzido a concentração sérica de glicose em ratas diabéticas, não foi efetiva em melhorar o desenvolvimento da prole, pois em G4 observa-se alta porcentagem de filhotes classificados em PIP.

VI. CONCLUSÕES

Diante dos resultados obtidos, pode-se concluir que:

- ❖ A quercetina apresentou efeito antidiabetogênico ao aumentar o peso corporal, e diminuir a ingestão alimentar e de água, bem como a glicemia;
- ❖ A quercetina foi capaz de melhorar os parâmetros nutricionais analisados;
- ❖ O diabetes mellitus tipo 1 causou dislipidemia, com elevações na concentração de colesterol total, LDL-colesterol, VLDL-colesterol e de triacilgliceróis, e baixa concentração de HDL-colesterol;
- ❖ A dislipidemia foi controlada pela quercetina, contribuindo para diminuir o fator de risco para a aterosclerose fortemente observada em condições diabéticas;
- ❖ A exposição das ratas prenhez a estreptozotocina, na ausência da quercetina, causou danos hepáticos e cardíacos, evidenciados pela elevação na atividade das enzimas ALT e LDH, respectivamente;
- ❖ A quercetina foi eficiente em diminuir as alterações enzimáticas (ALT e LDH) séricas, hepáticas e cardíacas, e demonstrou efeito protetor sobre estes tecidos em ratas sob os efeitos tóxicos da estreptozotocina;
- ❖ A administração de quercetina em ratas com diabetes mellitus tipo 1 reduziu a concentração sérica tanto de uréia como de creatinina;
- ❖ Ratas prenhez diabéticas não tratadas apresentaram queda no conteúdo hepático e cardíaco de proteínas e glicogênio, enquanto aquelas que receberam a quercetina tiveram aumento nestes parâmetros, bem como no nível de proteínas totais no soro sanguíneo;
- ❖ A quercetina controlou o estresse oxidativo através da redução na geração de hidroperóxido de lipídio e da elevação na atividade da GSH-Px;

- ❖ A prole de ratas prenhez expostas ao diabetes mellitus tipo 1 apresentou diminuição no peso corporal e maior porcentagem de PIP, no entanto a quercetina não apresentou qualquer efeito sobre a classificação da prole.

VII. REFERÊNCIAS

ACHARYA, J. et al. Real cell lipid peroxidation and antioxidant enzymes in iron deficiency. **Environment. J. Haematol.**, v. 47, p. 287-291, 1991.

AERTS, L.; HOLEMANS, K.; VAN, A.F.A. Maternal diabetes during pregnancy: consequences for the offspring. **Diabetes Metab. Rev.**, v.6, p.147-156, 1990.

AERTS, L.; VAN ASSCHE, F.A.. Intra-uterine transmission of disease. **Placenta**, v.24, p. 905-911, 2006.

AHLENSTIEL, T. et al. Bioflavonoids attenuate renal proximal tubular cell injury during cold preservation in Euro-Collins and University of Wisconsin solutions. **Kidney Int.**, v.63, p.554-563, 2003.

AKSOY, N. et al. Beneficial effects of vitamins C and E against oxidative stress in diabetic rats. **Nutr. Res.**, v.25, n.6, p.625-630, 2005.

AL GHAFI, M.H.M. et al. Effects of α -lipoic acid supplementation on maternal diabetes-induced growth retardation and congenital anomalies in rat fetuses. **Clin. Biochem.**, v.261, p.123-135, 2004.

AL-SHAMSI, M; AMIN, A.; ADEGHATE, E. Vitamin E ameliorates some biochemical parameters in normal and diabetic rats. **Ann. N. Y. Acad Sci.**, v.1084, p.411-431, 2006.

ALBUQUERQUE, R. **História contemporânea do diabetes**. Onde Estamos em 2007. Disponível em: <<http://www.diabetes.org.br/diabeteshoje/index.php?id=965>>. Acesso em: 20/08/2007.

AMARAL, S.; OLIVEIRA, P.J.; RAMALHO-SANTOS, J. Diabetes and the impairment of reproductive function: possible role of mitochondria and reactive oxygen species. **Curr. Diabetes Rev.**, v.4, p.6-54, 2008.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION - ADA. Standards of medical care in diabetes. **Diabetes Care**, v.34, p.11-61, 2011.

ANDERSON, K.A.; CASTELLI, W.P.; LEVY, D. cholesterol and mortality. 30 years of follow-up from the Framingham Study. **JAMA**, v.277, p.2176-2180, 1997.

ANJANEYULU, M.; CHOPRA, K. Quercetin, an anti-oxidant bioflavonoid, attenuates diabetic nephropathy in rats. **Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.**, v.31, p.244-248, 2004.

ARAI, Y. et al. Dietary intakes of flavonols, flavones and isoflavones by Japanese women and the inverse correlation between quercetina intake and plasma LDL cholesterol concentration. **J. Nutr.**, v.130, p.2243-2250, 2000.

ARDUINO, F. **Sintomas, diagnóstico, prognóstico e mortalidade da diabetes**. In: _____. **Diabetes Mellitus**. 3.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1980. p.78-94.

ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS - AOAC. **Official methods of analysis**. 16.ed. Washington, 2006. v.2.

ATHYROS, V.G. et al. The effect of statins versus untreated dyslipidaemia on renal function in patients with coronary heart disease. A subgroup analysis of the Greek atorvastatin and coronary heart disease evaluation (GREACE) study. **J. Clin. Pathol.**, v.57, n.7, p.728-734, 2004.

BABU, P.S.; SRINIVASAN, K. Renal lesions in streptozotocin induced diabetic rats maintained on onion capsaicin containing diets. **J. Nutr. Biochem.**, v.10, p.477-483, 1995.

BARTH, E. et al. Glucose metabolism and catecholamines. **Crit. Care Med.**, v.35, n.9, p.508-518, 2007.

BEARDSALL, K. et al. Applied physiology of glucose control. **Curr. Paediatr.**, v.56, n.8, p.127-156, 2006.

- BELHIN, G. et al. Flavonóide quercetina: aspectos gerais e ações biológicas. **Alim. Nutr.**, v.15, n.3, p.285-292, 2004.
- BENNETT, R.A.; PEGG, A.E. Alkylation of DNA in rat tissues following administration of streptozotocin. **Cancer Res.**, v.41, n.7, p.2786-2790, 1981.
- BIESALSKI, H.K. The role of antioxidants in nutritional support. **Nutrition**, v.16, n.7-8, p.593-596, 2000.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification, **Can. J. Biochem. Physiol.**, v.26, n.3, p.267-276, 1996.
- BOK, S.H. et al. plasma and hepatic cholesterol and hepatic activities of 3-hydroxy-3-methyl-glutaryl-CoA reductase and acyl CoA: cholesterol transferase are lower in rats fed, citrus peel extract or a mixture of citrus bioflavonoids. **J. Nutr.**, v.129, p.1182-1185, 1999.
- BOLOKER, J.; GERTZ, S.J.; SIMMONS, R.A. Gestational diabetes leads to the development of diabetes in adulthood in the rat. **Diabetes**, v.51, n.5, p.1499-1506, 2002.
- BOLZAN, A.D.; BIANCHI, M.S. Genotoxicity of streptozotocin. **Mutat. Res.**, v.512, n.2, p.121-134, 2002.
- BONA, S. **Proteção antioxidante da quercetina em fígado de ratos cirróticos**. 2010. 64f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Medicina, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2010.
- BONNEFONT-ROUSSELOT, D. The role of antioxidant micronutrients in the prevention of diabetic complications. **Treat. Endocrinol.**, v.3, n.1, p.41-52, 2004.
- BOUDINA, S.; ABEL, E. D. Diabetic Cardiomyopathy Revisited. **Circulation**, v.115, n.3, p.3213-3223, 2007.
- BRAGA, W.R.C. **Enciclopédia da saúde - Diabetes Mellitus**. São Paulo: Editora Médica e Científica, 2002.

- BRAY, T.M. Dietary antioxidants and assessment of oxidative stress. **Nutrition**, v.16, n.7-8, p.578-581, 2000.
- BRIZZI, P. et al. Lipoprotein metabolism during normal pregnancy. **Am. J. Obstet. Gynaecol.**, v.181, p.430-434, 1999.
- BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, v.54, n.6, p.1615-1625, 2005.
- BRUCE-CHERTOW, J.C. Advances in Diabetes for the millennium: vitamins and oxidant stress in Diabetes and its complications. **Medscape Gen. Med.**, v.6, n.4, 2004.
- BUCHANAN, T.A.; KITZMILLER, J.L. Metabolic interactions of diabetes and pregnancy. **Diabetes Care**, v.45, p.245-260, 1994.
- BURNEIKO, R.C. et al. Interaction of hypercaloric diet and physical exercise on lipid profile, oxidative stress and antioxidant defenses. **Food Chem. Toxicol.**, v.44, p.1167-1172, 2006.
- BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R.; BRUNS, D.E. **Tierz fundamentos de química clínica**. 6.ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008.
- CALDERON, I.M.P. et al. Diabete e gravidez experimental em ratas I. Indução do diabete, obtenção e evolução da prenhez. **Acta Cir. Bras.**, v.7, p.9-14, 1992.
- CALDERON, I.M.P. et al. Estudo longitudinal, bioquímico e histoquímico de placentas de ratas diabéticas – relação com a macrosomia e o retardo do crescimento intra-uterino. **Rev. Bras. Ginecol. Obstet.**, v.21, p.91-8, 1999.
- CARDOSO, L.M. et al. Efeito das tinturas de café torrado e moído nos níveis séricos de colesterol, triglicérides e glicose em ratos diabéticos. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.32, n.1, p.77-81, 2011.
- CASTRO, S.H.; FARIA-NETO, H.C.C.; GOMES, M.B. Association of postprandial

hyperglycemia with in vitro LDL oxidation in nonsmoking patients with type 1 diabetes – a cross-sectional study. **Rev. Diabetic Stud.**, v.2, n.3, p.157-164, 2005.

CERIELLO, A.; MOTZ, E. Is oxidative stress the pathogenic mechanism underlying insulin resistance, diabetes, and cardiovascular disease? The common soil hypothesis revisited. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.24, p.816-823, 2004.

CHO, N.H. et al. Correlations between the intrauterine metabolic environment and blood pressure in adolescent offspring of diabetic mothers. **J. Pediatr.**, v.136, p.587-592, 2000.

COHN, R.M.; ROTH, K.S. Lipid and lipoprotein metabolism. In: __. **Biochemistry and disease**. Baltimore: Williams and Wilkins Publishers; 1996. p.280.

CONSENTINO, F.K. et al. High glucose increases nitric oxide synthase expression and superoxide anion generation in human aortic endothelial cells. **Circulation**, v.96, p.25-28, 1997.

COSKUN, O. et al. Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and beta-cell damage in rat pancreas. **Pharmacol. Res.**, v.51, n.2, p.117-123, 2005.

COSTA, E.S. et al. Metformina interage com o treinamento físico diminuindo a glicemia e aumentando o armazenamento de glicogênio em ratos diabéticos. **Rev. Bras. Med. Esporte**, v.14, n.4, p.54-58, 2008.

COSTACOU, T.; MA, B.; KING, I.B.; MAYER-DAVIS, E.J. Plasma and dietary vitamin E in relation to insulin secretion and sensitivity. **Diabetes Obes. Metab.**, v.10, n.3, p.223-228, 2008.

COTELLE, N. Role of flavonoids in oxidative stress. **Curr. Top. Med. Chem.**, v.1, p.569-590, 2001.

- CROUCH, R.K.; GANDY, S.C.; KISEY, G. The inhibition of islet superoxide dismutase by diabetogenic drugs. **Diabetes**, v.30, p.235-241, 1981.
- CUNHA, J.M. et al. Streptozotocin-induced mechanical hypernociception is not dependent on hyperglycemia. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.42, p.197-206, 2009.
- CURI, P.R.; MORAES, R.V. Associação, homogeneidade e contrastes entre proporções em tabelas contendo distribuições multinomiais. **Cien. Cul.**, v.33, n.5, p.712-722, 1981.
- DAMASCENO, D.C. et al. Oxidative stress and diabetes in pregnant rats. **Anim. Reprod. Sci.**, v.72, p.235-242, 2002.
- DEGÁSPARI, C. H.; WASZCZYNSKYJ, N. Propriedades antioxidantes de compostos fenólicos. **Visão Acad.**, v.5, n.1, p.33-40, 2004.
- DELGADO, J.C. et al. Comparison of disaturated phosphatidylcholine and fetal lung maturity surfactant/albumin ratio in diabetic and nondiabetic pregnancies. **J. Clin. Pathol.**, v.113, n.2, p.233-239, 2000.
- DETSCH, J.C.M. et al. Marcadores para o diagnóstico e tratamento de 924 gestações com diabetes melito gestacional. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.55, n.6, p.1-11, 2011.
- DEVLIN, T.M. **Manual de bioquímica com correlações clínicas**. 6.ed. São Paulo: Blücher, 2007.
- DI CARLO, G. et al. Flavonoids: old and new aspects of a class of natural therapeutic drugs. **Life Sci.**, v. 65, n. 4, p. 337-353, 1999.
- DIAS, A.S. et al. Quercetin decreases oxidative stress, NF-kappaB activation, and iNOS overexpression in liver of streptozotocin-induced diabetic rats. **J. Nutr.**, v.135, n.10, p.2209-2304, 2005.

DOBLADO, M.; MOLEY, K.H. Glucose metabolism in pregnancy and embryogenesis. **Curr. Opin. Endocrinol. Diabetes Obes.**, v.14, p.488-493, 2007.

DORNAS, W.C. et al. Flavonóides: potencial terapêutico no estresse oxidativo. **Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.**, v.28, n.3, p.241-219, 2007.

DROGE, W. Free radicals in the physiological control of cell function. **Physiol. Rev.**, v.84, n.3, p.47-95, 2002.

EBAID, G.M.X. et al. Effects of digitonin on hyperglycaemia and dislipidemia induced by high-sucrose intake. **Food Chem. Toxicol.**, v.44, p.293-299, 2006.

EL-DEMERDASH, F.M.; YOUSEF, M.I., EL-NAGA, N.I. Biochemical study on the hypoglycemic effects of onion and farlic in alloxan-induced diabetic rats. **Food Chem. Toxicol.**, v.43, n.1, p.57-63, 2005.

ELSNER, M. et al. Relative importance of transport and alkylation for pancreatic beta-cell toxicity of streptozotocin. **Diabetologia**, v.43, n.12, p.1528-1533, 2000.

ENGLAND, L.J. et al. Measures of maternal tobacco exposure and infant birth weight at term. **Am. J. Epidemiol.**, v.153, p.954-960, 2001.

ERIKSSON, U. et al. Diabetes in pregnancy: effects on the foetal and newborn rat with particular regard to body weight, serum insulin concentration and pancreatic contents of insulin, glucagon and somatostatin. **Endocrinology**, v.94, p.354-364, 1980.

EVELSON, P. et al. Hepatic morphological changes and oxidative stress in chronic streptozotocin-diabetes rats. **Ann. Hepatol.**, v.4, n.2, p.115-120, 2005.

FAKHER, S.H. et al. Effect of vitamins A, E, C and Omega-3 fatty acids on lipid peroxidation in streptozotocin induced diabetes rats. **Iranian J. Public Health**, v.36, n.2, p.58-63, 2007.

FAWCETT, J.K.; SCOTH, J.E.; A rapid and precise method for the determination of urea. **J. Clin. Pathol.**, v.13, p.156-159, 1960.

- FEITOSA, A.C.R. **Avaliação do metabolismo de lípidos em diabéticos tipo 1, normolipidêmicos e sem complicações microvasculares e macrovasculares significativas através de nanoemulsão lipídica artificial.** 2008. 141f. Tese (Doutorado) – Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.
- FERNANDES, A.A. et al. Effect of naringerin on biochemical parameters in the streptozotocin-induced diabetic rats. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v.52 n.1, p.51-59, 2009.
- FERNANDES, A.A.H. et al. Influence of rutin treatment on biochemical alterations in experimental diabetes. **Biomed. Pharmacother.**, v.64, n.3, p.214-219, 2010.
- FINCK, B.N. et al. A critical role for PPARalpha-mediated lipotoxicity in the pathogenesis of diabetic cardiomyopathy: modulation by dietary fat content. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA**, v.100, p.1226-1231, 2003.
- FRANKEL, E.N. et al. Inhibition of oxidation of human low-density lipoprotein by phenolic substance in red wine. **Lancet**, v.341, p.454-457, 1993.
- FRIDOVICH, I. Oxygen toxicity: a radical explanation. **J. Exp. Biol.**, v.201, p.1203-1209, 1998.
- FORBES, J.M.; COUGHLAN, M.T.; COOPER, M.E. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. **Diabetes**, v.57, p.1446-1454, 2008.
- GABBE, S.G.; GRAVES, C.R. Management of diabetes mellitus complicating pregnancy. **Obstet. Gynecol.**, v.102, n.4, p.857-868, 2003.
- GALATI, G. et al. Prooxidant activity and cellular effects of the phenoxyl radicals of dietary flavonoids and other polyphenolics. **Toxicology**, v.177, p.91-104, 2002.
- GARCIA, C.G. Diabetes mellitus gestacional. **Med. Int. Mex.**, v.24, p.148-156, 2008.
- GENEST, J. et al. High density lipoproteins in health and in disease. **J. Invest. Med.**, v.47, n.1, p.31-42, 1999.

- GHAFFARI, M.A.; MOJAB, S. Influence of flavonols as in vitro on low density lipoprotein glycation. **Iran. Biomed. J.**, v.11, n.5, p.185-191, 2007.
- GLEISNER, A. et al. Oxidative stress markers in plasma and urine of prepubertal patients with type 1 diabetes mellitus. **J. Pediatr. Endocrinol. Metab.**, v.19, p.995-1000, 2006.
- GOLBERT, A.; CAMPOS, M.A.A. Diabetes Mellito Tipo 1 e Gestação. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.52, p.2, 2008.
- GOLDBERG, I.J. et al. Decreased lipoprotein clearance is responsible for increased cholesterol in LDL receptor knockout mice with streptozotocin-induced Diabetes. **Diabetes**, v.57, p.1674-1682, 2008.
- GONZÁLEZ, F.H.D. **Laboratório de análises clínicas veterinárias**. Porto Alegre: UFRGS, 2009. Disponível em: <<http://www6.ufrgs.br/bioquimica/extensao/perfil/creatinina.htm>>. Acesso em: 29 maio 2009.
- GREGORY, S.; KELLY, N.D. Quercetin. **Altern. Med. Rev.**, v.16, n.2, p.172-194, 2011.
- GRENACHE, D.G.; GRONOWSKI, A.M. Fetal lung maturity. **Clin. Biochem.**, v.39, v.1, p.1-10, 2006.
- GROSSMAN, E ET AL.. Does increased oxidative stress cause hypertension?. **Diabetes Care**, v.31, p.185-189, 2008.
- HADJARA, M.A. et al. Evaluation of the effect of oxidative stress and vitamin E supplementation on renal function in rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes. **J. Diabet. Complications**, v.23, p.130-136, 2009.
- HEYMSFIELD, S.B.; LOHMAN, T.; WANG, Z. **Human body composition**. Champaign: Human Kinetics, 2005. p.206-208.

HERTOG, M.G.L.; HOLLMAN, P.C.H.; KATAN, M.B. Content of potentially anticarcinogenic flavonoids in 28 vegetables and 9 fruits commonly consumed in the Netherlands. **J. Agr. Food Chem.**, v. 40, p. 2379-2883, 1992.

HOLEMANS, K. et al. Streptozotocin diabetes in the pregnant rat induces cardiovascular dysfunction in adult offspring. **Diabetologia**, v.42, p.81-89, 1999.

ISHIDA, H. et al. Pioglitazone improves insulin secretory capacity and prevents the loss of β -cell mass in obese diabetic db/db mice: possible protection of β cells from oxidative stress. **Metabolism**, v.53, p.488-494, 2004.

JAAKKOLA, J.J.K.; JAAKKOLA, N.; ZAHLESEN, K. Fetal growth and length of gestation in relation to prenatal exposure to environmental tobacco smoke assessed by hair nicotine concentration. **Environ. Health Perspect.**, v.109, p.557-561, 2001.

JENEY, V. et al. Pro-oxidant and cytotoxic effects of circulation heme. **Blood**, v.100, n.12, p.879-887, 2002.

JENKINS, D.J.A. et al. Nonalcoholic fatty liver, nonalcoholic steatohepatitis, ectopic fat, and glycemic index. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.84, p.3-4, 2006.

JEON, S.M. et al. Hypocholesterolemic and antioxidative effects of naringenin and its two metabolites in high-cholesterol fed rats. **Transplant. Res.**, v.149, p.15-21, 2007.

JIANG, Z.Y.; WOOLARD, A.C.S.; WOLF, S.P. Lipid hydroperoxides measurement by oxidation of Fe^{2+} in the of xylene orange. **Lipids**, v.24, p.861-869, 1991.

JOHANSEN, J.S. et al. Oxidative stress and the use of antioxidants in diabetes: linking basic science to clinical practice. **BioMed. Cardiovasc. Diabetol.**, v.4, n.5, p.1-11, 2005.

JUNG, U.J. et al. The hypoglycemic effects of hesperidin and naringin are partly mediated by hepatic glucose-regulating enzymes in C57BL/Ksj-db/db mice. **J. Nutr.**, v.134, p.2499-2503, 2004.

JUZWIAK, S. et al. Effect of quercetin on experimental hyperlipidemia and atherosclerosis in rabbits. **Pharmacol. Rep.**, v.57, n.5, p.604-609, 2005.

KAHRAMAN, A. et al. The antioxidative and antihistaminic proprieties of quercetin in ethanol-induced gastric lesion. **Toxicology**, v.183, n.3, p.133-142, 2003.

KAKKAR, R. et al. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. **Clin. Sci.**, v.94, p.623-632, 1998.

KAMALAKKANNAN, N.; PRINCE, P.S.M. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic Wistar rats. **Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.**, v.98, n.1, p.97-103, 2006.

KANETO, H. et al. Involvement of c-Jun N-terminal kinase in oxidative stress-mediated suppression of insulin gene expression. **J. Biol. Chem.**, v.277, p.30010-30018, 2002.

KANETO, H. et al. Oxidative stress and pancreatic β -cell dysfunction. **Am. J. Ther.**, v.12, p.529-533, 2005.

KARAKILCIK, A.Z. et al. Effects of vitamin C and E on liver enzymes and biochemical parameters of rabbits exposed to aflatoxin B1. **Vet. Hum. Toxicol.**, v.46, n.4, p.190-192, 2004.

KATO, A. et al. Structure-activity relationships of flavonoids as potential inhibitors of glycogen phosphorylase. **J. Agric. Food Chem.**, v.56, n.12, p.4469-4473, 2008.

KHAHI, A.; FATHIAZAD, E.; NOURI, M. Beneficial effects of quercetin on sperm parameters in streptozotocin-induced diabetic male rats. **Phytother. Res.**, v.24, p.1285-1289, 2010.

KHERA, A.; MCGUIRE, D.K. Management of diabetic dyslipidemia: need for reappraisal of the goals. **Am. J. Cardiovsc. Drugs**, v.5, n.2, p.83-91, 2005.

KIM, J.H. et al. Quercetin attenuates fasting and postprandial hyperglycemia in animal models of diabetes mellitus. **Nutr. Res. Pract.**, v.5, n.2, p.107-111, 2011.

KIRSTEN, V.R.; SESTERHEIM, P.; SAITOVITCH, D. Animal models for type 1 diabetes studies. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v.43, n.1, p.3-10, 2010.

KISS, A.C.I. et al. Animal models for clinical and gestational diabetes: maternal and fetal outcomes. **Diabetol. Metab. Syndr.**, v.1, p.21, 2009.

KNEKT, P., et al. Antioxidant vitamins and coronary heart disease risk: a pooled analysis of 9 cohorts. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.80, p.1508-1520, 2004.

KOBORI, M. et al. Chronic dietary intake of quercetin alleviates hepatic fat accumulation associated with consumption of a Western-style diet in C57/BL6J mice. **Mol. Nutr. Food Res.**, v.55, p.530-540, 2009.

KRINSKY, N.I. Mechanism of action of biological antioxidants. **Exp. Biol. Med.**, v.200, p. 248-254, 1992.

KUROKI, T.; ISSHIKI, K.; KING, G.L. Oxidative stress: the lead or supporting actor in the pathogenesis of diabetic complications. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.14, p.216-220, 2003.

LAPOLLA, A.; FEDELE, D.; TRALDI, P. Glyco-oxidation in diabetes and related diseases. **Clin. Chim. Acta.**, v.357, n.2, p.236-250, 2005.

LEAN, M.E.J. et al. Dietary flavonols protect diabetic human lymphocytes against oxidative damage to DNA. **Diabetes**, v.48, p.176-181, 1999.

LEE, E.S. et al. The flavonoid quercetin inhibits dimethylnitrosamine-induced liver damage in rats. **J. Pharm. Pharmacol.**, v.55, n.8, p.1169-1174, 2003.

LESAGE, J. et al. Prenatal stress induces intrauterine growth restriction and programmes glucose intolerance and feeding behaviour disturbances in the aged rat. **J. Endocrinol.**, v.181, p.291-296, 2004.

- LETHO, S. et al. Dyslipidemia and hyperglycemia predict coronary heart disease events in middle-aged patients with NIDDM. **Diabetes**, v.46, p.1354-1359, 1997.
- LI, H.; ZHAO, X.; MA, Y. Enhancement of gastrointestinal absorption of quercetin by solid lipid nanoparticles. **J. Control Release**, v.133, p.238-244, 2009.
- LIMA, A.P. **Análise bioquímica e histológica da toxicidade do fígado e rins de ratos**. 2009. 132f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", São José dos Campos, 2009.
- LIN, C.M. et al. Prevention of cellular ROS damage by isovitexin and related flavonoids. **Planta Méd.**, v.68, n.4, p.365-367, 2002.
- LIRA, L.Q.; DIMENSTEIN, R. Vitamina A e diabetes gestacional. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.56, n.3, p. 355-359, 2010.
- LOA, J.; CHOW, P.; ZHANG, K. Studies of structure-activity relationship on plant polyphenol-induced suppression of human liver cancer cells. **Cancer Chemother. Pharmacol.**, v.63, n.6, p.1007-1016, 2009.
- LOPES, J.P.; OLIVEIRA, S.M.; FORTUNATO, J.S. Stress oxidativo e seus efeitos na insulino-resistência e disfunção das células β -pancreáticas: relação com as complicações da Diabetes Mellitus tipo 2. **Acta Méd. Port.**, v.21, p.293-302, 2008.
- LOPEZ-REVUELTA, A. et al. Membrane cholesterol contents influence the protective effects of quercetin and rutin in erythrocytes damaged by oxidative stress. **Chem. Biol. Interact.**, v.161, n.1, p.79-91, 2006.
- LOPES-VIRELLA, M.F.; STONE, P.; ELLIS, S. Cholesterol determination in high-density lipoproteins separated by different methods. **Clin. Chem.**, v.13, n.5, p.882-884, 1977.

LÓPEZ-SOLDADO, I.; HERRERA, E. Different diabetogenic response to moderate doses of streptozotocin in pregnant rats, and its long-term consequences in the offspring. **Exp. Diabetes Res.**, v.4, n.2, p.107-18, 2003.

LOTGERING, K.F.; GILBERT, L.D. Exercício na gravidez em animal de laboratório. In: ARTAL, R.; WISWELL, R.A.; DRINKWATER, B.L. **O exercício na gravidez**. São Paulo: Manole, 1999. p.157-171.

MACHADO, H. et al. Flavonóides e seu potencial terapêutico. **Bol. Cent. Biol. Reprod.**, v.27, p.33-39, 2008.

MAHESH, T.; MENON V.P. Quercetin alleviates oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. **Rhythother. Res.**, v.18, p.123-127, 2004.

MAJITHIYA, J.B.; BALARAMAN, R. Time-dependent changes in antioxidant enzymes and vascular reactivity of aorta in streptozotocin-induced diabetic rats treated with curcumin. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v.46, n.5, p.697-705, 2005.

MANACH, C. et al. Bioavailability of rutin and quercetin in rats. **FEBS**, v.409, p.12-16, 1997.

MANDERSON, J.G. et al. Cardiovascular and metabolic abnormalities in the offspring of diabetic pregnancy. **Diabetologia**, v.45, n.1, p.991-996, 2002.

MANN, J. **Secondary metabolism**. Oxford: Clarendon Press, 1987. p.374.

MARCHAND, L.L. Cancer preventive effects of flavonóides – a review. **Biomed. Pharmacother.**, v.56, p.296-301, 2002.

MARCHESINI, G. Nonalcoholic Fatty Liver, Steatohepatitis, and the Metabolic Syndrome. **Hepatology**, v.37, n.4, p.917-923, 2003.

MARCONDES, F.K.; BIANCHI, F.J.; TANNO, A.P. Determination of the estrous cycle phases of rats: some helpful considerations. **Braz. J. Biol.**, v.62, n.4, p.609-614, 2002.

MARITIM, A.C.; SANDERS, R.A.; WATKINS, J.B. Diabetes, oxidative stress, and antioxidants: a review. **J. Biochem. Mol. Toxicol.**, v.17, n.1, p.24-38, 2003.

MATHEUS, A.S.M.; COBAS, R.A.; GOMES, M.B. Dislipidemias no Diabetes melito tipo 1: abordagem atual. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.52, n.2, p.334-426, 2008.

MATHUR, S.; DEVARAJ, S.; JIALAL, I. Accelerated atherosclerosis, dyslipidemia, and oxidative stress in end-stage renal disease. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v.11, p.141-147, 2002.

MCGAVOCK, J.M. et al. Adiposity of the heart, revisited. **Ann. Intern. Med.**, v.144, p.517-524, 2006.

MENEZES, F.S., et al. Hypoglycemic activity of two Brazilian Bauhinia species: Bauhinia forficata L. and Bauhinia monandra Kurz. **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.17,n.8, p.8-13. 2007.

MILTERSTEINER, A. et al. Uso de quercetina a longo prazo em ratos cirróticos. **Acta Cir. Bras.**, v.18, n.3, p.21-27, 2003.

MIRANDA, P.A.C.; REIS, R. Diabetes mellitus gestacional. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v.54, n.6, p.5-8, 2008.

MIYAKE, Y.; YAMAMOTO, K.; TSUJIHARA, N. Protective effects of lemon flavonoids on oxidative stress in diabetic rats. **Lipids**, v.33, p.689-695, 1998.

MOORHEAD, J.F. Lipids and progressive kidney disease. **Kidney Int.**, v.31, p.35-40, 1991.

MOURA, R.A. **Técnicas de laboratório**. 2.ed. São Paulo: Atheneu, 1982.

MYATT, L.; CUI, X. Oxidative stress in the placenta. **Histochem. Cell. Biol.**, v.122, n.4, p.369-382, 2004.

NAGEM, T.J. et al. Kaempferol e antocianina: redutores de lipídeos em ratos. **Rev. Port. Farm.**, v.3, 127-131, 2001.

- NAKAMURA, M.; HOJODA, S.; HAYASHI, K. purification and properties of rats liver glutathione peroxidase. **Biochim. Biophys. Acta**, v.358, p.251-261, 1974.
- NATHANIELZ, P.W.; THORNBURG, K.L. Fetal programming: from gene to functional systems - an overview. **J. Physiol.**, v.547, p.3-4, 2003.
- NOUROOZ-ZADEH, J. et al.. Relationships between plasma measures of oxidative stress and metabolic control in NIDDM. **Diabetologica**, v.40, n.11, p.647-653, 1996.
- OIKNINE, R.; MOORADIAN, A.D. Drug therapy of diabetes in the elderly. **Biomed. Pharmacother.**, v.57, n.6, p.231-239, 2003.
- OLIVEIRA, M.W. S. et al. Scavenging and antioxidant potential of physiological taurine concentrations against different reactive oxygen/nitrogen species. **Pharmacol. Rep.**, v. 62, n.2, p.185-193, 2010.
- OLTHOF, M.R. et al. Bioavailabilities of quercetin-3- glucoside and quercetin-4'-glucoside do not differ in humans. **J. Nutr.**, v.130, p.1200-1203, 2000.
- ORSOLIC, N. et al. DNA-protective effects of quercetin or narigerin in alloxan-induced diabetic mice. **Eur. J. Pharmacol.**, v.656, p.110-118, 2011.
- PALLADINO, A.A.; BENNETT, A.J.; STANLEY, C.A. Hyperinsulinism in Infancy and Childhood: When an Insulin Level Is Not Always Enough. **Clin. Chem.**, v.54, p.256-63, 2008.
- PAPOTI, M. et al. Máxima fase estável de lactato durante a natação em ratos recuperados de desnutrição protéica. **Motriz**, v.9, n.2, p.97-104, 2003.
- PEREIRA, B. et al. Changes in the TBARS content and superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase activities in the lymphoid organs and skeletal muscles of adrenalectomized rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.31, p.827-833, 1998.
- PERFETTI, R.; AHMAD, A. Novel sulfonylurea and non-sulfonylurea drugs to promote the secretion of insulin. **Trends Endocrinol. Metabol.**, v.11, p.218-223, 2000.

- PETIT, J.M. et al. Risk factors for diabetes mellitus and early insulin resistance in chronic hepatitis. **Can. J. Hepatol.**, v.35, n.2, p.279-283, 2001.
- PICKUP, J.C.; WILLIAMS, C. **Textbook of diabetes**. 2nd ed. New York: Blackwell Science; 1997.
- PIETTA, G. Flavonoids as antioxidants. **J. Nat. Prod.**, v.63, p.1035-1042, 2000.
- PIPER, J.M. Lung maturation in diabetes in pregnancy: if and when to test. **Semin. Perinatol.**, v.26, p.206-209, 2002.
- PRABHU, S.; JAINU, M.; SABITHA, K.E.; DEVI, C.S. Role of mangiferin on biochemical alterations and antioxidant status in isoproterenol-induced myocardial infarction in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v.107, n.1, p.126-133, 2006.
- PUNITHA, I.S.R. et al. Alcoholic stem extract of *Coscinium fenestratum* regulates carbohydrate metabolism and improves antioxidant status in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. **Alternative Med.**, v. 2, n. 3, p. 375-381, 2005.
- PUNITHAVATHI, V.R.; ANUTHAMA, R.; PRINCE, P.S. Combined treatment with naringin and vitamin C ameliorates streptozotocin-induced diabetes in male Wistar rats. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, n. 6, p. 806-813, 2008.
- RAMESH, B.; PUGALENDI, K.V. Impact of umbelliferone on erythrocyte redox status in STZ-diabetic rats. **Yale J. Biol. Med.**, v.78, p.131-138, 2005.
- REIS, J.S. et al. Estresse oxidativo: revisão da sinalização metabólica no diabetes tipo 1. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.52, p.1096-1105, 2008.
- REECE, E.A. et al. **Diabetes in women: adolescence, pregnancy and menopause**. 2.ed. New York: Lippincott Williams & Wilkins, 2004.
- REES, D.A.; ALCOLADO, J.C. Animal models of diabetes mellitus. **Diabetic Med.**, v.22, p.359-370, 2005.

RICARDO, K.F.S. et al. Effect of flavonoids morin, quercetin and nicotin acido on lipid metabolism f rats experimentally fed with triton. **Braz. Arch. Biol. Technol.**, v.44, n.3, p.263-267, 2001.

ROBASZKIEWICZ, A.; BALCERCZYK, A.; BARTOSZ, G. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells. **Cell. Biol. Int.**, v.31, p.1245-1250, 2007.

ROEHRIG, K.; ALLRED, J.B. Direct enzymatic for the determination of liver glycogen. Analytical and flavoids after oral and intravenous administration. **Free Radic. Biol. Med.**, v.27, n-3-4, p.278-286, 1974.

ROGOLIC, G. et al. The burden of mortality attributable to Diabetes; Realistic estimates for the year 2000. **Diabetes Care**, v.28, n.9, p.2130-2135, 2005.

ROLO, A.P.; PALMEIRA, C.M. Diabetes and mitochondrial function: role of hyperglycemia and oxidative stress. **Toxicol. Appl. Pharmacol.**, v.212, n.2, p.167-178, 2006.

ROSAK, C. The pathophysiologic basis of efficacy and clinical experience with the new oral antidiabetic agents. **J. Diabetes Complications**, v.16, p.123-132, 2002.

ROSS, R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. **N. Engl. J. Med.**, v.340, p.115-126, 1999.

RUDGE, M.V.C.; CALDERON, I.M.P. Classificação do diabete na gestação. **Femina**, v.28, n.7, p. 387-389, 2004.

RUDGE, M.V.C.; DAMASCENO, D.C.; VOLPATO, G.T. Effect of Ginkgo biloba on the reproductive outcome and oxidative stress biomarkers of streptozotocin-induced diabetic rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.40, p.1095-1099, 2007.

SAEED, M.K.; DENG, Y.; DAI, R. Attenuation of biochemical parameters in streptozotocin-induced diabetic rats by oral administration of extracts and fractions of *Cephalotaxus sinensis*. **J. Clin. Biochem. Nutr.**, v.42, p.21-28, 2008.

SAITO, F.H. et al. Repercussions of mild diabetes on pregnancy in wistar rats and on the fetal development. **Diabetol. Metab. Syndr.**, v2, p.2-8, 2010.

SAKAI, K. et al. Mitochondrial reactive oxygen species reduce insulin secretion by pancreatic beta-cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v.300, p.216-222, 2003.

SANCHEZ-VERA, I. et al. Changes in plasma lipids and increased low-density lipoprotein susceptibility to oxidation in pregnancies complicated by gestational diabetes: consequences of obesity. **Metabolism**, v.56, n.11, p.1527-1533, 2007.

SANDERS, R.A.; RAUSCHER, F.M.; WATKINS, J.B. effects quercetina on antioxidant defense in streptozotocin-induced diabetic rats. **J. Biochem. Toxicol.**, v.15, n.10, p.143-149, 2001.

SARKHAIL, P. et al. Antidiabetic effect of *Phlomis anisodonta*: effects on hepatic cells lipid peroxidation and antioxidants enzymes in experimental diabetes. **Pharmacol. Res.**, v. 56, n. 3, p. 261-266, 2007.

SATTAR, N. et al. Lipoprotein subfraction changes in normal pregnancy: threshold effect of plasma triglyceride on appearance of small dense low density lipoprotein. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v.82, p.2483-2489, 1997.

SEKAR, D.S.; SIVAGNANAM, K.; SUBRAMANIAN, S. Antidiabetic activity of *Momordica charantia* seeds streptozotocin induced diabetic rats. **Pharmazie**, v.60, n.5, p. 283-387, 2005.

SHAMIR, A. et al. Glycemic control in adolescents with type I diabetes mellitus improves lipid serum levels and oxidative stress. **Pediatr. Diabetes**, v.9, n.2, p.104-109, 2007.

- SHUKLA, R. et al. Reduction of oxidative stress induced vanadium toxicity by complexing with a flavonoid, quercetin: a pragmatic therapeutic approach for diabetes. **Biolmetals**, v.19, p.685-693, 2006.
- SILVA, M.M. et al. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids: a re-examination. **Free Radic. Res.**, v.36, n.11, p.1219-1227, 2002.
- SILVA, A.M.O. et al. Efeito do extrato aquoso de alecrim (*Rosmarinus officinalis* L.) sobre o estresse oxidativo em ratos diabéticos1. **Rev. Nutr.**, v.24, n.1, p.121-130, 2011.
- SIMMONS, R.A. Developmental origins of diabetes: the role of oxidative stress. **Free Radic. Biol. Med.**, v.40, p.917-922, 2006.
- SINDHU, RK. et al. Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes: response to insulin and antioxidant therapy. **Clin. Exp. Hypertens.**, v.26, n.1, p.43-53, 2004.
- SINZATO, Y.K. **Análise morfológica e imunológica das placentas de ratas com diabete de intensidade moderada**. 2009. 65f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2009.
- SOLONI, F.G. Simplified manual michomethod for determination of serum triglycerides. **Clin. Chem.**, v.17, n.6, p.531-534, 1971.
- SOUZA, M.S.S. et al. Effects of cigarette smoke exposure on pregnancy outcome and offspring of diabetic rats. **Reprod. BioMed. Online**, v.18, p.562-567, 2009.
- SPADOTTO, R. **Desenvolvimento físico, sexual e função reprodutiva da prole feminina de ratas diabéticas**. 2007. 75f. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Biociências, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2007.
- SUN, F. et al. Apoptosis and its pathway in early post-implantation embryos of diabetic rats. **Diabetes Res. Clin. I Prac.**, v.67, n.2, p.110-118, 2005.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in β cells of the rat pancreas. **Physiology**, v.50, p.536-546, 2001.

TABATABAEI, S.R.F. et al. The effects of oral vitamin E on induction and consequence of experimental Diabetes Mellitus in rats. **Pakistan J. Biol. Sci.**, v.11, n.4, p.633-637, 2008.

TAKAIKE, H. et al. Transient elevation of liver transaminase after starting insulin therapy for diabetic ketosis or ketoacidosis in newly diagnosed type 1 diabetes mellitus. **Diabetes Res. Clin. Prac.**, v.64, n.1, p.27-32, 2004.

TAKASU, N. et al. Streptozotocin and alloxan-induced H₂O₂ generation and DNA fragmentation in pancreatic islets. H₂O₂ as mediator for DNA fragmentation. **Diabetes**, v.40, n.9, p.1141-1145, 1991.

TIEPPO et al. Quercetin administration ameliorates pulmonary complications of cirrhosis in rats. **J. Nutr.**, v.139, n.7, p.1339-1346, 2009.

TRACHTMAN, H. et al. Dietary vitamin E supplementation ameliorates renal injury in chronic puromycin aminonucleoside nephropathy. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.5, p.1811-1819, 1995.

TOESCU, V. et al. Changes in plasma lipids and markers of oxidative stress in normal pregnancy and pregnancies complicated by diabetes. **Clin. Sci.**, v.106, p.96-98, 2004.

UTSUNOMIYA, H. et al. Anti-hyperglycemic effects of plum in a rat model of obesity and type 2 diabetes, Wistar fatty rat. **Biomed. Res.**, v.26, n.5, p.193-200, 2005.

VALASTYAN, S. et al. Novel transcriptional activities of vitamin E: inhibition of cholesterol biosynthesis. **Biochem.**, v.47, n.2, p.744-752, 2008.

VAN ASSCHE, F.A. et al. Long-term consequences for offspring of diabetes during pregnancy. **Medicine**, v.60, p.173-182, 2001.

VESSAL, M.; HEMMATI, M.; VASEI, M. Antidiabetic effects of quercetin in

- streptozocin-induced diabetic rats. **Comp. Biochem. Physiol.**, v.135, p.357-364, 2003.
- VERHAEGHE, J. et al. Maternal and fetal endocrine pancreas in the spontaneously diabetic BB rat. **Biol. Neonate**, v.55, p.298-308, 1989.
- VICENTINI, J. et al. Association among microalbuminuria and oxidative stress biomarkers in patients with type 2 diabetes. **J. Invest. Med.**, v.59, n.4, p.649-654, 2011.
- VOET, D.; VOET, J.G., PRATT, C.W. **Fundamentos de bioquímica**. 6.ed. Porto Alegre: Artmed, 2008.
- VOLPATO, G.T. et al. Study of *Bauhinia forficata* L. extract on diabete in pregnant rats. **Rev. Bras. Pl. Med.**, v.2, p.49-55, 1999.
- WALTNER, L.M.E. et al. Epigallocatechin gallate, a constituent of gree tea, represses hepatic glucose production. **J. Biol. Chem.**, v.277, n.38, p.3933-3940, 2002.
- WENTZEL, P.; GÄRESKOG, M.; ERIKSSON, J. Folic Acid Supplementation Diminishes Diabetes- and Glucose-Induced Dymorphogenesis in Rat Embryos In Vivo and In Vitro. **Diabetes**, v.54, n.2, p.546-553, 2005.
- WEST, I.C. et al. Radicals and oxidative stress in diabetes. Diabetic Medicine. **J. Br. Diabetic Assoc.**, v.17, n.3, p.171-180, 2000.
- WHITNEY, N.E. Nutrition and of the blood vessels, heart, and lungs. In: ROLFES, S.R.; PINNA, K.; WHITNEY, E.N. **Understanding normal & clinical nutrition**. Minneapolis: West Publishing Company, 1997. v.4, p.879-909.
- WILD, S. et al. Global prevalence of Diabetics: Estimates for the year 2000 and projections for 2030. **Diabetes Care**, v.27, n.5, p.1047-1053, 2004.
- WILKINSON, J.H. **Introducción al diagnostic enzimático**. 3.ed. Buenos Aires: Ediciones Toray, 1965. 310p.

WITTENSTEIN, B. et al. Plasma antioxidants in pediatric patients with glycogen storage disease, diabetes mellitus and hypercholesterolemia. **Free Radic. Biol. Med.**, v.33, p.103-110, 2002.

XIANG, F.L. et al. NOX2 Deficiency protects against streptozotocin-Induced β -cell destruction and development of diabetes in mice. **Diabetes**, v.50, p.2603-2611, 2010.

YAMADA, T.; GRISHAM, M.B. Role of neutrophil-derived oxidants in the pathogenesis of intestinal inflammation. **Klin. Wochenschr.**, v.69, p.988-994, 1991.

YANG, H.; WRIGHT, J.R. Human β cells are exceedingly resistant to streptozotocin in vivo. **Endocrinology**, v.143, p.2491-2495, 2002.

YANG, R.Z. et al. Alanine aminotransferase isoenzymes: molecular cloning and quantitative analysis of tissue expression in rats and serum elevation in liver toxicity. **Hepatology**, v.49, n.2, p.598-607, 2009.

YOSHIDA, M. et al. Effect of combined vitamin E and inulin administration on renal damage in diabetic rats fed a high cholesterol diet. **Biol. Pharm. Bull.**, v.28, n.11, p.2080-2086, 2005.

YOUL, E. et al. Quercetin potentiates insulin secretion protects INS-1 pancreatic β -cell against oxidative damage via the ERK1/2 pathway. **Br. J. Pharmacol.**, v.16, n.4, p.799-814, 2010.

ZAMBRANO, E. et al. A maternal low protein diet during pregnancy and lactation in the rat impairs male reproductive development. **J. Physiol.**, v.563, p.275-284, 2005.

ZAMBRANO, E. et al. A low maternal protein diet during pregnancy and lactation has sex and window of exposure specific effects on offspring growth and food intake, glucose metabolism and serum leptin. **J. Physiol.**, v.571, p.221-230, 2006.

ZAR, J.H. **Bioestatistical analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1996. 929p.

ZHAO, Z.; REECE, E.A. Experimental mechanisms of diabetic embryopathy and strategies for developing therapeutic interventions. **J. Soc. Gynecol. Invest.**, v.12, p.549-557, 2005.