

**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JULIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CÂMPUS DE ARARAQUARA**



**Programa de Pós-graduação em Biociências e Biotecnologia  
Aplicadas à Farmácia**

**MONALISA FREITAS DE PAULA**

**COMPORTAMENTO TEMPORAL DOS BIOMARCADORES DE LESÃO  
OXIDATIVA E DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RATOS DIABÉTICOS  
TRATADOS COM INSULINA OU CURCUMINA EM IOGURTE**

**Araraquara, SP  
Agosto 2017**

**MONALISA FREITAS DE PAULA**

**COMPORTAMENTO TEMPORAL DOS BIOMARCADORES DE LESÃO OXIDATIVA E  
DE ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM  
INSULINA OU CURCUMINA EM IOGURTE**

Dissertação de Mestrado do Programa de Pós-Graduação  
em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia da  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade  
Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de  
Araraquara Área de Concentração: Bioquímica.

ORIENTADOR: Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti

**Araraquara, SP**

**Agosto 2017**

**Ficha Catalográfica**

Elaborada por Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação  
Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP – Campus de Araraquara

**P324c** Paula, Monalisa Freitas de  
Comportamento temporal dos biomarcadores de lesão oxidativa e de atividade antioxidante em ratos diabéticos tratados com insulina ou curcumina em iogurte / Monalisa Freitas de Paula. – Araraquara, 2018.  
157 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Programa de Pós Graduação em Biociências e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de Concentração: Bioquímica.

Orientador: Iguatemy Lourenço Brunetti.

1. Diabetes mellitus. 2. Estresse oxidativo. 3. Insulina. 4. Curcumina em Iogurte. I. Brunetti, Iguatemy Lourenço, orient. II. Título.

**CAPES: 40300005**

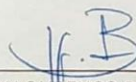
MONALISA FREITAS DE PAULA

COMPORTAMENTO TEMPORAL DOS BIOMARCADORES DE LESÃO OXIDATIVA E DE  
ATIVIDADE ANTIOXIDANTE EM RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM INSULINA OU  
CURCUMINA

Dissertação de mestrado apresentada à Faculdade de  
Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual  
Paulista – UNESP, Campus de Araraquara como  
requisito para a obtenção do título de Mestra em  
Biotecnologia e Biotecnologia aplicadas à Farmácia

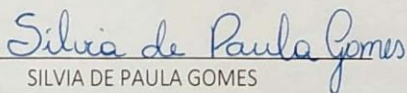
Araraquara, 14 de agosto de 2017.

BANCA EXAMINADORA



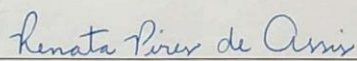
---

IGUATEMY LOURENÇO BRUNETTI



---

SILVIA DE PAULA GOMES



---

RENATA PIRES DE ASSIS

Dissertação de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Biociências e Biotecnologia aplicada à Farmácia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” Campus de Araraquara como parte dos requisitos para o título de Mestre em Biociências e Biotecnologia aplicadas à Farmácia. Área de concentração: Bioquímica.

Trabalho desenvolvido no laboratório de Bioquímica Clínica do Departamento de Análises Clínicas da Faculdade de Ciências Farmacêuticas – UNESP/ Câmpus Araraquara.

***Fomento: Bolsa CAPES – Mestrado***

*Agradecimientos*

A Deus, pelo constante cuidado e amparo que me faz seguir em frente sempre.

Aos meus pais Elio e Neli, por acreditarem em mim, por não medirem esforços para que eu realizasse mais esse sonho, pelo amor, cuidado e força que me dão, por terem me educado e com isso eu me tornar a pessoa que sou hoje, pelos valores transmitidos, vocês é que são meus mestres, minhas melhores escolhas, Eu Amo Vocês!

Ao Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti, você foi muito mais que um orientador, foi um grande amigo, obrigada pelos ensinamentos científicos e de vida, os quais levarei para sempre comigo, obrigada por ter sido sempre presente, sou sua fã.

A professora Dra. Amanda Martins Baviera, pela atenção e ajuda desde os primeiros e-mails trocados até minha última planilha do excel, obrigada pelos olhares que instigam querer aprender sempre mais.

A minha irmã Mara, pelo apoio, carinho, incentivo e preocupação.

Ao meu amigo Leandro, que mesmo longe fisicamente, sempre dispôs de tempo para me ouvir, obrigada pela paciência e pelas longas conversas.

As minhas amigas Patrícia Lopes e Juliana Assumpção, que tive o prazer em conhecer durante a pós-graduação, pelo apoio, conselhos e conversas, gratidão por permanecerem em minha vida.

Ao meu amigo Inácio, por me ouvir, me distrair e fazer sorrir quando eu mais precisei.

A minha amiga Izáira, pelas orações e mensagens de conforto.

A minha amiga e Psicóloga Wilma, pela mudança positiva que causou em minha vida, por me proporcionar o autoconhecimento e com ele melhorar minha visão diante a vida e situações.

A querida Psicóloga Paola, pelo alívio e conforto proporcionado em cada sessão.

Aos meus amigos e companheiros de laboratório Renata e Carlos, que me receberam e sempre estiveram ao meu lado quando eu mais precisava, por compartilharem com muito zelo a bagagem que já tinham, pelos bons momentos fora do laboratório também.

Aos amigos do laboratório Vânia, Thais, Mariana, Tayra, Maiara, e os alunos de Iniciação Científica, Daniela Roxo, Juliana Oriel, Vitor, Victor, Jonas, Victoria, pela ajuda e pelos bons momentos que passamos juntos.

Daniela Roxo, obrigada pela agradável companhia e auxílio durante os experimentos inclusive aos finais de semana e pelos bons momentos fora do laboratório.

A todos os colaboradores da instituição, especialmente a Dona Maria, Rosemira, Rose e Hermes, com os quais tive mais tempo de convivência, pela solicitude diária.



“É muito melhor lançar-se em busca de conquistas grandiosas, mesmo expondo-se ao fracasso, do que alinhar-se com os pobres de espírito, que nem gozam muito nem sofrem muito, porque vivem numa penumbra cinzenta, onde não conhecem nem a vitória, nem a derrota”

Theodore Roosevelt

“Tuas forças naturais, as que estão dentro de ti, serão as que curarão suas doenças”

Hipócrates

# *CAPÍTULO I*

## RESUMO

O diabetes mellitus (DM) é uma desordem metabólica crônica caracterizada por distúrbios no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas, como consequência da deficiência na produção de insulina pelas células beta do pâncreas e/ou ao aumento na resistência à insulina nos tecidos, resultando em hiperglicemia. A manutenção da hiperglicemia por longos períodos participa do estabelecimento de diversos distúrbios no equilíbrio pró-oxidante/antioxidante, os quais levam ao estresse oxidativo, o qual culmina em perda de funcionalidade de biomoléculas e assim participa do estabelecimento das complicações microvasculares e macrovasculares do DM. Para amenizar estas complicações, fármacos anti-hiperglicêmicos têm sido utilizados no tratamento do DM. Contudo, tem sido postulado que mesmo com o controle glicêmico, as complicações do DM ainda podem se desenvolverem em indivíduos diabéticos, via uma condição denominada “memória metabólica”, sendo que o estresse oxidativo participa deste processo. Intervenções terapêuticas complementares à terapia anti-hiperglicêmica para o auxílio na prevenção do progresso das complicações do DM incluem o combate ao estresse oxidativo com produtos naturais. Inúmeros estudos têm demonstrado os efeitos benéficos à saúde da curcumina (diferuloilmetano), pigmento amarelo extraído dos rizomas de *Curcuma longa* L., com ênfase em suas propriedades antioxidantes e anti-hiperglicêmicas. O presente estudo teve o objetivo investigar as mudanças temporais relacionadas ao estresse oxidativo em animais diabéticos e tratados com insulina ou curcumina incorporada ao iogurte. Ratos normais (N) e diabéticos (D, 3 dias após a indução do DM com estreptozotocina, STZ) foram tratados durante 7, 15, 30 e 74 dias. Os grupos: NIOG e DIOG, ratos tratados com iogurte (1 mL/dia); NCUR e DCUR, ratos tratados com curcumina incorporada ao iogurte 90 mg/kg/dia; DINS, ratos tratados com insulina (4U/dia); todos os animais foram tratados com metade das doses de insulina ou curcumina, duas vezes ao dia. Ao final de cada tempo de tratamento, os animais foram pesados, eutanasiados e foram obtidos o plasma e o fígado para as seguintes determinações: (i) glicemia, (ii) marcadores de estresse oxidativo: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS - plasma) e proteínas carboniladas (PCO - fígado); (iii) atividades de enzimas antioxidantes: superóxido dismutase (SOD - fígado), catalase (CAT - fígado) e glutathiona peroxidase (GSH-Px - fígado), paraoxonase (PON1 - plasma); e metabólitos antioxidantes endógenos: grupos sulfidrilas não-proteicos (GSNP - fígado); (iv) marcador de estresse glico-oxidativo:

produtos finais de glicação avançada (AGE - plasma). Aumentos nos níveis plasmáticos de TBARS foram observados precocemente no DM experimental (a partir de 3 dias pós-STZ); diminuição nas defesas antioxidantes também foram observadas em fígado e plasma de animais diabéticos: CAT (a partir de 15 dias de tratamento / 18 dias pós-STZ), SOD, GSH-Px e PON1 (a partir de 30 dias de tratamento / 33 dias pós-STZ) e níveis de GSNP (a partir 30 dias de tratamento / 33 dias pós-STZ). Aumentos nos níveis hepáticos de PCO foram observados a partir de 30 dias de tratamento (33 dias pós-STZ) em animais diabéticos. Em relação ao estresse glico-oxidativo, também foram observados aumentos nos níveis circulantes de AGE em animais diabéticos após 30 dias de tratamento. Ratos diabéticos tratados com curcumina em iogurte (DCUR) apresentaram melhora significativa em todos os parâmetros avaliados, prevenindo tanto a diminuição nas defesas antioxidantes quanto a elevação nos biomarcadores de lesão oxidativa e glico-oxidativa, em comparação aos animais DIOG. Os benefícios observados pelo tratamento com curcumina foram semelhantes aos benefícios promovidos pelo tratamento de ratos diabéticos com insulina (DINS). Os resultados obtidos corroboram os achados de estudos anteriores do nosso laboratório e reforçam a capacidade da curcumina em atenuar o estresse oxidativo em animais diabéticos. O presente estudo evidencia que a curcumina em iogurte é capaz de preservar os sistemas de defesas antioxidantes (plasma e fígado) de animais diabéticos, independente da cronicidade do DM, bem como previne a modificação oxidativa de proteínas hepáticas e reduz a lipoperoxidação. Evidências preliminares também sugerem ser a curcumina incorporada em iogurte benéfica na atenuação das modificações causadas pelo glico-oxidativo. Futuros estudos devem ser realizados com o objetivo de avançar no uso da curcumina como terapia complementar aos fármacos anti-hiperglicêmicos, com o objetivo de atenuar o desenvolvimento das complicações a longo prazo do DM.

**Palavras-chave:** Diabetes mellitus. Estresse oxidativo. Insulina. Curcumina em iogurte.

## ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic disorder characterized by disturbances in the metabolism of carbohydrates, lipids and proteins, as a consequence of the deficiency in the production of insulin by pancreatic beta cells and/or the increase in the insulin resistance in tissues, leading to hyperglycemia. The hyperglycemia maintenance for long periods has been involved in the onset of several disorders in the pro-oxidant / antioxidant balance, which lead to oxidative stress, culminating loss of biomolecule functionality and thus participates in the establishment of microvascular and macrovascular complications of DM. To alleviate these complications, oral antihyperglycemic drugs have been used in the treatment of DM. However, it has been postulated that, even with the effective glycemia control, the complications of DM can still be developed in diabetic individuals, via a condition called “metabolic memory”, having the oxidative stress as a participant. Therapeutic options complementary to the antihyperglycemic therapy to prevent the progression of DM complications include diminishing the oxidative stress with natural products. Numerous studies have demonstrated the beneficial health effects of curcumin (diferuloylmethane), a yellow pigment extracted from the rhizomes of *Curcuma longa* L., with an emphasis on its antioxidant and antihyperglycemic properties. The objective of the present study was to investigate the temporal changes in oxidative stress of diabetic animals and treated with insulin or yoghurt enriched with curcumin. Normal (N) and diabetic rats (D, 3 days after induction of DM with streptozotocin, STZ) were treated at the following periods: 0, 7, 15, 30 and 74 days, according to the following groups: NYOG and DYOG rats, treated with yoghurt (1 mL/day); NCUR and DCUR, rats treated with yoghurt enriched with curcumin, 90 mg/kg/day; DINS, rats treated with insulin (4U/day); all animals were treated with half-doses, twice a day. At the end of each treatment time, the animals were euthanized and plasma and liver were obtained for the following determinations: *(i) Glycemia* *(ii) oxidative stress biomarkers*, thiobarbituric acid reactive substances (TBARS - plasma), carbonyl proteins (PCO - liver); *(iii) activities of antioxidant enzymes and endogenous antioxidant metabolites*, superoxide dismutase (SOD - liver), catalase (CAT - liver), glutathione peroxidase (GSH-Px - liver), non-protein sulfhydryl groups (NPSH - liver), paraoxonase (PON1 - plasma); *(iv) glycative stress biomarker*, fluorescence for advanced glycation end products (AGE - plasma). Increases in plasma levels of TBARS were observed early in the

experimental DM (from 3 days postSTZ). Fall in the antioxidant defenses was also observed in liver and plasma of diabetic rats: CAT (from 15 days of experiment / 18 days post-STZ), SOD, GSH-Px and PON1 (from 30 days of experiment / 33 days post-STZ) and GSNP levels (from 30 days of experiment / 33 days post-STZ). Increases in the hepatic levels of PCO were observed from 30 days of experiment (33 days post-STZ) in diabetic animals. Regarding the glycative stress, increases in the circulating levels of AGE in diabetic animals were also observed after 30 days of experiment. Diabetic rats treated with yoghurt-enriched curcumin (DCUR) showed a significant improvement in all evaluated parameters, preventing both the loss of antioxidant defenses and the elevation in biomarkers of oxidative and glycative lesions, compared with the results of DYOG animals. The benefits observed with the curcumin treatment were very similar to the benefits promoted by the treatment of diabetic rats with insulin (DINS). These data corroborate the findings of previous studies in our laboratory and reinforce the capacity of curcumin to attenuate the oxidative stress in diabetic animals. The present study shows that curcumin in yoghurt is able to preserve the antioxidant defense systems (plasma and liver) of diabetic animals, regardless of the chronicity of DM, as well as prevents the oxidative changes of liver proteins and reduces lipoperoxydation. Preliminary evidences also suggest that curcumin in yoghurt is beneficial in attenuating the changes caused by the glycative stress. Further studies should be carried out with the aim of advance in the use of curcumin as a complementary therapy to antihyperglycemic drugs, attempting to attenuate the onset of the long-term complications of DM.

**Keywords:** Diabetes mellitus. Oxidative stress. Insulin. Curcumin in yoghurt.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Peso corporal (g) de ratos normais e diabéticos não tratados e tratados por 0, 7, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**41**
- Figura 2.** Glicemia (mg/dL) de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina .....**42**
- Figura 3.** TBARS plasmático ( $\mu\text{mol/L}$ ) de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**44**
- Figura 4.** PCO hepático (nmol/mg de proteína) de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**46**
- Figura 5.** Atividade da SOD (U/mg de proteína) em fígado de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**47**
- Figura 6.** Atividade da CAT (mmol/min/mg de proteína) em fígado de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**49**
- Figura 7.** Atividade da GSH-Px (mmol/min/mg de proteína) em fígado de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**50**
- Figura 8.** Concentração de GSNP (mmol/g de tecido) em fígado de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**52**
- Figura 9.** Atividade da PON1 no plasma (U/L) de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**53**
- Figura 10.** Concentração de AGE (UA/ mg de proteína) no plasma de ratos normais e diabéticos tratados por 7, 15, 30 e 74 dias com iogurte, curcumina em iogurte ou insulina.....**54**

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1.** Peso corporal (g) no dia da administração de STZ ou citrato e peso corporal e glicemia (mg/dL) 3 dias após administração de STZ.....**40**
- Tabela 2.** TBARS plasmático ( $\mu\text{mol/L}$ ) de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração de citrato ou SZT.....**43**
- Tabela 3.** PCO hepático (nmol/mg de proteína) de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração de citrato ou STZ.....**44**
- Tabela 4:** Atividade da SOD (U/mg de proteína) em fígado de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração de citrato ou STZ .....**46**
- Tabela 5.** Atividade da CAT (mmol/min/mg de proteína) em fígado de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração de citrato ou STZ .....**48**
- Tabela 6.** Atividade da GSH-Px (mmol/min/mg de proteína) em fígado de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração de citrato ou STZ.....**49**
- Tabela 7.** Concentração de GSNP (mmol/g de tecido) no fígado de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração citrato ou STZ.....**51**
- Tabela 8.** Atividade da PON1 no plasma (U/L) em fígado de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração de citrato ou STZ.....**52**
- Tabela 9.** Níveis de AGE (UA/ mg de proteína) no plasma de ratos normais e diabéticos 3 dias após a administração de citrato ou STZ.....**54**



## LISTA DE ABREVIATURAS

ADA	Associação Americana de Diabetes
AGE	<i>Advanced Glycation End Products (Produtos Finais de Glicação Avançada)</i>
AGL	Ácidos Graxos Livres
AKT	V- akt murine thymoma viral oncogene homolog (Proteína quinase B)
ALT	Alanina Aminotransferase
ALX	Aloxana
ARE	Elemento de Resposta Atioxidante
AST	Aspartato Aminotransferase
CAT	Catalase
DM	Diabetes Mellitus
DNPH	2,4-Dinitrofenilhidrazina
DTNB	5,5-Ditio-2-Nitrobenzoico
EDTA	Ácido Etilenodiamino Tetra-Acético
EPM	Erro Padrão da Média
ERK1/2	Quinases ½ reguladoras de sinal extracelular
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FADH2	Flavina Adenina Dinucleotídeo na Forma Reduzida
G6Pase	Glicose-6-fosfatase
GLUT4	Transportador de Glicose do Tipo 4
GR	Glutathione Redutase
GSNP	Grupos sulfidrilas não protéicos
GSH-Px	Glutathione Peroxidase
GSSH	Glutathione Oxidada
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
IDF	<i>International Diabetes Federation</i> (Federação Internacional de Diabetes)
IRS1	Substrato de receptor de insulina
JKN	Quinase C-JUN N- terminal
Keap1	Kelchi-like EHC associated protein
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
MAPK	Mitogen Activated Protein Kinases (Proteínas Quinases Ativadas por Mitógenos)
MDA	Malondialdeído
MODY	Maturity onset diabetes of the Young

mRNA	RNA mensageiro
NADPH	Adenina Dinucleotídeo Fosfato na Forma Reduzida
NBT	<i>Nitroblue Tetrazolium</i>
NQO	Quinona Oxiredutases
Nrf2	Fator de transcrição nuclear
PCO	Proteínas Carboniladas
PEPCK	Fosfoenolpiruvato Carboxiquinase
PKB	Proteína quinase B
PKC	Proteína quinase C
PON1	Paraoxonase 1
PPAR- $\gamma$	<i>Peroxisome Proliferator-Activated Receptor-<math>\gamma</math></i>
RAGE	Receptor de produtos finais de glicação avançada
SOD	Superóxido Dismutase
STZ	Estreptozotocina
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TNF- $\alpha$	Fator de Necrose Tumoral- $\alpha$
TTGO	Teste de Tolerância à Glicose Oral
TZD	Tiazolidinedionas
VLDL	Lipoproteína de Densidade Muito Baixa

## SUMÁRIO

### CAPÍTULO I

#### RESUMO

#### ABSTRACT

#### LISTA DE FIGURAS

#### LISTA DE TABELAS

#### LISTA DE ABREVIATURAS

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	18
1.1 Diabetes Mellitus.....	218
1.2 DM e estresse oxidativo.....	21
1.3 Memória metabólica.....	28
1.4 Alimentos funcionais.....	30
1.5 Curcumina.....	31
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	34
2.1 Objetivo geral.....	34
2.2 Objetivos específicos.....	34
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	35
3.1 Animais .....	35
3.2 Indução do diabetes mellitus experimental .....	35
3.3 Tratamento de animais normais e diabéticos com iogurte enriquecido com curcumina .....	35
3.4 Metodologias das dosagens bioquímicas.....	36
3.5 Análise Estatística.....	38
<b>4. RESULTADOS</b> .....	39
<b>5. DISCUSSÃO</b> .....	55
<b>6. CONCLUSÃO</b> .....	64
<b>7. REFERÊNCIAS</b> .....	65

#### ANEXOS

### CAPÍTULO II

## INTRODUÇÃO

### 1.1 Diabetes Mellitus

O diabetes mellitus (DM) é uma desordem metabólica crônica, caracterizada por distúrbios no metabolismo de carboidratos, lipídeos e proteínas devido à deficiência na produção de insulina pelo pâncreas e/ou ao aumento na resistência à insulina em determinados tecidos, principalmente no fígado, músculo esquelético e tecido adiposo, causando prejuízos na captação de glicose e aumento na produção hepática do monossacarídeo, resultando em hiperglicemia (OLOFSSON; MARKLUND; BEHNDIG, 2009). Indivíduos diabéticos apresentam risco aumentado de doenças microvasculares, que podem levar à cegueira, amputação de membros inferiores e insuficiência renal, e de doenças macrovasculares, em especial as doenças cardiovasculares (FOWLER, 2008).

A doença afeta milhões de pessoas; dados da Federação Internacional de Diabetes (IDF, *International Diabetes Federation*) mostram que em 2015 a síndrome afetou mais de 415 milhões de indivíduos em todo o mundo, e estima-se que em 2040 este número alcance 642 milhões. O Brasil está entre os dez países com o maior número de pessoas com DM, e entre os países que mais têm despesas com essa patologia (IDF DIABETES ATLAS, 2015).

Nos últimos anos, o DM tem sido reconhecido como um problema de saúde pública mundial. Além dos prejuízos diretos observados em indivíduos devido ao DM, existem vários fatores sociais e econômicos que impactam negativamente na qualidade de vida do paciente com esta síndrome, tais como: incapacidade para desenvolver as atividades diárias, ausências do trabalho e aumento da taxa de mortalidade. Embora a doença seja reconhecida mundialmente, grande parte dos indivíduos com DM não realizam o tratamento adequado, fato este que culmina em diversos riscos e complicações crônicas (BATISTA; MONTEIRO, 2006).

A Associação Americana de Diabetes (ADA) classifica o DM em quatro classes principais: DM tipo 1, DM tipo 2, DM gestacional e outros tipos de DM (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2011).

O DM tipo 1 é caracterizado pela deficiência na produção e secreção de insulina, resultante da destruição autoimune das células beta das ilhotas de Langerhans do pâncreas. Geralmente o surgimento dos sintomas ocorre de forma abrupta, quando 80 a 90% das células beta pancreáticas já estão destruídas (EISENBARTH; BUSE, 2012). Indivíduos com DM tipo 1

usualmente possuem anticorpos anti-ilhota pancreática e tornam-se dependentes de aplicações exógenas de insulina (TANNUS et al., 2007).

O DM tipo 2 é caracterizado pela diminuição da sensibilidade tecidual à insulina (resistência à insulina), que ocorre quando uma concentração normal de insulina tem uma resposta reduzida nos tecidos alvo, como por exemplo em músculo esquelético, tecido adiposo e fígado. Uma deficiência parcial na produção pancreática de insulina também é observada em casos de DM tipo 2. A resistência periférica à insulina pode ser consequência de diferentes alterações: diminuição nos receptores da insulina (IR), redução da afinidade dos IR ao hormônio, redução na ativação de intermediários intracelulares da sinalização insulínica, entre eles o substrato do receptor da insulina (IRS-1) e proteína quinase B (PKB ou AKT) e diminuição na quantidade e/ou na translocação dos transportadores GLUT 4 (MCLELLAN et al., 2007; PRADA; SAAD, 2011).

O DM gestacional é definido como qualquer grau de intolerância à glicose, com início ou primeiro reconhecimento durante a gestação, podendo permanecer ou não após o parto (MARUICHI; AMADEI; ABEL, 2012). Esta definição apresenta algumas limitações, uma vez que gestantes podem ter DM tipo 2 não diagnosticado, antes do início da gestação. Tal conceito foi modificado após o estudo “*Hyperglycemia and Adverse Pregnancy Outcome*” (HAPO), que avaliou mais de 25.000 gestantes e teve como propósito encontrar pontos de corte da glicemia materna associados a eventos perinatais adversos (METZGER et al., 2010).

Os critérios de diagnóstico de DM gestacional foram retificados e a recomendação, desde 2010, de acordo com a *International Association of Diabetes and Pregnancy Study Groups* (IADPSG) é de que gestantes que se enquadrem no diagnóstico padrão de DM tipo 2 na primeira consulta pré-natal sejam diagnosticadas como diabéticas e que sejam adotados novos valores de monitoramento para o diagnóstico de DMG, definidos para o teste oral de tolerância à glicose (TTGO) com o 75 g de glicose e com valores para o diagnóstico paliativo do DM2 de: glicemia de jejum  $\geq 92$  mg/dL, após 1 hora  $\geq 180$  mg/dL e/ou após 2 horas  $\geq 153$  mg/dL, sendo único valor anormal suficiente para o diagnóstico (IADPSG, 2010; METZGER et al., 2010). É aconselhável que mulheres com história de DM gestacional sejam avaliadas em relação à persistência ou não de anormalidades no metabolismo da glicose em 6 a 12 semanas após o parto, seguindo os mesmos critérios diagnósticos de TTGO utilizados fora do período gestacional ou através da glicemia de jejum, sendo que o TTGO considerado o mais sensível.

Se os níveis glicêmicos estiverem normais, a reavaliação pode ser feita a cada 3 anos, caso contrário, anualmente (METZGER et al., 2010).

Assim como o DM tipo 2, o DM gestacional está associado à resistência insulínica e à diminuição da função das células beta pancreáticas. Os principais fatores de risco para desenvolvimento de DM gestacional relacionam-se à idade materna avançada, sobrepeso, obesidade ou ganho de peso em excesso na gravidez, disposição excessiva de gordura corporal central, histórico familiar de DM, crescimento fetal excessivo, polidrâmnio, hipertensão, pré-eclâmpsia, antecedentes obstétricos de abortamentos, malformações e macrossomia, síndrome de ovários policísticos, além de mulheres com estaturas menores que 1,5 m (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016).

Formas menos frequentes do DM pertencem à classificação outros tipos de DM. A manifestação clínica desse grupo é bastante variada, e estão incluídos nessa categoria: defeitos genéticos da função da célula  $\beta$ , defeitos genéticos da ação da insulina, doenças do pâncreas exócrino, endocrinopatias, indução por drogas, fármacos ou produtos químicos, infecções, formas incomuns de diabetes mediado por imunidade, dentre outros (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2016).

Recentemente, tem-se dado ênfase a 2 categorias de tipos específicos de diabetes: diabetes MODY (*Maturity Onset Diabetes of the Young*) e DM de origem mitocondrial. O tipo MODY inclui um grupo heterogêneo de diabetes sem propensão para a cetoadicose e obesidade, com hiperglicemia moderada, início antes dos 25 anos de idade, várias gerações de familiares com diabetes, caracterizando uma herança autossômica dominante. Normalmente, estes pacientes apresentam um defeito na secreção de insulina relacionado a mutações em genes específicos. Sugere-se que este tipo de diabetes seja responsável por cerca de 1 a 5% dos casos de diabetes (FAJANS; BELL; POLONSKY, 2001).

O DM de origem mitocondrial caracteriza-se por ocorrer em indivíduos jovens e sem obesidade. A princípio, a hiperglicemia é leve e pode progredir lentamente para graus mais avançados que necessitam da administração de insulina. Ocorre devido a uma mutação no DNA mitocondrial, interferindo com a produção de energia. Os pacientes usualmente apresentam surdez neurossensorial e distrofia macular e menos frequentemente pode haver miopatia, cardiomiopatia e doença renal (GUILLAUSSEAU et al., 2001).

## 1.2 DM e estresse oxidativo

No DM, a manutenção da hiperglicemia por longos períodos é responsável pelo estabelecimento de diversos distúrbios no equilíbrio pró-oxidante/antioxidante, culminando em diversos efeitos deletérios ao indivíduo, que levam ao estresse oxidativo (ABDOLLAHI et al., 2004; HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010; ACHESON, 2010; BANDEIRA et al., 2013). A geração de espécies reativas de oxigênio (e nitrogênio) de natureza radicalar e não radicalar, é um processo fisiológico e contínuo; tais espécies atuam como mediadores na transferência de elétrons em diversas reações bioquímicas (de forma permanente ou incidental). A instalação do quadro de estresse oxidativo ocorre quando há um desequilíbrio na homeostase entre compostos oxidantes e antioxidantes, podendo ser pela excessiva geração de espécies reativas e/ou por prejuízo na remoção destas espécies. Este evento leva à oxidação de biomoléculas e consequentemente perda da funcionalidade das mesmas (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010).

A cronicidade do processo oxidativo é relevante em diversas condições crônicas, tais como aterosclerose, DM, obesidade, câncer e transtornos neurodegenerativos (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004). A geração de espécies reativas de oxigênio pode ocorrer nas membranas celulares, especialmente nas membranas plasmáticas e mitocondriais; onde íons cobre e de ferro podem favorecer este mecanismo. No entanto, a mitocôndria é a principal fonte geradora de espécies reativas de oxigênio, por meio da cadeia transportadora de elétrons (GREEN; BRAND; MURPHY, 2004). Fisiologicamente, os organismos aeróbios utilizam de 85 a 90% do  $O_2$  na cadeia transportadora de elétrons mitocondrial, que atua como o aceptor final de elétrons. O restante (10-15%) é utilizado principalmente por diferentes enzimas, tais como oxidases e oxigenases, ou por reações químicas de oxidação direta (SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Na cadeia transportadora de elétrons, o  $O_2$  sofre redução tetravalente, aceitando quatro elétrons para a formação de água, um processo mediado pela enzima citocromo oxidase. Contudo, cerca de 2-5% do oxigênio presente na mitocôndria pode ser reduzido de forma univalente, ao entrar em contato com a forma reduzida e radicalares da coenzima Q contendo um elétron desemparelhado ( $CoQH^{\bullet}$ ), formando o ânion radical superóxido ( $O_2^{\bullet-}$ ) (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; KOURY; DONAGELO, 2003; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Com a redução univalente do  $O_2$  e a participação de íons de ferro ou de cobre, também pode ocorrer a geração de radical hidroxila ( $HO^{\bullet}$ ) e de peróxido de hidrogênio

(H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Mesmo sem elétron desemparelhado na última camada eletrônica para caracterizá-lo como um radical livre, o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresenta alto potencial reativo, tal fato se deve por sua participação na geração de HO<sup>•</sup> proporcionando assim ação deletéria ao H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, pois desta forma pode alterar biomoléculas nas proximidades, além de ter capacidade de atravessar as membranas celulares, o que faz do H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> uma molécula altamente tóxica, especialmente na presença de ferro (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; KOURY; DONANGELO, 2003; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

Os íons de ferro e de cobre assumem papel de catalisadores para a geração de espécies reativas, via reações de Fenton e Haber-Weiss, devido à capacidade destes compostos metálicos de sofrerem oxidação-redução. Na reação de Fenton, ocorre a geração do radical OH<sup>•</sup> por meio da reação de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> com os íons ferro ou cobre. Na reação de Haber-Weiss, estes íons catalisam a reação entre o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> e o radical O<sub>2</sub><sup>•-</sup> e geram OH<sup>•</sup> (KOURY; DONANGELO, 2003; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Quando ferro ou cobre se ligam às suas proteínas transportadoras, tais como transferrina ou ceruloplasmina, respectivamente, ou proteínas de estoque como a ferritina, previne-se ou reduz-se a geração destas espécies reativas.

O ferro não ligado à ferritina dissocia-se na forma de íon, tornando-se apto para as reações de oxidação-redução e sucessiva geração de espécies reativas (KOURY; DONANGELO, 2003; WELCH; VAN EDEN; AUST, 2002). As espécies reativas reagem com diversos componentes celulares, especialmente lipídeos, tais como ácidos graxos poli-insaturados, fosfolipídeos e colesterol presentes nas membranas celulares. Os ácidos graxos poliinsaturados presentes nas membranas celulares, quando oxidados, levam à geração de radicais, tais como o alcoxila (LO<sup>•</sup>) e o peroxila (LOO<sup>•</sup>), por meio do processo de peroxidação lipídica ou lipoperoxidação, LPO (FERREIRA; MATSUBARA, 1997).

A LPO leva a danos estruturais das membranas celulares, culminando prejuízos nos mecanismos de troca de metabólitos e, em condições mais extremas, à morte celular (BENZIE, 1996). É possível que a LPO constitua um dos eventos citotóxicos primários que desencadeia diversas lesões celulares. Modificações nas membranas biológicas levam a alterações da permeabilidade, alterando o fluxo iônico e de outros compostos. Estes eventos podem comprometer a seletividade tanto para a entrada quanto para a saída de nutrientes e substâncias tóxicas da célula, favorecer modificações no material genético, promover a oxidação da lipoproteína de densidade baixa (LDL) e levar ao comprometimento de proteoglicanos,



colágeno e elastina, componentes da matriz extracelular (VACA; WILHEM; HARMS-RINGDAHL, 1988; BARBER; HARRIS, 1994).

A LPO pode ocorrer por duas formas distintas nos sistemas biológicos: (i) via enzimática, que envolve as ciclo-oxigenases e lipoxigenases na oxigenação dos ácidos graxos, e (ii) peroxidação não enzimática, com a participação de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, metais de transição (ferro e cobre) e outros radicais livres (AL-MEHDI et al., 1993; PORTER; CALDWELL; MILLS, 1995).

Tem sido postulado que, para ocorrer a oxidação inicial dos ácidos graxos poliinsaturados, faz-se necessário um oxigênio na forma ativada, como por exemplo o oxigênio no estado eletronicamente excitado, o oxigênio singlete ( $^1O_2$ ); o estado fundamental do oxigênio é um estado triplete com dois elétrons não pareados de mesmo spin, mas em diferentes orbitais (DI MASCIIO, 1995).

O radical  $OH^\bullet$  apresenta um elevado potencial reativo, sendo postulado como o principal iniciador do processo de LPO. Este radical também tem a capacidade de agir sobre várias biomoléculas e alterar sua estrutura funcional. Por exemplo, a interação do radical  $OH^\bullet$  com o DNA aumenta a possibilidade de aparecimento de mutações (WELCH; VAN EDEN; AUST, 2002).

As espécies reativas de oxigênio também reagem com outros componentes celulares, tais como proteínas, ácidos nucleicos e carboidratos (ORRENIUS; GOGVADZE; ZHIVOTOVSKY, 2007). Em relação aos danos provocados pelas espécies reativas em proteínas, merecem destaque as alterações oxidativas em resíduos de aminoácidos específicos (arginina, tirosina e triptofano), levando a alterações conformacionais na proteína, bem como fragmentação e desnaturação, com aumento da susceptibilidade à hidrólise. Proteínas com muitos grupos sulfidrilas são mais susceptíveis ao ataque de espécies reativas. A reação de espécies reativas de oxigênio e proteínas pode resultar em alterações estruturais, com consequente diminuição ou perda de sua funcionalidade (CECARINI et al., 2006).

Os antioxidantes podem ser classificados em enzimáticos e não enzimáticos. Dentre os componentes enzimáticos, destacam-se as enzimas superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GSH-Px) e o sistema que utiliza nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato na forma reduzida (NADPH) como coenzima importante da enzima glutationa redutase (GSH-Rd) para promover a regeneração de glutationa reduzida (GSNP) a

partir de glutathiona oxidada (GSSG) (VASCONCELOS et. al., 2007; EBERHARDT, 2001; MACNEE, 2000).

A SOD, uma das principais enzimas de defesa antioxidante, apresenta atividade em vários tecidos, tais como sangue, fígado, cérebro, entre outros. São capazes de catalisar a dismutação do  $O_2^{\cdot-}$  em  $H_2O_2$  e  $O_2$  no estado fundamental, protegendo as células dos efeitos deletérios das espécies reativas de oxigênio (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2010).

Em humanos, foram identificadas três isoformas da SOD, que dependem de metal no sítio ativo: (i) Cu, Zn-SOD citosólica (SOD1): apresenta massa molecular de 32 KDa, composta por duas subunidades idênticas, sua atividade independe de pH na faixa de 5 a 9,5; (ii) Mn-SOD mitocondrial (SOD2): é um homotetrâmero de 96 kDa, contém um átomo de  $Mn^{2+}$  por subunidade; é uma das mais efetivas enzimas antioxidantes; (iii) SOD extracelular (EC-SOD/SOD3): é uma glicoproteína tetramérica que contém  $Cu^{2+}$  e  $Zn^{2+}$ , no sítio ativo, tem alta afinidade por certos glicosaminoglicanos, como a heparina (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004).

As enzimas CAT e GSH-Px atuam impedindo o acúmulo de  $H_2O_2$  e peróxidos orgânicos bem como evitam a ocorrência das reações de Fenton e Haber-Weiss (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). Considerando a reatividade das espécies reativas de oxigênio, é de extrema importância manter os níveis das enzimas antioxidantes com o propósito de promover a manutenção da integridade celular. A GSH-Px existe sob duas formas: dependente e independente de selênio, e podem apresentar-se no citoplasma ou na mitocôndria (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; GREEN et al., 2004). A GSH-Px merece atenção especial, pois sua atuação depende do ciclo redox da glutathiona por meio do controle entre a relação da glutathiona nas formas reduzida e oxidada (FERREIRA; MATSUBARA, 1997; KOURY; DONAGELO, 2003; SCHNEIDER; OLIVEIRA, 2004). No DM, a hiperglicemia crônica participa no estabelecimento do estresse oxidativo, que ocorre em diversos tecidos, especialmente aqueles que captam a glicose de maneira independente de insulina, com destaque para as células renais, da retina, fígado, células beta do pâncreas, células endoteliais, dentre outras. Desta forma, estes tecidos apresentam altas concentrações intracelulares de glicose e paralelas à hiperglicemia (GIACCO; BROWNLEE, 2010; MADONNA; DE CATERINA, 2011).

Este aumento nos níveis intracelulares de glicose contribui para o aumento na produção de espécies reativas de oxigênio, principalmente na dependência dos seguintes mecanismos

(GIACCO; BROWNLEE, 2010; MADONNA; DE CATERINA, 2011): (i) aumento na oferta de substratos para a via glicolítica e ciclo de Krebs, e assim aumento na geração de nicotinamida adenina dinucleotídeo na forma reduzida (NADH) e flavina adenina dinucleotídeo na forma reduzida (FADH<sub>2</sub>), estas em seguida são coenzimas reoxidadas na cadeia transportadora de elétrons, aumentando assim o fluxo de elétrons neste processo, bem como a oxidação de monossacarídeos em reação catalisada por traços de íons de cobre e de ferro; (ii) aumento do fluxo da glicose pela via dos poliois; o O<sub>2</sub><sup>-</sup> estimula a atividade da aldose redutase, aumentando a redução da glicose em sorbitol, diminuindo assim os níveis de NADPH e dificultando a regeneração da GSNP, contribuindo para o aumento estresse oxidativo; (iii) ativação da proteína quinase C (PKC); a conversão de sorbitol em frutose aumenta a relação NADH/NAD<sup>+</sup>, condição favorável para a síntese “de novo” de diacilglicerol, um importante ativador da proteína quinase C (PKC) (DARLEY-USMAR et al., 1995; BROWNLEE, 2005). Quando ativada, a PKC participa no aumento da expressão de genes que contribuem para a patogênese das complicações vasculares (vasculopatias) do DM, aumentando a expressão de componentes que promovem oclusão vascular trombótica, aumento da permeabilidade vascular, inflamação, entre outros.

Estudos têm associado o estresse oxidativo no DM à exposição crônica de tecidos muito vascularizados à hiperglicemia. Além de promover aumento na geração de espécies reativas de oxigênio, a hiperglicemia também interfere negativamente na capacidade antioxidante endógena de indivíduos diabéticos, que reflete em prejuízos na remoção de espécies reativas (SANTINI et al., 1997).

Com o objetivo de entender os mecanismos de interação entre o DM e suas complicações, também tem sido amplamente explorados os produtos finais de glicação avançada (AGE) (GROSSI; GENCO, 1998). A formação de AGE tem início com o processo de glicação não enzimática, especialmente de proteínas, o qual ocorre em duas fases, uma precoce e outra avançada. Na fase precoce, os produtos são instáveis e reversíveis, portanto acredita-se que não há relação dos mesmos com as complicações metabólicas do DM, esses produtos tendem a não se acumularem nos tecidos. Porém, na fase avançada, os AGE formados se ligam irreversivelmente às proteínas teciduais, resultando em seu acúmulo (VLASSARA; BUCALA, 1996). Os AGE também são continuamente formados no organismo de indivíduos saudáveis, desde o período embrionário, acumulando-se com a idade; em indivíduos diabéticos,

devido à alta oferta de glicose circulante, os AGE formam-se de maneira acelerada (MELPOMENI PEPPA; JAIME URIBARRI; HELEN VLASASARA, 2003).

Portanto, uma das consequências da hiperglicemia é a glicação não enzimática das proteínas plasmáticas e celulares, que ocorre via reação entre a glicose e os grupos NH<sub>2</sub> na cadeia lateral de resíduos de lisina das proteínas, que levam à formação de uma base de Schiff, que sofrem rearranjos, originando produtos mais estáveis (cetoaminas), e estas culminam na geração de produtos de glicação precoce ou produtos de Amadori. Os produtos de Amadori têm meia vida curta, e tendem a não se acumularem nos tecidos, logo, estes produtos não devem estar relacionados com complicações microvasculares. Entretanto, a hiperglicemia faz com que os produtos de Amadori sofram reações de fragmentação, oxidação, desidratação, condensação, dando origem aos AGE ou produtos de Maillard que, ao contrário dos produtos precoces, formam ligações cruzadas com as proteínas, o que faz com que os mesmos sejam irreversíveis (VLASSARA; BUCALA, 1996; BIERHAUS et al., 1998; MELPOMENI PEPPA; JAIME URIBARRI; HELEN VLASASARA, 2003).

Outra via de formação de AGE é a via do estresse carbonílico, na qual a oxidação dos lipídeos ou de açúcares gera compostos dicarbonílicos intermediários altamente reativos (HUEBSCHMANN et al., 2006). A formação de AGE pode também ocorrer via intermediários gerados na glicólise ou na auto-oxidação de glicose, produzindo aldeídos, tais como o metilglioxal e o glioxal, que interagem com aminoácidos para a formação de AGE (MEADE; MILLER; GERRARD, 2003).

Outro processo decorrente da formação de AGE é a ligação do mesmo com seu receptor RAGE (receptores de produtos finais de glicação avançada), presentes nas membranas plasmáticas de diferentes tipos celulares, principalmente macrófagos, linfócitos, fibroblastos e células endoteliais, e sua expressão está aumentada em indivíduos diabéticos (BRETT et al., 1993; GOH; COOPER, 2008).

Quando ocorre a ligação AGE-RAGE, os AGE alteram o metabolismo celular e provocam o aumento na geração de radicais de oxigênio, induzindo o estresse oxidativo celular, o qual em partes é responsável por danos vasculares, aumento da expressão da molécula de adesão VCAM-1, capaz de agregar monócitos na parede endotelial e dessa forma aumenta a probabilidade de formação de trombos e aterosclerose (RAMASAMY et al., 2005).

No DM, podemos observar órgãos-alvo onde há maior acúmulo de AGE: rins (MIYATA et al., 1998), vasos retinianos (MURATA et al., 1997) e nervos periféricos (CHEN

et al., 2004). Dentre as vias que levam ao desenvolvimento das lesões vasculares no DM, a geração de AGE é considerada a mais importante.

Em estudo de Dikalov (2011), foi demonstrado que a hiperglicemia acelera o processo de respiração celular, ocasionando um aumento na produção de  $O_2^{\cdot-}$  nas mitocôndrias e maior formação de AGE, que por sua vez, ligam-se aos RAGE de membrana e estimulam ainda mais a formação de  $O_2^{\cdot-}$  e  $H_2O_2$ .

Os AGE podem danificar as células por três mecanismos: (i) modificação de estruturas intracelulares, (ii) interação de AGE com proteínas da matriz extracelular, este mecanismo modifica a sinalização entre matriz e célula, provocando um desequilíbrio, e (iii) modificação de lipídeos e proteínas sanguíneas, as quais se ligadas a receptores específicos, estimulam a produção de citocinas inflamatórias e fatores de crescimento, e podem contribuir assim para a doença cardiovascular. Um estudo realizado por Vlassara et al. (2002), em indivíduos diabéticos e não diabéticos, mostrou que a redução no consumo de AGE na dieta pode ser eficaz na redução da inflamação crônica e na melhora do quadro de estresse oxidativo, portanto este estudo mostra que uma dieta equilibrada promove melhor eficácia concomitante às terapias antidiabéticas.

A glicação não enzimática de proteínas e os radicais lipídicos formados durante a peroxidação lipídica resultam em estresse carbonílico (NIKI et al., 2005).

Em sistemas orgânicos, os aldeídos mais comumente encontrados são: malondialdeído, glioxal, metilglioxal, acroleína, entre outros (LIU et al., 2010).

Sabe-se que os aldeídos derivados de lipídeos têm maior estabilidade em relação aos seus radicais livres precursores, dessa forma, podem atuar como mensageiros tóxicos, quando se difundem a partir do local de peroxidação lipídica, ocasionando a lesão oxidativa (LIU et al., 2010). Aldeídos reativos endógenos podem fazer ligações covalentes com resíduos de lisina, histidina e cisteína e assim formar ligações cruzadas nas proteínas, as quais promovem a lise da estrutura e perda de função da proteína (FRITZ; PETERSEN, 2011). Estas alterações têm como resultado o desencadeamento de modificações moleculares irreversíveis e formação de adutos, nomeados produtos finais de lipoperoxidação avançada (ALE) além dos próprios AGE (NIKI et al., 2005).

### 1.3 Memória metabólica

Vários mecanismos bioquímicos e fatores genéticos estão envolvidos na fisiopatologia do DM e suas complicações, com impactos sobre os programas de transcrição celular em órgãos-alvo, levando à expressão aberrante de genes pró-inflamatórios, pró-apoptóticos e pró-fibróticos (WORONIECKA et al., 2011; FORBES; COOPER, 2013). Tal fato pode ser justificado devido a uma “memória” de exposição prolongada das células às elevadas concentrações de glicose (NATHAN et al., 2005).

A hiperglicemia culmina em aumento nas concentrações intracelulares de glicose em células que captam glicose de maneira independente de insulina, estimulando a superprodução de  $O_2^{\cdot-}$  em nível mitocondrial, principalmente. Esta superprodução de  $O_2^{\cdot-}$  é um dos principais eventos envolvidos na ativação de diversas outras vias envolvidas na patogênese de complicações diabéticas, como por exemplo a via dos polióis, aumento na formação de AGE, ativação da proteína quinase C (PKC) e do fator de transcrição nuclear kappa B (NK- $\kappa$ B) e aumento no fluxo da glicose pela via da hexosamina (NISHIKAWA et al., 2000). Diversas proteínas mitocondriais são alvo de processos glicativos em condições de hiperglicemia, fazendo com que as mitocôndrias aumentem a produção de  $O_2^{\cdot-}$  (NISHIKAWA et al., 2000). No entanto, tem sido observado que, mesmo quando a glicemia em indivíduos com DM é normalizada, as mitocôndrias que tiveram seus componentes glicados continuam a superproduzir  $O_2^{\cdot-}$ , ativando assim os mesmos processos envolvidos na geração das complicações diabéticas. Esta hipótese tem sido denominada de “memória metabólica” (BROWNLEE, 2001).

Dentre os mecanismos que participam do estabelecimento da “memória metabólica”, estudos demonstram que a hiperglicemia crônica é capaz de promover um aumento na acetilação de resíduos de lisina em histonas, uma condição associada ao aumento da transcrição de determinados genes (NISHIKAWA, 2000).

Mecanismos da epigenética envolvem a modificação da expressão gênica e do fenótipo sem causar alteração na sequência de DNA (BIRD, 2007; BONASIO; REINBERG, 2010). Embora diferentes tipos de células de um mesmo indivíduo tenham sequência idêntica de DNA, as modificações epigenéticas, tais como metilação e modificações pós traducionais de proteínas como as histonas contidas na cromatina, são diferentes. Fatores ambientais, tais como infecções e alterações nutricionais, podem promover modificações epigenéticas e predispor indivíduos a doenças (JIRTLE; SKINNER, 2007)

A acetilação de histonas está normalmente associada a genes transcricionalmente ativos, enquanto que a metilação conduz à ativação ou repressão de genes, dependendo do local específico e/ou do nível de metilação (JENUWEIN; ALLIS, 2001; MARTIN; ZHANG, 2005; KOUZARIDES, 2007).

Ensaio clínico e pesquisas em humanos e em modelos animais têm sido realizados para melhor compreender os mecanismos moleculares responsáveis pela “memória metabólica”, a fim de aprimorar os tratamentos para pacientes diabéticos com o intuito de amenizar ou até mesmo prevenir complicações do DM em associação à correção da glicemia (JENUWEIN; ALLIS, 2001; MARTIN; ZHANG, 2005; KOUZARIDES, 2007).

Um estudo clínico realizado no período de 1983 a 1993, conhecido como “*Diabetes Control and Complication Trial*” (DCCT), selecionou indivíduos com DM tipo 1 para o tratamento do diabetes em duas abordagens: (i) tratamento convencional, uma ou duas injeções de insulina/dia, insulina de ação rápida ou intermediária; (ii) tratamento intensivo, três ou mais injeções de insulina/dia ou terapia com bomba de insulina com monitoramento glicêmico. Indivíduos em tratamento convencional mantiveram valores médios de HbA1c de 9,1% ao longo de 6,5 anos, enquanto que indivíduos em tratamento intensivo mantiveram HbA1c de 7,2%. A partir 1993, todos os pacientes, nas abordagens (i) e (ii), foram acompanhados no estudo observacional “*Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications*” (EDIC); a partir deste momento, os pacientes foram orientados a seguir o tratamento intensivo. Nos anos posteriores, os valores médios de HbA1c dos dois grupos de tratamento apresentaram-se iguais. Independente dos valores de HbA1c, nos primeiros 4 anos de continuidade dos pacientes no estudo EDIC, foram observadas menores frequências de complicações crônicas do DM no grupo de indivíduos em tratamento intensivo desde o DCCT, o que demonstrou o efeito duradouro de um bom controle metabólico sobre a evolução das complicações crônicas (NATHAN, 2014).

Em um estudo realizado por Roy et al. (1990), relacionou-se a influência de uma condição de “memória hiperglicêmica” para a superprodução de fibronectina e de colágeno em células endoteliais, mesmo após a normalização da glicose em ratos diabéticos.

Um estudo em cães, realizado por Engerman, kern (1987) para avaliar se a progressão da retinopatia diabética pode ser interrompida quando há o re-estabelecimento da normoglicemia, mostrou que os animais continuaram apresentando complicações de retina mesmo após atingir níveis normais de glicemia.

Kowluru; Abbas; Odenbach (2004) conduziram um estudo com ratos diabéticos (indução com estreptozotocina), sendo divididos em 4 grupos: (i) animais com hiperglicemia não controlada por 13 meses; (ii) animais com hiperglicemia não controlada por 6 meses seguido de controle glicêmico por 7 meses; (iii) animais diabéticos tratados desde o início do experimento; (iv) animais não diabéticos. Os níveis de HbA1c, a LPO e os níveis de GSNP nos animais diabéticos com glicemia controlada logo após indução foram semelhantes aos níveis encontrados em animais normais, porém os animais que tiveram a correção da glicemia tardiamente apresentaram valores alterados de HbA1c, LPO e de GSNP e semelhantes aos animais diabéticos não tratados. Tais evidências sugerem que a hiperglicemia pode deixar uma “memória” em indivíduos que apresentaram condições não controladas de glicemia, favorecendo o desenvolvimento de futuras complicações do DM, mesmo após o controle glicêmico estabelecido.

#### **1.4 Alimentos funcionais**

Na década de 80, o governo japonês estava preocupado com o envelhecimento da população. Com a intenção de melhorar a qualidade de vida da população, o termo “alimento funcional” foi lançado, como o objetivo de se desenvolver alimentos mais saudáveis, que consistiam na incorporação de determinados compostos bioativos em alimentos em pequenas quantidades (SIBBEL, 2007; HENRY, 2010; ZERAIK et al., 2010).

No Brasil, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) considera como alimento funcional, todo aquele alimento ou ingrediente que, além de nutrir, produz efeitos metabólicos e/ou fisiológicos e/ou efeitos benéficos à saúde, e que seja seguro para consumo sem a necessidade de supervisão médica (ANVISA, 1999a). Além disso, inclui o conceito para alegação de propriedade funcional, como aquela relacionada ao papel metabólico ou fisiológico que o nutriente ou não nutriente tem no crescimento, desenvolvimento, manutenção e outras funções normais do organismo humano (ANVISA, 1999a). Essas alegações para determinações de ácidos graxos, carotenoides, fibras alimentares, fitoesteróis, probióticos entre outros, já estão cientificamente aprovadas (BRASIL, 2010).

Diversos estudos evidenciam o papel dos alimentos funcionais e de seus compostos na prevenção e controle de inúmeros problemas de saúde, com objetivo de controlar problemas cardíacos e cardiovasculares (CARDOSO et al., 2013), processos inflamatórios e estresse oxidativo (JACOB et al., 2008). Alimentos funcionais com potencial antihiperglicemiante têm



sido estudados como futura opção para terapias adjuvantes ou complementares para o DM (KARTHIKESAN; PARI; MENON, 2010).

### 1.5 Curcumina

A *Curcuma longa* L. é uma planta pertencente à família Zingiberaceae, popularmente conhecida como açafrão-da-terra, com amplo cultivo em países asiáticos, principalmente Índia e China (AGGARWAL et al., 2007). Dos rizomas do açafrão-da-terra isola-se a curcumina, um polifenol (diferuloilmetano) de coloração amarela.

Inúmeros estudos têm demonstrado os efeitos benéficos da curcumina em diversas patologias, tais como: DM (SRIVIVASAN et al., 2003), câncer (YOUSSEF et al., 2004), mal de Alzheimer (RINGMAN et al., 2005), mal de Parkinson (ZBARSKY et al., 2005), doenças pulmonares (KALPANA; RAJASEKHARAN; MENON, 2005), esclerose múltipla (VERBEEK; VAN TOL; VAN NOORT, 2005), dislipidemia (BABU; SRINIVASAN, 1999), epilepsia (GUPTA; BRIVAL; SHARMA, 2009), doenças renais (KUWABARA et al., 2006), dentre outras (SUETH-SANTIAGO et al., 2015). Possui ainda propriedades antiinflamatória (BALASUBRAMANYAM et al., 2003), antioxidante (FUJISAWA et al., 2004; YOUSSEF et al., 2004; AK; GÜLÇİN, 2008), antibacteriana (NAZ et al., 2010), antiaterogênica (OLSZANECKI et al., 2005), antiparasitária (PÉREZ-ARRIAGA et al., 2006), antifúngica (KIM; CHOE; LEE, 2003), antimalárica (NANDAKUMAR et al., 2006).

Em relação às propriedades antioxidantes, a curcumina age impedindo a LPO, desta forma confere proteção a outras biomoléculas que também são alvo de ataques por peróxidos e radicais lipídicos, como por exemplo o DNA (KUNCHANDY; RAO, 1990). Resultados anteriores de nosso laboratório obtidos nos estudos de Gutierrez et al. (2012) e Arcaro et al. (2014) estimulam a investigação das atividades antidiabética e antioxidante da curcumina em modelo experimental de DM.

Gutierrez et al. (2012) demonstraram que o tratamento de ratos diabéticos (indução por estreptozotocina) com 90 mg/kg de curcumina incorporada em iogurte por 31 dias foi capaz de promover melhoria em diversos parâmetros fisiológicos e bioquímicos classicamente alterados neste modelo experimental de DM. Houve redução significativa nos níveis plasmáticos de glicose, triacilgliceróis, marcadores de dano hepático [aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases], nos níveis urinários de glicose, ureia e proteína, e promoveu aumento no conteúdo de glicogênio hepático. Ratos diabéticos tratados com curcumina também

apresentaram redução na ingestão alimentar e hídrica, no volume urinário e aumento no ganho de peso corporal.

Considerando que um dos problemas associados à curcumina é a sua baixa biodisponibilidade quando administrada oralmente, o estudo de Arcaro et al. (2014) teve como objetivo aumentar a biodisponibilidade da curcumina ao realizar a co-administração com piperina, um alcalóide isolado dos frutos de *Piper nigrum* e que possui atividade *bioenhancer*, via inibição de processos de biotransformação no fígado e intestino. Um dos achados deste estudo foi relacionado ao potencial antioxidante *in vivo* da curcumina em ratos diabéticos: ratos diabéticos tratados durante 45 dias com curcumina incorporada em iogurte apresentaram redução no estresse oxidativo, uma vez que houve um aumento significativo nas atividades hepáticas das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH-Px e nos níveis de GSNP, e houve redução nos níveis de marcadores de lesão oxidativa em lipídeos (substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico, TBARS) e em proteínas (proteínas carboniladas, PCO). A atividade antidiabética da curcumina observada no tratamento por 45 dias foi semelhante aos achados de Gutierrez et al. (2012).

Outro achado deste estudo de Arcaro et al. (2014) trata das consequências da associação de 90 mg/kg de curcumina com piperina (doses de 20 e 40 mg/kg); foi observado que o tratamento de ratos diabéticos com iogurte enriquecido com curcumina e 20 mg/kg de piperina não promoveu alterações nas atividades antidiabética e antioxidante da curcumina. Surpreendentemente, o tratamento de ratos diabéticos com iogurte enriquecido com curcumina e 40 mg/kg de piperina anulou completamente os efeitos benéficos da curcumina, além de causar alterações relacionadas à toxicidade hepática (aumento nos níveis de ALT). Assim, estes achados mostraram que a coadministração de curcumina e a piperina não trouxe qualquer vantagem às ações antidiabéticas e antioxidantes da curcumina, o que nos dá indícios de que tais atividades sejam atribuídas a algum (s) metabólito (s) da curcumina.

Majithiya; Pharm e Balaraman (2005) monitoraram as alterações temporais de parâmetros relacionados ao estresse oxidativo em ratos diabéticos sem tratamento e tratados cronicamente (24 semanas) com 200 mg/kg de curcumina (suspensão em 0,5% de carboximetil celulose). Houve redução na atividade de SOD em rins de ratos diabéticos a partir da 8ª semana de diabetes em relação aos animais normais, redução esta que não foi prevenida pelo tratamento com curcumina. Em relação à CAT, apesar de ser observado um aumento abrupto na atividade da enzima em rins de ratos no início do diabetes (até a 4ª semana), este aumento foi seguido de

uma queda significativa, alcançando valores de atividade de CAT bem menores em comparação aos valores observados em rins de ratos normais, e novamente o tratamento com curcumina não foi capaz de reduzir e/ou prevenir a perda na capacidade antioxidante. Similarmente, os níveis de GSNP também foram significativamente reduzidos em rins de ratos diabéticos (tratados ou não com curcumina) em relação aos animais normais. Mesmo com esta perda na capacidade antioxidante, o aumento nos níveis de TBARS em rins de ratos diabéticos tratados com curcumina foi menor que o aumento observado em ratos diabéticos não tratados, evidenciando que a curcumina apresentou atividade antioxidante *in vivo*, reduzindo a peroxidação lipídica no DM. No entanto, deve-se ressaltar que o tratamento com curcumina em carboximetil- celulose não foi capaz de reduzir a glicemia destes animais, o que talvez explique as diferenças dos achados encontrados neste trabalho em relação aos resultados de Arcaro et al. (2014), que além de encontrarem redução nos marcadores de lesão oxidativa, também encontraram aumento na atividade antioxidante endógena e atividade anti-hiperglicemiante.

## 6. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo corroboram os achados de estudos anteriores do nosso laboratório, onde o tratamento de ratos diabéticos com iogurte enriquecido com curcumina é capaz de prevenir o aumento progressivo nos níveis de glicose plasmática, sem causar hipoglicemia, uma vez que nos animais normais tratados com essa preparação não foi observado nenhum episódio de hipoglicemia. Observou-se também que o iogurte, veículo utilizado para a administração da curcumina, não interfere na glicemia, no ganho ou queda de peso corporal em comparação ao grupo de animais normais. Ratos diabéticos tratados com curcumina não apresentaram a elevação progressiva na glicemia, tal como observado nos animais diabéticos tratados somente com iogurte, evidenciando assim o potencial antidiabético da curcumina em iogurte.

Além disso, animais diabéticos tratados com curcumina apresentaram redução no estresse oxidativo, uma vez que os níveis de biomarcadores de lesão oxidativa foram diminuídos, houve aumento nas atividades / níveis de antioxidantes endógenos, com perfis semelhantes aos apresentados pelos animais diabéticos tratados com insulina, considerado “tratamento padrão” para o DM tipo 1, os quais foram por diversas vezes, semelhantes aos níveis observados nos animais normais. Em síntese, animais diabéticos tratados com curcumina apresentaram: menores níveis em biomarcadores de estresse oxidativo e glicativo; (i) TBARS plasmático, (ii) PCO hepático, (iii) AGE plasmático; maiores atividades de enzimas antioxidantes, (i) SOD, (ii) CAT, (iii) GSH-Px, (iv) PON1 e maiores níveis de GSNP.

Pode ser reconhecida a eficácia da curcumina em iogurte em preservar os sistemas de defesas antioxidantes (no plasma e fígado) de animais diabéticos, e o efeito temporal dos marcadores e em prevenir modificação oxidativa de proteínas hepáticas e a redução da LPO. Evidências preliminares também sugerem que a curcumina seja benéfica na atenuação das modificações causadas pelo estresse glico-oxidativo. Tais resultados indicam que futuros estudos devem ser realizados com o objetivo de avançar no potencial uso da curcumina como terapia complementar aos fármacos antihiperlipidêmicos, com o objetivo de atenuar o desenvolvimento das complicações a longo prazo do DM.

## REFERÊNCIAS

- ABBOTT, C.A.; MACKNESS, M.I.; KUMAR, S.; BOULTON, A.J.; DURRINGTON, P.N. Serum paraoxonase activity, concentration, and phenotype distribution in diabetes mellitus and its relationship to serum lipids and lipoproteins. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, v.15, n.11, p. 1812-1818, 1995.
- ABDOLLAHI, M.; RANJBAR, A.; SHADNIA, S.; NIKFAR, S.; REZAIEE, A. Pesticides and oxidative stress: a review. **Medical Science Monitor Basic Research**, v.10, p.141-7, 2004.
- ACHESON, K. J. Carbohydrate for weight and metabolic control: Where do we stand? **Nutrition**, v.26, p.141-145, 2010.
- AGENCIA NACIONAL DE VIGILANCIA SANITARIA - ANVISA. Alimentos com alegações de propriedades funcionais e ou de saúde, novos alimentos/ingredientes, substâncias bioativas e probióticos. Disponível em: <http://www.anvisa.gov.br/alimentos/comissoes/tecno.htm> < acesso em: 13/01/2017.
- AGGARWAL, B.B.; SUNDARAM, C.; MALANI, N.; ICHIKAWA, H. Curcumin: the Indian solid gold. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, v.595, p.1-75, 2007.
- AK, T.; GÜLÇİN, I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. **ChemicoBiological Interactions**, v.174, p.27-37, 2008.
- AL-MEHDI, A.B.; DODIA, C.; JAIN, M.K.; FISHER, A.B. A phospholipase A 2 inhibitor decreases generation of thiobarbituric acid reactive substance during lung ischemiareperfusion. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Lipids and Lipid Metabolism**, v.1167, n.1, p. 56-62, 1993.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, 33, Supl. 1, p. S62-9, 2011.
- ARAGNO, M.; TAMAGNO, E.; GATTO, V.; BRIGNARDELLO, E.; PAROLA, S.;
- DANNI, O.; BOCCUZZI, G. Dehydroepiandrosterone protects tissues of streptozotocintreated rats against oxidative stress. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 26, n. 11-12, p. 1467-1474, 1999.
- ARCARO, C. A.; GUTIERRES, V. O.; ASSIS, R. P.; MOREIRA, T. F.; COSTA, P. I.; BAVIERA, A. M.; BRUNETTI, I. L. Piperine, a natural bioenhancer, nullifies the antidiabetic and antioxidant activities of curcumin in streptozotocin-diabetic rats. **PLoS One**, v.9, p. e113993, 2014.

ASSIS, R. P.; ARCARO, C. A.; GUTIERRES, V. O.; OLIVEIRA, J. O.; COSTA, P. I.; BAVIERA, A. M.; BRUNETTI, I. L. Combined Effects of Curcumin and Lycopene or Bixin in Yoghurt on Inhibition of LDL Oxidation and Increases in HDL and Paraoxonase Levels in Streptozotocin-Diabetic Rats. **International Journal of molecular Science**, v.18, n.4, p.1-20, 2017.

AVIRAM, M. Introduction to the serial review on paraoxonases, oxidative stress, and cardiovascular diseases. **Free Radical Biology & Medicine Journal**, v. 37, n. 9, p. 13011303, 2004.

BABU, P.S.; SRINIVASAN, K. Renal lesions in streptozotocin-induced diabetic rats maintained on onion and capsaicin containing diets. **Journal of Nutrition Biochemistry**, v.10 p.477-483, 1999.

BALASUBRAMANYAM, M.; KOTESWARI, A. A.; KUMAR, R.S.; MONICKARAI, S..F; MAHESWARI, J.U.; MOHAN, V. Curcumin-induced inhibition of cellular reactive oxygen species generation: Novel therapeutic implications. **Journal of Biosciences**, v. 28 p. 715-721, 2003.

BANDEIRA, S.M; FONSECA, L.J.S; GUEDES, G.S; RABELO, L.A; GOULART, M.O.F.; VASCONCELOS, S.M.L. Oxidative Stress as an Underlying Contributor in the Development of Chronic Complications in Diabetes Mellitus International. **Journal of Molecular Science**, v.14, p.3265-3284, 2013.

BARBER, A.D; HARRIS, S.R. Oxygen free radicals and oxidants: a review. **American Pharmacy**, v.34, n.9, p.26-35, 1994.

BARZEGAR, A.; MOOSAVI-MOVAHEDI, A. A. Intracellular ROS protection efficiency and free radical-scavenging activity of curcumin. **PLoS ONE**, v.6, p.1-7, 2011.

BATISTA, F.; MONTEIRO, A.C. Estudo comparativo entre a sensibilidade protetora dos pés e mãos em portadores de Diabetes Mellitus. **Diabetes Clínica, Atibaia**, v.10, p.206-211, 2006.

BEAUCHAMP, C.; FRIDOVICH, I. Superoxide Dismutase: Improved assays and assay applicable to acrylamide gels. **Analytical Biochemistry**, v.44, p.276-87, 1971.

BEERS, R.F.J.R.; SIZER, I.W. A spectrophotometric method of measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **Journal Biological Chemistry**, v.195, p.133-140, 1952.

BENZIE, I.F.F. Lipid peroxidation: a review of causes, consequences, measurements and dietary influences. **International Journal Food Science & Nutrition**, v.47, p.233-261, 1996.

BIERHAUS, A.; HOFMANN, M. A.; ZIEGLER, R.; NAWROTH, P. P. AGEs and their interaction with AGE-receptors in vascular disease and diabetes mellitus. I. The AGE concept. **Cardiovascular Research**, v.37, n.3, p. 586-600, 1998.

- BILAL, H.M.; RIAZ, F.; MUNIR, K.; SAQIB, A.; SARWAR, M. R. Histological in the liver of diabetics rats: A review oh pathogenesis of nonalcoholic fatty liver disease in type 1 diabetic mellitus. **Endocrinology, Nutrition & Metabolism**, v.3, p.1-9, 2016.
- BIRD, A. Perceptions of epigenetics. **Nature**, v. 447 n. 7143 p. 396-398, 2007.
- BLUM, J.; FRIDOVICH, I. Inactivation of glutathione peroxidase by superoxide radical. **Archives of biochemistry and biophysics**, v.240, n.2, p.500-508, 1985.
- BOLAJOKO, E. B.; MOSSANDA, K. S.; ADENIYI, F.; AKINOSUN, O.; FASANMADE, A.; MORAPANE, M. Antioxidante and oxidant stress status in type 2 diabetic and diabetic foot ulcer. **South African Medicinal Journal**, v. 98, n.8, p. 614-617, 2008.
- BONASIO, R; TU, S.; REINBERG, D. Molecular signals of epigenetic states. **Science, USA**, v. 330, p. 612–616, 2010.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Atenção à Saúde. Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. Gestação de alto risco: manual técnico / Ministério da Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde, Departamento de Ações Programáticas Estratégicas. 5ª ed. Brasília: Ministério da Saúde, 2010. p. 302.
- BRETT, J.; SCHMIDT, A.M.; YAN, S.D.; ZOU, Y.S.; WEIDMAN, E.; PINSKY, D.; NOWYGRAD, R.; NEEPER, M.; PRZYSIECKI, C.; SHAW, A.; MIGHELI, A.; STERN, D.; Survey of the Distribution of a Newly Characterized Receptor for Advanced Glycation End Products in Tissues. **American Journal Pathology**, v.143, n.6, p.1699-1712, 1993.
- BROWNLE, M. The pathobiology of diabetic complications – a unifying mechanism. **Diabetes**, v.56, p.1615-1625, 2005.
- BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, v. 414, p.813–820, 2001.
- BUDAVARI, S.; O'NEIL, M. J.; SMITH, A.; HECKELMAN, P. E.; KINNEARY, J. F. **The Merck Index**: an encyclopedia of chemicals, drugs, and biologicals. 12th ed. New Jersey: Merck, 2006. p. 1208.
- CAI, W.; HE, J. C.; ZHU, L.; CHEN, X.; STRIKER, G. E.; VLASSARA, H. AGE-receptor-1 counteracts cellular oxidant stress induced by AGEs via negative regulation of p66shc-dependent FKHRL1 phosphorylation. **American Physiological Cell Physiology**, v. 294, n.1, p. C-145-152, 2008.
- CARDOSO, G. A.; SALGADO, J. M.; CESAR, M. D. C.; DONADO-PESTANA, C. M. The effects of green tea consumption and resistance training on body composition and resting metabolic rate in overweight or obese women. **Journal of medicinal food**, v.16, p. 120-127, 2013.

CECARINI, V.; GEE, J.; FIORETTI, E.; AMICI, M.; ANGELETTI, M.; ELEUTERI, A. M.; KELLER, J.N. Protein oxidation and cellular homeostasis: Emphasis on metabolism. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1773, n.2, p.93-104, 2006.

CHEN, A. S.; TAGUCHI, T.; SUGIURA, M.; WAKASUGI, Y.; WANG, M. W.; MIWA, I. Pyridoxal- aminoguanidine adduct is more effective than aminoguanidine in preventing neuropathy and cataract in diabetic rats. **Hormone Metabolic Research**, v. 36, n. 3, p. 183187, 2004.

COSTA, L. G.; MCDONALD, B. E.; MURPHY, S. D.; OMENN, G. S.; RICHTER, R. J.; MOTULSKY, A. G.; FURLONG, C. E. Serum Paraoxonase and its influence on paraoxon and chlorpyrifos-oxontocicity in rats. **Toxicology Applied Pharmacology**, v. 103, p.66-76, 1990.  
CUBERO, F. J.; TRAUTWEIN, C. Oxidative Stress and Liver Injury. In: MONGA, S.P.S.; CAGLE, P.T. **Molecular Pathology of Liver Diseases**. New York: springer, 2011. p. 427-435.

DAHL, E. L.; MULCAHY, R.T. Cell-type specific differences in glutamate cysteine ligase transcriptional regulation demonstrate independent subunit control. **Toxicology Sciences**, v. 61, n.2, p. 265-367, 2001.

DARLEY-USMAR, V.; WISEMAN, H.; HALLIWELL, B. Nitric oxide and oxygen radicals: a question of balance. **FEBS letters**, v. 369.2, p. 131-135, 1995.

DE VRIES, H. E.; WITTE, M.; HONDIUS, D.; ROZEMULLER, A. J.; DRUKARCH, B.; HOOZEMANS, J.; VAN HORSSSEN, J. Nrf2-induced antioxidant protection: a promising target to counteract ROS-mediated damage in neurodegenerative disease. **Free Radical Biology & Medicine Journal**, v. 45, n.10, p. 1375-1383, 2008.

DI MASCIO, P.; MEDEIROS, M. H.; BECHARA, E. J. H.; CATALINI, L. H. Singlet molecular oxygen: generation, reactivity, identification and biological effects. **Ciência e Cultura**, v.47, p. 297-313, 1995.

DIKALOV, S. Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases. **Free Radical Biology & Medicine**, v.51, n.7, p. 1289-1301, 2011.

EBERHARDT, M.K. **Reactive oxygen metabolites: chemistry and medical consequences**. Boca Raton, Fl.: CRC Press, 2001. p.280-282



EISENBARTH, G.S.; BUSE, J. B. Type 1 Diabetes Mellitus. In: MELMED, S.; POLONSKY, K. S.; LARSEN, P. R.; RONENBERG, H. M. Editors. **Williams Textbook of Endocrinology**. 12<sup>th</sup>. ed. Philadelphia : Elsevier/Saunders, 2012. p. 1436-1461.

ENGERMAN, R. L; KERN, T.S. Progression of incipient diabetic retinopathy during good glycemic control. **Diabetes**, v. 36, p.808–812, 1987.

EVELSON, P.; SUSEMIHL, C.; VILLARREAL, I.; LLESUY, S.; RODRÍGUEZ, R.; PEREDO, H.; LEMBERG, A.; PERAZZO, J.; FILINGER, E. Hepatic morphological changes and oxidative stress in chronic streptozotocin-diabetic rats. **Annals of Hepatology**, v.4, n. 2, p. 115-120, 2005.

FAJANS, S. S; BELL, G. I; POLONSKY, K. S. Molecular mechanisms and clinical pathophysiology of Maturity-Onset Diabetes of the Young. **New England Journal of Medicine**, v.345, p.971-80, 2001.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista Associação Médica Brasileira**, v. 43 p. 61-8, 1997.

FORBES, J. M; COOPER, M. E. Mechanisms of diabetic complications. **Physiological Reviews**, v.93, p.137–188, 2013.

FOWLER, M. J. Microvascular and Macrovascular Complications of Diabetes. **Clinical Diabetes**, v.26, p.77-82, 2008.

FRITZ, K. S; PETERSEN, D. R. Exploring the Biology of Lipid Peroxidation Derived Protein Carbonylation. **Chemical Research in Toxicology**, v.24, n.9, p.1411-1419, 2011.

FUJII, J.; MYINT, T.; OKADO, A.; KANETO, H.; TANIGUCHI, N. Oxidative stress caused by glycation of Cu, Zn-superoxide dismutase and its effects on intracellular componentes. **Nephrology, Dialysis, Transplantation**, v.11, p. 34-40, 1996.

FUJISAWA, S.; ATSUMI, T.; ISHIHARA, M.; KADOMA, Y. Cytotoxicity, reactive oxygen species-generation activity and radical scavenging activity of curcumin and other related compounds. **Anti-Cancer Research**, v. 24, p. 563-570, 2004.

FUJIWARA, H.; HOSOKAWA, M.; ZHOU, X.; FUJIMOTO, S.; FUKUDA, K.; TOYODA, K.; NISHI, Y.; FUJITA, Y.; YAMADA, K.; YAMADA, Y.; SEINO, Y.; INAGAKI, N. Curcumin inhibits glucose production in isolated mice hepatocytes. **Diabetes Research Clinical Practice**, v. 80, p. 185-191, 2008.

GIACCO, F.; BROWNLEE, M. Oxidative stress and diabetic complications. **Circulation Research**, v.107 p.1058-1070, 2010.

GIROTTI, A.W. Lipid hydroperoxide generation, turnover, and effector action in biological systems. **Lipid Research**, v. 39, p. 1529-1542, 1998.

GOH, S.Y.; COOPER, M.E. Clinical review: The role of advanced glycation end products in progression and complications of diabetes. **Clinical Endocrinology Metabolism**, v.93, n. 4, p. 1143-1152, 2008.

GREEN, K; BRAND, M.D; MURPHY, M.P. Prevention of mitochondrial oxidative damage as a therapeutic strategy in diabetes. **Diabetes**, v.53, p.110-8, 2004.

GRIENDLING, K. K.; ALEXANDER, R. W. Oxidative stress and cardiovascular disease. **Circulation**, v. 96, n.10, p. 3264-3265, 1997.

GROSSI, S.G.; GENCO, R. J. Periodontal disease and diabetes mellitus: a two-way relationship. **Annals of Periodontology**, v.3, p. 51-61, 1998.

GUILLAUSSEAU, P.J.; MASSIN, P.; DUBOIS-LAFORGUE, D.; TIMSIT, J.; VIRALLY, M.; GIN, H.; BERTIN, E. et al. Maternally inherited diabetes and deafness: a multicenter study. **Annals of Internal Medicine**, v.134, p. 721-728, 2001.

GUPTA, Y. K.; BRIVAL, S.; SHARMA, M. Protective effect of curcumin against kainic acid induced seizures and oxidative stress in rats. **Indian Journal Physiology Pharmacology**, v.53, p.39-46, 2009.

GUTIERRES, V.O.; CAMPOS, M.L.; ARCARO, C.A.; ASSIS, R.P.; BALDAN-CIMATTI, H.M.; PECCININI, R.G.; PAULA-GOMES, S.; KETTEHUT, I.C.; BAVIERA, A.M.; BRUNETTI, I.L. Curcumin pharmacokinetic and pharmacodynamic evidences in streptozotocin-diabetic rats support the antidiabetic activity to be via metabolite(s). **Evidence Based Complementary Alternative Medicine**, p.1-13, 2015.

GUTIERRES, V.O.; PINHEIRO, C.M.; ASSIS, R.P.; VENDRAMINI, R.C.; PEPATO, M.T.; BRUNETTI, I. L. Curcumin-supplemented yoghurt improves physiological and biochemical markers of experimental diabetes. **The British Journal of Nutrition**, v.108, p.440-8, 2012.

HALL, M. Carbohydrates. In: ANDERSON, S.C.; COCKAINE, S. **Clinical Chemistry: Concepts and Applications**. New York: McGraw-Hill, 2003. cap. 10, p.153-178.

HALLIWELL, B.; GUTTERRIDGE, J. M. C. **Free radical in Biology and Medicine**. 3<sup>rd</sup>. ed. New York: Oxford Science Publications, 2010.

HENRY, C. J. Functional foods. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 64 n. 7, p. 657–659, 2010.

HUEBSCHMANN, A.G.; REGENSTEINER, J.G.; VLASSARA, H.; REUSCH, J. E. Diabetes and advanced glycoxidation end products. **Diabetes Care**, v.29, n.6, p. 1420-1432, 2006.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, **“IDF Diabetes Atlas,”** 7 ed. Brussels, Belgium, 2015.

JACOB, K.; PERIAGO, M. J.; BÖHM, V.; BERRUEZO, G. R. Influence of lycopene and vitamin C from tomato juice on biomarkers of oxidative stress and inflammation. **British Journal of Nutrition, Cambridge**, v. 99, p.137-146, 2008.

JAIN, S. K. The neonatal erythrocyte and its oxidative susceptibility. **Seminars in Hematology**, v. 26, n.4, p. 286-300, 1989.

JENUWEIN, T.; ALLIS, C. D. Translating the histone code. **Science, USA**, v. 293, n. 5532, p.1074–1080, 2001.

JIANGUO, L.; YOUCAI, T.; QIAOHUA, K.; ANPING, C. Curcumin eliminates the inhibitory effect of advanced glycation end-products (AGEs) on gene expression of AGE receptor-1 in hepatic stellate cells in vitro. **Laboratory Investigation**, v.92, n.6, p. 827841, 2012.

JIMÉNEZ-OSORIO, A. S.; GARCÍA-NIÑO, W. R.; GONZÁLEZ-REYES, S.; ÁLVAREZMEJÍA, A. E. ; GUERRA-LEÓN, S.; SALAZAR-SEGOVIA, J. et al. The Effect of Dietary Supplementation With Curcumin on Redox Status and Nrf2 Activation in Patients With Nondiabetic or Diabetic Proteinuric Chronic Kidney Disease: A Pilot Study. **Journal of Renal Nutrition**, v. 26, n.4, p. 237-244, 2016.

JIRTLE, R. L.; SKINNER, M. K. Environmental epigenomics and disease susceptibility. **Nature Reviews Genetics**, v. 8, p. 253-262, 2007.

JURETIĆ, D.; MOTEJLKOVA, A.; KUNOVIĆ, B.; REKIĆ, B.; FLEGAR-MESTRIĆ, Z.; VUJIĆ, L.; MESIĆ, R.; LUKAC-BAJALO. J.; SIMEON-RUDOLF, V. Paraoxonase/arylesterase in serum of patients with type II diabetes mellitus. **Acta Pharmaceutica**, v.56, p. 59-68, 2006.

KALPANA, C.; RAJASEKHARAN, K. N.; MENON, V. P. Modulatory effects of curcumin and curcumin analog on circulatory lipid profiles during nicotine-induced toxicity in wistar rats. **Journal of Medicinal Food**, v.8, p.246-250, 2005.

KAPPELLE, P.J.; BIJZET, J.; HAZENBERG, B.P.; DULLAART, R.P. Lower serum paraoxonase-1 activity is related to higher serum amyloid a levels in metabolic syndrome.

**Archives of Medical Research**, v.42, p.219-225, 2011.

KARTHIKESAN, K.; PARI, L.; MENON, V. P. Combined treatment of tetrahydrocurcumin and chlorogenic acid exerts potential antihyperglycemic effect on streptozotocina nicotinamide induced diabetic rats. **General Physiology and Biophysics**, v. 29, p. 23-30, 2010.

KENSLER, T.W; WAKABAYASHI, N.; BISWAL, S. Cell survival responses to environmental stresses via the Keap1-Nrf2-ARE pathway. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.47, p.89-116, 2007.

KHAN, N.; BAKSHI, K. S.; JAGGI, A. S.; SINGH, N. Ameliorative potential of spironolactone in diabetes induced hyperalgesia in mice. **Yakugaku Zasshi**, v. 129, p. 593-599, 2009.

KIM, M.; CHOI, G.; LEE, H. S. Fungicidal property of Curcuma longa L. rhizomederived curcumin against phytopathogenic fungi in a greenhouse. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.51, p.1578-1581, 2003.

KLEEMOLA, P. R.; JAUHAINEN, M.; PALHLMAN, R.; ALFTHAN, G. MUTANEN, M. Dietary determinants of serum paraoxonase activity in healthy humans. **Atherosclerosis**, v. 160, n. 2, p. 425-432, 2002.

KORKMAZ-ICÖZ, S.; LEHNER, A.; LI, S.; VATER, A.; RADOVITS, T.; HEGEDŰS, P.; RUPPERT, M.; BRLECIC, P.; ZORN, M; KARCK, M.; SZABÓ, G. Mild Type 2 Diabetes Mellitus Reduces the Susceptibility of the Heart to Ischemia/Reperfusion Injury: Identification of Underlying Gene Expression Changes. **Journal of Diabetes Research**, v.2015, p. 1-16, 2015.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinc, oxidative stress and physical activity. **Revista de Nutrição**. v. 16, n. 4 p. 433-441, 2003.

KOUZARIDES, T. Chromatin modifications and their function. **Cell**, v.128, n. 4, p. 693-705, 2007.

KOWLURU, R. A; ABBAS, S. N; ODENBACH, S. Reversal of hyperglycemia and diabetic nephropathy: effect of reinstatement of good metabolic control on oxidative stress in the kidney of diabetic rats. **Journal Diabetes Complications**, v.18, n. 5, p.282-288, 2004.

KULKA, M. A review of paraoxonase 1 properties and diagnostic applications. **Polish Journal of Veterinary Science**, v. 19, p. 225-232, 2016.

KUNCHANDY, E.; RAO, M. N. A. Oxygen radical scavenging activity of curcumin. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 58, p. 237-240, 1990.

KUWABARA, N.; TAMADA, S.; IWAI, T.; TERAMOTO, K.; YUKIMURA, T.; NAKATANI, T.; MIURA, K. Attenuation of renal fibrosis by curcumin in rat obstructive nephropathy. **Urology**, v. 67 p. 440-446, 2006.

LEE, A. Y; CHUNG, S. S. Contributions of Polyol Pathway to oxidative stress in diabetic cataract. **FASEB Journal**, v.13, n. 1, p. 23-30, 1999.

LEI, X. G.; ZHU, J. H.; CHENG, W. H.; BAO, Y.; HO, Y.S; REDDI, A. R; HOLMGREN, A; AENÉR, E. S. Paradoxical roles of antioxidant enzymes: Basic mechanisms and health implications. **Physiological Reviews**, v. 96, n. 1. p. 307-364, 2016.

LEVINE, R. L.; WILLIAMS, J. A.; STADTMAN, E. R.; SHACTER, E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v.233, p.346-57, 1994.

LIU, Z.; DOU, W.; ZHENG, Y.; WEN, Q.; QIN, M.; WANG, X.; TANG, H.; ZHANG, R.; LV, D.; WANG, J.; ZHAO, S. Curcumin upregulates Nrf2 nuclear translocation and protects

rat hepatic stellate cells against oxidative stress. **Molecular Medicine Reports**, v.13, n. 2, p, 1717-1724, 2015.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N. J.; FARR, A. L.; RANDALL, R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **Journal Biological Chemistry**, v.193, p.265-75, 1951.

LUCCHESI, A. N.; FREITAS, N. T.; CASSETTARI, L. L.; MARQUES, S. F.; SPADELLA, C. T. Diabetes mellitus triggers oxidative stress in the liver of alloxan-treated rats: a mechanism for diabetic chronic liver disease. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.28, p.502-508, 2013.

MACNEE, W. Oxidants/antioxidants and COPD. **Chest Journal**, v.117, p.117303S-17S, 2000.

MADONNA, R.; DE CATERINA, R. Cellular and molecular mechanisms of vascular injury in diabetes--part I: pathways of vascular disease in diabetes. **Vascular Pharmacology**, v.54, p.68-74, 2011.

MAJITHIYA, J. B.; PHARM, M.; BALARAMAN, R. Time-Dependent Changes in Antioxidant Enzymes and Vascular Reactivity of Aorta in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats Treated With Curcumin. **Journal of Cardiovascular Pharmacology**, v.46, p. 687-705, 2005.

MARTIN, C.; ZHANG, Y. The diverse functions of histone lysine methylation. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, v.6, p.838–849, 2005.

MARUICHI, M.D; AMADEI, G; ABEL, M.N. Diabetes Mellitus Gestacional. **Arquivos Médicos dos Hospitais e da Faculdade de Ciências Médicas da Santa Casa de São Paulo**, v.57, p. 124-128, 2012.

MCLELLAN, K. C. P.; BARBALHO, S.M.; CATTALINI, M.; LERARIO, A.C. Diabetes mellitus do tipo 2, síndrome metabólica e modificação no estilo de vida. **Revista de Nutrição**, v. 20, p. 515-524, 2007.

MEADE, S.J.; MILLER, A.G.; GERRARD, J.A. The role of dicarbonyl compounds in nonenzymatic crosslinking: a structure-activity study. **Bioorganic Medicinal Chemistry**, v.11, n.6, p. 853-862, 2003.

MEGHANA, K.; SANJEEV, G.; RAMESH, B. Curcumin prevents streptozotocin-induced islet damage by scavenging free radicals: a prophylactic and protective role. **European Journal of Pharmacology**, v. 577, p.183-191, 2007.

MELPOMENI PEPPA, M. D.; JAIME URIBARRI, M. D.; HELEN VLASSARA, M. D. Glucose, Advanced Glycation End Products, and Diabetes. Complications: What Is New and What Works. **Clinical Diabetes**, v. 21, n. 4, p.186-187, 2003.

METZGER, B.E; GABBE, S.G; PERSSON, B; BUCHANAN, T.A; CATALANO, P.A; DAMM, P; DYER A.R; LEIVA, A; HOD, M; KITZMILER, J.L; LOWE, L.P; MCINTYRE, H.D; OATS, J.J; OMORI, Y; SCHMIDT, M.I. International association of diabetes and pregnancy study group (HAPO)/consensus panel, Recommendations on the Diagnosis and Classification of Hyperglycemia in Pregnancy **Diabetes Care**, v.33, p.676-682, 2010.

MIYATA, T.; UEDA, Y.; HORIE, K.; NANGAKU, M.; TANAKA, S.; DE STRIHO, C.V.Y.; KUROKAWA. Renal catabolism of advanced glycation end products: the fate of pentosidine. **Kidney International**, v. 53, n. 2, p. 416-22, 1998.

MÜNCH, G.; KEIS, R.; WEBELS, A.; BOHNER, P.R.I.; HEIDLAND, A.; NIWA, T.; LEMEKE, H-D.; SCHINZEL, R. Determination of Advanced Glycation End Products in Serum by Fluorescence Spectroscopy and Competitive ELISA). **European Journal of Clinical Chemistry and Clinical Biochemistry**, v.35, p. 669-677, 1997.

MURATA, T.; NAGAI, R.; ISHIBASHI, T.; INOMUTA, H.; IKEDA, K.; HORIUCHE, S. The relationship between accumulation of advanced glycation end products and expression of vascular endothelial growth factor in human diabetic retinas. **Diabetologia**, v. 40, n. 7, p. 7649, 1997.



NA, L.X.; ZHANG, L.Y.; LI, Y.; LIU, Y. L.; LI, R.; KONG.T.; SUN, C. H. Curcumin improves insulin resistance in skeletal muscle of rats. **Nutrition Metabolism and Cardiovascular Disease**, v.21, p.526-33, 2011.

NANDAKUMAR, D. N.; NAGARAI, V. A.; VATHSALA, P. G.; RANGARAJAN, P.; PADMANABAN, G. Curcumin-artemisin combination therapy for malaria. **Antimicrobial Agents and Chemotherapy**, v. 50, p. 1859-1860, 2006.

NATHAN, D. M.; CLEARY, P. A.; BACKLUND, J. Y.; GENUTH, S. M.; LACHIN, J. M.; ORCHARD, T. J.; RASKIN, P.; ZINMAN, B. Intensive diabetes treatment and cardiovascular disease in patients with Type 1 diabetes. **The New England Journal of Medicine**, v.353, p.2643-2653, 2005.

NATHAN, D.M. For the DCCT/EDIC Research Group. The Diabetes Control and Complications Trial/epidemiology of diabetes interventions and complications study at 30 years: overview. **Diabetes Care**, v.37, p. 9-16, 2014.

NAZ, S.; JABEEN, S.; ILYAS, S.; MANZOOR, F.; ASLAM, F.; ALI, A. Antibacterial activity of *Curcuma longa* varieties against different strains of bacteria. **Pakistan Journal of Botany**, v. 42, p. 455-462, 2010.

NEGRE-SALVAYRE, A.; SALVAYRE, R.; AUGÉ, N.; PAMPLONA, R.; PORTERO-OTÍN, M. Hyperglycemia and glycation in diabetic complications. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 11, p. 3071-3109, 2009.

NIKI, E.; YOSHIDA, Y.; SAITO, Y.; NOGUCHI, N. Lipid peroxidation: mechanisms, inhibition, and biological effects. **Biochemical and Biophysical Research Communications**. v.338, n. 1, p. 668-676, 2005.

NISHIKAWA, T.; EDELSTEIN, D.; DU, X. L.; YAMAGISHI, S.; MATSUMURA, T.; KANEDA, Y.; YOREK, M. A.; BEEBE, D.; OATES, P. J.; HAMMES, H. P.; GIARDINO, I.

BROWNLEE, M. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. **Nature**, v.404, p. 787-790, 2000.

OLOFSSON, E. M.; MARKLUND, S. L.; BEHNDIG, A. Enhanced diabetes- induced cataract in copper-zinc superoxide dismutase-null mice. **Investigative Ophthalmology & Visual Science**, v.50 p.2913-8, 2009.

OLSZANECKI, R.; JAWIEN, J.; GAIDA, M.; MATEUSZUK, L.; KORABIOWSKA, M.; CHLOPICKI, S.; KORBUT, R. Effect of curcumin on atherosclerosis in apoE/ LDL-R double knockout mice. **Journal of Physiology and Pharmacology**, v.56, p.627-635, 2005.

OOKAWARA, T.; KAWAMURA, N.; KITAGAWA, Y.; TANIGUCHI, N. Site-specific and random fragmentation of Cu, Zn-superoxide dismutase by glycation reaction. Implication of reactive oxygen species. **Journal of Biological Chemistry**, v. 267, n.26, p. 18505-18510, 1992.

ORRENIUS, S.; GOGVADZE, V.; ZHIVOTOVSKY, B. Mitochondrial oxidative stress: implications for cell death. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v.47, p.143183, 2007.

PENNACCHI, P.C.; DE ALMEIDA, M.E.; GOMES, O.L.; FAIÃO-FLORES, F.; DE ARAÚJO CREPALDI, M.C.; DOS SANTOS M.F.; DE MORAES.; BARROS, S.B.; MARIA-ENGLER, S.S. Glycated Reconstructed Human Skin as a Platform to Study the Pathogenesis of Skin Aging. **Tissue Engineering: Part A**, v. 21, n. 17 -18, p. 24172425, 2015.

PENNATHUR, S.; WAGNER, J. D.; LEEUWENBURGH, C.; LITWAK, K. N.; HEINECKE, J. W. A hydroxyl radical-like species oxidizes cynomolgus monkey artery wall proteins in early diabetic vascular disease. **Clinical Investigation**, v.107, p.853-60, 2001.

PÉREZ-ARRIAGA, L.; MENDOZA-MAGAÑA, M. L.; CORTÉS-ZÁRATE, R.; CORONARIVERA, A.; BOCADILLA-MORALES, L.; TROYO-SANROMÁN, R.;

RAMÍREZHERRERA, M. A. Cytotoxic effect of curcumin on Giardia lamblia trphozoites. **Acta Tropica**, v. 98, p. 152-161, 2006.

PIGEOLET, E.; CORBISIER, P.; HOUBION, A.; LAMBERT, D.; MICHIELS, C.; RAES, M.; ZACHARY, M. D; REMACLE, J. Glutathione peroxidase, superoxide dismutase, and catalase inactivation by peroxides and oxygen derived free radicals. **Mechanisms of Ageing and Development**, v. 51, n. 3, p. 283-297,1990.

PILZ, J.; MEINEKE, I.; GLEITER, C. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high-performance liquid chromatography as the 2,4dinitrophenylhydrazine derivative. **Journal of Chromatography. B: Analytical Technologies in the Biomedical and the Life Sciences**, v.742, p.315-25, 2000.

PORTER, N. A.; CALDWELL, S. E.; MILLS, K. A. Mechanism of free radical oxidation of unsaturated lipids. **Lipids**, v.30, n.4 p.277-290, 1995.

PRADA, P.O; SAAD, M.J.A. Bases moleculares da sinalização da insulina. In: CINTRA, D.E.; ROPELLE, E.R.; PAULI, J.R. **Obesidade e diabetes: fisiopatologia e sinalização celular**. São Paulo: Sarvier, 2011. p.419-425.

RAMASAMY, R.; VANNUCCI, S. J.; YAN, S.S.D.; HEROLD, K.; YAN, S.F.; SCHMIDT, A.M. Advanced glycation end products and RAGE: a common thread in aging, diabetes, neurodegeneration, and inflammation. **Glycobiology**, v.15, n. 7, p. 16R-28R, 2005.

RICHTER, R. J.; JARVIK, G. P.; FURLONG, C. E. Determination of paraoxonase 1 status without the use of toxic organophosphate substrates. **Circulation Cardiovascular Genetics**, v.1, p, 147-152, 2008.

RINGMAN, J.M.; FRAUTSCHY, S.A.; COLE, G.M.; MASTERMAN, D.L.; CUMMINGS, J.L. A potential role of the curry spice curcumin in Alzheimer's disease. **Current Alzheimer Research**, v. 2, p.131-136, 2005.

ROY, S.; SALA, R.; CAGLIERO, E.; LORENZI M. Overexpression of fibronectin induced by diabetes or high glucose: phenomenon with a memory. **Proceedings of the National Academy of Sciences, USA**, v.87, p. 404-408, 1990.

RUSH, J. W.; SANDIFORD, S. D. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. **Clinical Biochemistry**, v.36, n. 5, p.345-51, 2003.

SADI, G.; BOZAN, D.; YILDIZ, H.B. Redox regulation of antioxidante enzymes: Posttranslation modulaiton of catalase and glutathione peroxidase activity resveratrol in diabetic rats liver. **Molecular and Celular Biochemistry**, v. 393, n. 1-2, p. 111-122, 2014.

SAJITHLAL, G.B.; PANDARINATHAN, C.; CHANDRAKASAN, G. Effect of Curcumin on the Advanced Glycation and Cross-linking of Collagen in Diabetic Rats. **Molecular and Cellular Pharmacology**, v. 56, p. 1607-1614, 1998.

SANTINI, S. A.; MARRA, G.; GIARDINA, B.; COTRONEO, P.; MORDENTE, A.; MARTORANA, G. E.; MANTO, A.; GHIRLANDA, G. Defective plasma antioxidant defenses and enhanced susceptibility to lipid peroxidation in uncomplicated IDDM. **Diabetes**, v. 46, n.11, p. 1853-1858, 1997.

SCHNEIDER, C. D.; OLIVEIRA, A. R. Radicais livres de oxigênio e exercício: mecanismos de formação e adaptação ao treinamento físico. **Revista Brasileira de Medicina do Esporte**, v. 10, p. 308-13, 2004.

SEO, K.I.; CHOI, M.S.; JUNG, U.J.; KIM, H.J.; YEO, J.; JEON, S.M.; LEE, M.K. Effect of curcumin supplementation on blood glucose, plasma insulin, and glucose homeostasis related enzyme activities in diabetic db/db mice. **Molecular Nutrition & Food Research**, v.52, p.995-1004, 2008.

SHIMIZU, N.; KOBAYASHI, K.; HAYASHI, K. The reaction of superoxide radical with catalase. Mechanism of the inhibition of catalase by superoxide radical. **Journal of Biological Chemistry** v. 259, n.7, p. 4414-4418, 1984.

SIBBEL, A. The sustainability of functional foods. **Social Science & Medicine**, v. 64, p. 554–561, 2007.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. **Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes**: 2014/2015. Organização José Egídio Paulo de Oliveira e Sérgio Vencio. São Paulo: AC Farmacêutica, 2016.

SRIVIVASAN, A.; MENON, V. P.; PERIASWAMY, V.; RAJASEKARAN, K. N. Protection of pancreatic beta-cell by the potential antioxidant bis-o-hydroxycinnamoyl methane, analogue of natural curcuminoid in experimental diabetes. **Journal Pharmaceutical Sciences**, v. 6 p. 327-333, 2003.

SUETH-SANTIAGO, V.; MENDES-SILVAA, G. P.; DECOTÉ-RICARDO, D.; LIMAA, M. E. F. Curcumina, o pó dourado do açafraão-da-terra: introspecções sobre química e atividades biológicas. **Química Nova**, v. 38, p. 538-552, 2015.

TABATABAIE, T; FLOYD, R.A. Susceptibility of glutathione peroxidase and glutathione reductase to oxidative damage and the protective effect of spin trapping agents. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 314, n.1, p.112-119, 1994.

TANNUS, L. R. M.; OLIVEIRA, D. S.; MATHEUS, A. S.; CUNHA, E. F.; GOMES, M. B. Diabetes mellitus do tipo 1A na primeira infância de gêmeos dizigóticos: associação entre fatores genéticos e ambientais. **Arquivo Brasileiro de Endocrinologia e Metabolismo**, v.51, p.142-145, 2007.

TRINDER, P. Determination of blood glucose using 4-amino phenazone as oxygen acceptor. **Journal Clinical Pathology**, v.22, p.158-161, 1969.

VACA, C.E.; WILHEM, J.; HARMS-RINGDAHL, M.1998. Interaction of lipid peroxidation products with DNA. A review. **Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology**, v. 195, p. 137-149, 1988.

VASCONCELOS, S.M.L.; GOULART, M.O.F.; MOURA, J.B.F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M.S.; KUBOTA, L.T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, v.30.5, p.1323-38, 2007.

VERBEEK, R.; VAN TOL, E. A.; VAN NOORT, J. M. Oral flavonoids delay recovery from experimental autoimmune encephalomyelitis in SJL mice. **Biochemical Pharmacology**, v. 70, p. 220-228, 2005.

VIDELA, A. L. Oxidative stress signaling underlying liver disease and hepatoprotective mechanisms. **World Journal of Hepatology**, v.1, n.1, p. 72-78, 2009.

VLISSARA, H.; BUCALA, R. Recent progress in advanced glycation and diabetic vascular disease: role of advanced glycation end product receptors. **Diabetes**, v. 3, p. 65-66, 1996.

VLISSARA, H.; PALACE, M.R. Diabetes and advanced glycation end products. **Journal Internal Medicine**, v.251, p. 87-101, 2002.

WELCH, K. D.; VAN EDEN, M. E.; AUST, S. D. Modification of ferritin during iron loading. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 3, p. 1999-1006; 2002.

WILMES, A.; CREAN, D.; AYDIN, S.; PFALLER, W.; JENNINGS, P.; LEONARD, M. O. Identification and dissection of the Nrf2 mediated oxidative stress pathway in human renal proximal tubule toxicity. **Toxicology In vitro Journal**, v.25, n.3, p. 613-622, 2011.

WORONIECKA, K. I.; PARK, A. S.; MOHTAT, D.; THOMAS, D. B.; PULLMAN, J. M.; SUSZTAK, K. Transcriptome analysis of human diabetic kidney disease. **Diabetes**, v.60, p.2354–2369, 2011.

YAN, H.; HARDING, J. J. Glycation-induced inactivation and loss of antigenicity of catalase and superoxide dismutase. **Biochemical Journal**, v.328, n.2, p. 599-605, 1997.

YANG, C.; ZHANG, X.; FAN, H.; LIU, Y. Curcumin upregulates transcription factor Nrf2, HO-1 expression and protects rat brains against focal ischemia, **Brain Research**, v.1282, p.133-141, 2009.

YANG, H.; XU, W.; ZHOU, Z.; LIU, J.; LI, X.; CHEN, L.; WENG, J.; YU, Z. Curcumin attenuates urinary excretion of albumin in type II diabetic patients with enhancing nuclear factor erythroid-derived 2-like 2 (Nrf2) system and repressing inflammatory signaling efficacies. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 123, n.6, p.360-367, 2015.

YOUSSEF, K. M.; EL-SHERBENY, M. A.; EL-SHAFIE, F. S.; FARAG, H. A.; AL- DEEB, O. A.; AWADALLA, S. A. Synthesis of curcumin analogues as potencial antioxidant, cancer chemopreventive agents. **Archiv der Pharmazie**, v. 337, p. 42-54, 2004.

ZBARSKY, V.; DATLA, K. P.; PARKAR, S.; RAI, D. K.; ARUOMA, O. I.; DEXTER, D. T. Neuroprotective properties of the natural phenolic antioxidants curcumin and naringenin but not quercetin and fisetin in a 6-OHDA model of Parkinson's disease. **Free Radical Research**, v. 39 p. 1119-1125, 2005.

ZERAIK, M. L.; PEREIRA, C. A. M.; ZUIN, V. G.; YARIWAKE, J. H. Maracujá: um 110 alimento funcional. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20, p. 459- 471, 2010.

ZHAO, S. G.; LI, Q.; LIU, Z. X.; WANG, J. J; WANG, X. X.; QIN, M.; WEN, Q.S. Curcumin attenuates insulin resistance in hepatocytes by inducing Nrf2 nuclear translocation. **Hepato-Gastroenterology**, v. 58, p. 360-367, 2011.

ZILIN, S.; NAIFENG, L.; BICHENG, L.; JIPING, W. The determination of AGE-peptides by flow injection assay, a practical marker of diabetic nephropathy. **Clinica Chimica Acta**, v. 313, p. 69-75, 2001.