



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
FACULDADE DE MEDICINA

Márcia Clélia Leite Marcellino

**Investigação do efeito da *Momordica charantia* L. no controle glicêmico e na renoproteção de ratos com nefropatia diabética submetidos à manobra de isquemia e reperfusão renal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Anestesiologia.

**Orientadora: Profa. Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo**

**Botucatu  
2018**

**Márcia Clélia Leite Marcellino**

**Investigação do efeito da *Momordica charantia* L. no controle glicêmico e na renoproteção de ratos com nefropatia diabética submetidos à manobra da isquemia e reperfusão renal**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de Botucatu, para obtenção do título de Doutora em Anestesiologia.

**Orientadora : Profa.Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo**

Botucatu  
2018

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA SEÇÃO TÊC. AQUIS. TRATAMENTO DA INFORM.  
DIVISÃO TÉCNICA DE BIBLIOTECA E DOCUMENTAÇÃO - CÂMPUS DE BOTUCATU - UNESP  
BIBLIOTECÁRIA RESPONSÁVEL: ROSANGELA APARECIDA LOBO-CRB 8/7500

Marcellino, Márcia Clélia Leite.

Investigação do efeito da *Momordica charantia* L. no controle glicêmico e na renoproteção de ratos com nefropatia diabética submetidos à manobra da isquemia e reperfusão renal / Márcia Clélia Leite Marcellino. - Botucatu, 2018

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho", Faculdade de Medicina de Botucatu  
Orientador: Norma Sueli Pinheiro Módolo  
Capes: 20702043

1. Rins - Doenças - Tratamento. 2. *Momordica charantia*.  
3. Nefropatias diabéticas. 4. Proteinúria. 5. Isquemia.

Palavras-chave: *Momordica charantia* L.; Nefropatia diabética; Renoproteção.

## ***DEDICATÓRIA***

*Aos meus pais, Nelson Marcellino (in memorian) e Maria Geralda Leite Marcellino,  
por serem minha base e apoio nesta jornada de vida.*

*À minha tia, Irmã Marisabel Leite, que foi quem me deu a oportunidade de ser  
professora e me fez acreditar que evoluímos quando superamos desafios, quando  
realizamos nossas ações com esforço, amor e confiança em Deus.*

*Ao meu marido, Márcio Belone, pelo incentivo, pelas cobranças e apoio.*

*Ao meu querido irmão, Jorge Luiz Marcellino e minha cunhada Mariana Theodoro,  
pela torcida e incentivo.*

## ***AGRADECIMENTO ESPECIAL***

*À Profa. Titular Norma Sueli Pinheiro Módolo, minha orientadora, que me acolheu com todo carinho e meu deu suporte em todas as etapas desta pesquisa. Agradeço ter tido a honra de conviver com uma profissional de excelência e ética. Agradeço a Deus colocar “anjos” em minha jornada de vida!*

## *AGRADECIMENTOS*

À Faculdade de Medicina de Botucatu, Unesp, em especial ao Departamento de Anestesiologia, pela excelência no ensino oferecido e pelo incentivo à pesquisa.

À Universidade do Sagrado Coração – USC de Bauru, e à coordenadora do Biotério, Dra. Dulce Helena Jardim Constantino, por alojar os animais e permitir a realização da pesquisa experimental.

Aos funcionários do Centro de Microscopia Eletrônica da Unesp de Botucatu, em especial a Assistente de Suporte Acadêmico II, Claudete dos Santos Tardivo.

A Irmã Luiza Catarina Della Torre, pela prontidão e excelência na correção do projeto escrito.

Às farmacêuticas, Débora Regina Rodrigues de Camargo e Thaís Oliveira Martins Gonçalves, pela participação no procedimento prático.

À biomédica Gabriela de Moraes Oliveira, da Faculdade de Odontologia de Bauru – FOB, pela realização da manobra de isquemia e reperfusão renal.

Às professoras Lídia Raquel de Carvalho, do setor de estatística da UNESP de Botucatu; e Solange de Oliveira Braga Franzolin, da Universidade do Sagrado Coração – USC, pela análise estatística dos dados.

Ao biomédico Jonatas Medeiros de Almeida Angelo, pelo auxílio na confecção dos gráficos.

Em especial, à minha querida amiga Michelle Catarina Pires, que me mostrou o caminho para a realização deste sonho.

Marcellino MCL. Investigação do efeito da *Momordica charantia* L. no controle glicêmico e na renoproteção de ratos com nefropatia diabética submetidos à manobra da isquemia e reperfusão renal [tese]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 2018.

## RESUMO

A nefropatia diabética é fator de risco para aumento da morbimortalidade em pessoas submetidas à cirurgia. A investigação por tratamentos capazes de exercer proteção renal durante procedimentos anestésico- cirúrgicos tornam-se relevantes. Este estudo avaliou a glicemia, a variação ponderal, a concentração sanguínea de ureia e creatinina, a proteinúria, a microscopia eletrônica dos rins com e sem isquemia e reperfusão, e a proteção renal de ratos Wistar com nefropatia diabética experimental, tratados previamente com a infusão dos frutos da *Momordica charantia* L.. Utilizamos 26 ratos Wistar, divididos em: Grupo Controle (n=10); Grupo Diabético sem tratamento (n=8) e Grupo Diabético tratados com *Momordica charantia* L. (n=8). A determinação da glicemia foi feita com glicosímetro e o peso foi mensurado em balança digital no 1º, 15º e 30º dia de experimentação. A dosagem da proteinúria foi feita em urina de 24 horas. Previamente a eutanásia, foi realizada a manobra da isquemia por 30 minutos, seguida da reperfusão por 15 minutos, no rim esquerdo, simulando a lesão renal ocorrida em cirurgias. Os rins isquêmicos e não isquêmicos foram encaminhados para microscopia eletrônica. A obtenção do sangue para dosagem de ureia e creatinina foi feita por punção cardíaca. Os resultados obtidos evidenciaram redução significativa da glicemia ( $p < 0,001$ - Teste Friedman  $p < 0,05$ ) no 15º dia, nos animais diabéticos tratados com a planta. Não foram evidenciadas alterações significativas no peso dos animais. A *Momordica charantia* L. reduziu significativamente a concentração de creatinina ( $p = 0,022$  – Teste *T-Student*  $p < 0,05$ ) e a proteinúria ( $p < 0,001$  – Teste *T-Student*  $p < 0,05$ ), mas não interferiu na uremia dos animais diabéticos. Na microscopia eletrônica evidenciou-se nos rins isquêmicos e não isquêmicos do grupo diabético tratado, a preservação da membrana basal, podócitos e pedicelos. Estas estruturas foram lesionadas no grupo diabético sem tratamento. Conclui-se que a *Momordica charantia* L. mostrou-se eficaz na redução da glicemia, no 15º dia de experimentação, onde a presença de células beta remanescentes ao efeito citotóxico da Aloxana permitiu a atuação dos compostos hipoglicemiantes da planta; reduziu a creatinina e a proteinúria em relação ao grupo diabético sem tratamento e preservou a integridade de estruturas glomerulares, sugerindo renoproteção frente à hiperglicemia persistente e à manobra de isquemia e reperfusão renal.

**Palavras-chave:** *Momordica charantia* L; Nefropatia diabética; Renoproteção.

Marcellino MCL. Investigation of the effect of *Momordica charantia* L. on glycemic control and renoprotection of rats with diabetic nephropathy submitted to renal ischemia and reperfusion maneuvers. [Ph.D. thesis]. Botucatu: Medical School (Unesp); 2018.

## ABSTRACT

Diabetic nephropathy is a risk factor for increased morbidity and mortality in people undergoing surgery. The investigation of treatments capable of exerting renal protection during anesthetic-surgical procedures becomes relevant. Diabetic nephropathy is a risk factor for increased morbidity and mortality in people undergoing surgery. The investigation of treatments capable of exerting renal protection during anesthetic-surgical procedures becomes relevant. This study evaluated glycemia, weight variation, blood urea and creatinine concentration, proteinuria, electron microscopy of the kidneys with and without ischemia and reperfusion, and renal protection of Wistar rats with experimental diabetic nephropathy, previously treated with the infusion of the fruits of *Momordica charantia* L. We used 26 Wistar rats, divided into: Control Group (n = 10); Untreated Diabetic Group (n = 8) and Diabetic Group treated with *Momordica charantia* L. (n = 8). The determination of glycemia was done with glycosimetre and the weight was measured in digital scale on the 1st, 15<sup>th</sup> and 30<sup>th</sup> day of experimentation. The proteinuria was measured in 24-hour urine. Before euthanasia, the maneuver of the ischemia was performed for 30 minutes, followed by reperfusion for 15 minutes in the left kidney, simulating the renal injury that occurred in surgeries. The ischemic and non-ischemic kidneys were referred for electron microscopy. The blood obtained for urea and creatinine dosing was done by cardiac puncture. The results obtained evidenced a significant reduction of glycemia (p <0.001 Friedman test p <0.05) on the 15th day, in the diabetic animals treated with the plant. No significant changes were observed in the weight of the animals. *Momordica charantia* L. significantly reduced creatinine concentration (p = 0.022 - Student's T-test p <0.05) and proteinuria (p <0.001 - Student's T-test p <0.05) but did not interfere with uremia of diabetic animals. Electron microscopy revealed preservation of the basement membrane, podocytes and pedicels in the ischemic and non-ischemic kidneys of the treated diabetic group. These structures were injured in the diabetic group without treatment. It was concluded that *Momordica charantia* L. was effective in the reduction of glycemia, on the 15th day of experimentation, where the presence of beta cells remaining to the cytotoxic effect of Aloxana allowed the performance of the hypoglycemic compounds of the plant; reduced creatinine and proteinuria in relation to the untreated diabetic group and preserved the integrity of glomerular structures, suggesting renoprotection against persistent hyperglycemia and renal ischemia and reperfusion maneuver.

**Keywords:** Diabetic nephropathy; *Momordica charantia* L .. Renoprotection.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b>	Mediana, 1 <sup>o</sup> e 3 <sup>o</sup> quartil, referentes à glicemia segundo momento (Teste de Friedman, $p < 0,05$ ) e grupos (Teste de Kruskal-Wallis.....	38
<b>Tabela 2</b>	Média e desvio-padrão referentes ao peso (gramas) nos grupos de experimento. Teste <i>T-Student</i> .....	40
<b>Tabela 3</b>	Média e desvio-padrão referentes a concentração sanguínea de ureia (mg/dL) nos grupos de experimento....	41
<b>Tabela 4</b>	Média e desvio-padrão referentes aos níveis séricos de creatinina (mg/dL) nos grupos de experimento.....	42
<b>Tabela 5</b>	Média e desvio padrão da proteinúria (g/24 horas) dos grupos de experimento.....	43

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b>	Produção de produtos finais de glicação avançada (AGE's) e suas consequências patológicas.....	13
<b>Figura 2</b>	Via do poliol.....	14
<b>Figura 3</b>	Microscopia eletrônica da Membrana Basal Glomerular (MBG) e podócitos.....	17
<b>Figura 4</b>	Cortes histológicos do corpúsculo renal.....	18
<b>Figura 5</b>	Organograma da estratégia terapêutica para impedir a evolução da doença renal crônica em indivíduos diabéticos.....	26
<b>Figura 6</b>	Folhas, frutos, flores e sementes da <i>Momordica charantia</i> L.....	28
<b>Figura 7</b>	Etapas da coleta de urina, exame de proteinúria e determinação do volume urinário.....	32
<b>Figura 8</b>	Etapas da preparação da infusão dos frutos da <i>Momordica charantia</i> L.....	33
<b>Figura 9</b>	Pesagem do rato.....	34
<b>Figura 10</b>	Aplicação do clampe microcirúrgico (seta) para oclusão da artéria renal.....	35
<b>Figura 11</b>	Etapas da microscopia eletrônica.....	37
<b>Figura 12</b>	Comparação da média da glicemia no primeiro, décimo quinto e trigésimo dia do experimento, em ambos os grupos.....	39
<b>Figura 13</b>	Comparação das médias e desvio-padrão do peso para os grupos no 1º, 15º e 30º dia de experimentação.....	40
<b>Figura 14</b>	Comparação das médias de ureia no sangue em ambos os grupos.....	41
<b>Figura 15</b>	Valores da creatinina plasmática (média e desvio padrão) segundo os grupos.....	42
<b>Figura 16</b>	Médias e desvio padrão de proteinúria em urina de 24 horas.....	43
<b>Figura 17</b>	Microscopia eletrônica do glomérulo grupo controle.....	44
<b>Figura 18</b>	Microscopia eletrônica do glomérulo grupo diabético sem tratamento.....	45
<b>Figura 19</b>	Microscopia eletrônica do glomérulo grupo diabético com tratamento.....	45

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	11
1.1 Considerações gerais sobre Diabetes Mellitus e suas complicações.....	11
1.2 Vias metabólicas implicadas nos efeitos deletérios da hiperglicemia....	12
1.2.1 <i>Produtos finais da glicação não enzimática</i> .....	12
1.2.2 <i>Hiperglicemia intracelular e distúrbio na via do poliol</i> .....	14
1.2.3 <i>Ativação da proteína quinase C</i> .....	15
1.3 Nefropatia diabética.....	16
1.3.1 <i>Nefropatia diabética e risco de doença cardiovascular</i> .....	19
1.3.2 <i>Riscos da cirurgia para portadores de nefropatia diabética</i> .....	20
1.3.3 <i>Nefropatia diabética experimental</i> .....	24
1.3.4 <i>Manobra da isquemia e reperfusão renal</i> .....	24
1.4 Uso de plantas medicinais com potencial de renoproteção.....	25
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	30
2.1 Objetivos Gerais.....	30
2.2 Objetivos Específicos.....	30
<b>3 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	31
3.1 Amostra.....	31
3.2 Indução do diabetes com Aloxano.....	31
3.3 Avaliação da excreção urinária de proteínas com tiras reagente.....	31
3.4 Etapas de preparo da infusão dos frutos da <i>Momordica charantia</i> L.....	32
3.5 Pesagem dos animais.....	33
3.6 Manobra da isquemia e reperfusão renal.....	34
3.7 Eutanásia dos animais e coleta do sangue.....	34
3.8 Microscopia eletrônica do rim.....	35
3.8.1 <i>Exame histológico ao microscópio eletrônico – preparo dos rins</i> .....	35
3.9 Análise estatística.....	37
<b>4 RESULTADOS</b> .....	38
4.1 Valores da Glicemia.....	38
4.2 Variação Ponderal.....	40
4.3 Ureia.....	42
4.4 Creatinina.....	40
4.5 Excreção Urinária de Proteínas.....	43
4.6 Microscopia Eletrônica.....	44
<b>5 DISCUSSÃO</b> .....	46
5.1 Variações da Glicemia e do Peso.....	46
5.2 Concentração Sanguínea de Ureia.....	50
5.3 Concentração Sanguínea de Creatinina.....	51
5.4 Microscopia Eletrônica e Excreção Urinária de Proteínas.....	53

<b>6 CONCLUSÃO</b> .....	56
<b>7 REFERÊNCIAS</b> .....	57
<b>ANEXO</b> – Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais para a realização da pesquisa.....	67

## 1 INTRODUÇÃO

### 1.1 Considerações gerais sobre Diabetes Mellitus e suas complicações

Diabetes Mellitus (DM) corresponde a um conjunto de distúrbios metabólicos que compartilham a hiperglicemia como característica principal. Esta condição está associada ao defeito na secreção ou na ação do hormônio insulina. A hiperglicemia frequente e toda a alteração metabólica ocasionada associam-se à manifestação de lesões em múltiplos órgãos, especialmente nos olhos, nervos, vasos sanguíneos e rins (KUMAR et al., 2010).

Atualmente mais de 180 milhões de indivíduos foram diagnosticados com DM e a projeção para novos casos no mundo é de 300 milhões de novos portadores para 2030. No Brasil, o censo realizado em 2010 apontava 128 milhões de adultos diabéticos, representando uma população atual de 17 milhões de indivíduos com esta enfermidade. Esta realidade ressalva a necessidade urgente da sua prevenção globalmente (BOSI, 2009).

As complicações decorrentes do DM se tornam onerosas para o portador, seus familiares e para o sistema de saúde, que disponibiliza em média 2,5% a 15% do orçamento anual de saúde de um país para o tratamento desta condição clínica (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2013).

Os diabéticos apresentam uma condição crônica e, conseqüentemente, complicações microvasculares, macrovasculares e neuropáticas crônicas (WELLS et al., 2006). A lesão dos pequenos vasos está associada ao surgimento da nefropatia e retinopatia diabética. De acordo com as Diretrizes da Prática Clínica e Recomendações Práticas Clínicas para Diabetes e Doença Renal Crônica - KDIGO (2012), o diabetes é a principal causa de insuficiência renal em todo o mundo. Da mesma forma a retinopatia representa a principal causa mundial de cegueira e sua prevalência aumenta de acordo com a duração do diabetes, falta de controle glicêmico, tipo de diabetes e associação com outras condições clínicas agravantes, como dislipidemia, hipertensão arterial, tabagismo, gravidez e nefropatia (DAVIS et al., 1998; ZHANG et al, 2010).

Para Kumar et al. (2010) a morbidade associada a manifestação da hiperglicemia em ambos os tipos de diabetes (tipo I e II) é provocada por lesões envolvendo as artérias musculares de médio e grande calibre (doença macrovascular) e também por sérias disfunções em órgãos específicos (doença microvascular). Quanto às complicações microvasculares, haverá comprometimento da retina, dos nervos periféricos e rins, conforme já mencionado anteriormente, enquanto que a complicação macrovascular associa-se à manifestação de aterosclerose, maior risco de infarto do miocárdio e gangrena das extremidades inferiores do corpo. Os mesmos autores ressaltam que estas complicações vasculares estão correlacionadas a três distintas vias associadas aos efeitos deletérios da hiperglicemia persistente.

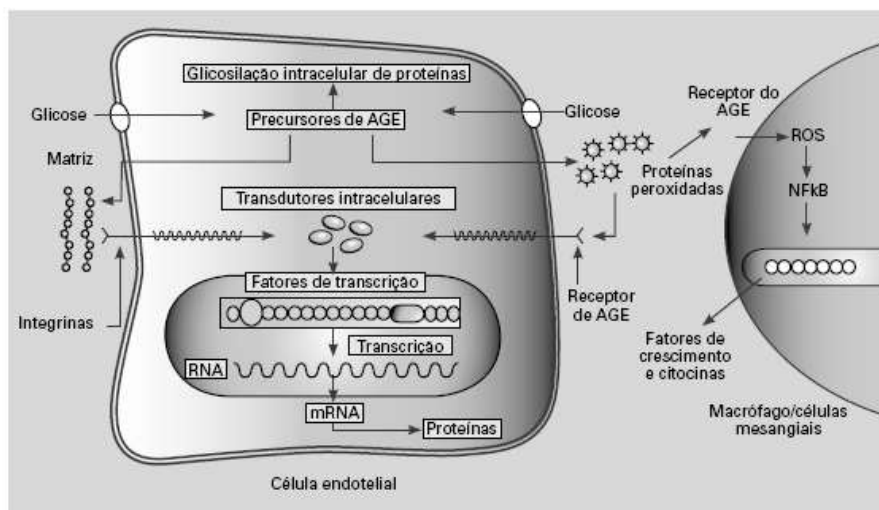
## **1.2 Vias metabólicas implicadas nos efeitos deletérios da hiperglicemia**

### *1.2.1 Produtos finais da glicação não enzimática*

Glicação não enzimática corresponde a uma complexa cascata de reações onde a associação do grupamento carbonilo (aldeído) da glicose com o grupamento amina (NH<sub>2</sub>) das proteínas situadas na parede vascular, dão origem as Bases de Schiff, que serão modificadas gerando compostos residuais heterogêneos e lesivos, chamados de produtos finais da glicação não enzimática (AGEs) (TAN et al., 2007; BUSCH et al., 2010).

Os AGEs são predominantemente endógenos, no entanto, podem ser incorporados no organismo por fontes exógenas, ou seja, através da ingestão de certos alimentos ou mesmo pelo fumo do tabaco (LESLIE et al., 2003). Alimentos ricos em lipídios e que são expostos a elevadas temperaturas e muita umidade podem gerar AGEs, dos quais 50 a 80% serão absorvidos pela mucosa intestinal e representam desta forma a principal fonte exógena (GOLDBERG et al., 2004; FORSTER et al., 2005). Na combustão do tabaco, espécies reativas de AGEs são volatizadas e absorvidas pelos pulmões, onde posteriormente passam a interagir com proteínas séricas (VLASSARA e PALACE, 2002). Os AGEs endógenos, como aqueles derivados da dieta, são excretados pela urina onde sua participação nas complicações renais típicas da nefropatia diabética (VLASSARA, 2005).

Fibras musculares lisas da parede vascular, macrófagos, células endoteliais, podócitos, células mesangiais e células epiteliais apresentam em sua membrana receptores para os AGEs, classificados como RAGEs. Estes se associam aos AGEs, ativando vias de sinalização intracelular que promovem efeitos deletérios: 1) liberação de citocinas e fatores de crescimento pró-inflamatórios por macrófagos; 2) formação de espécies reativas de oxigênio ou radicais livres; 3) desperta atividade pró-coagulatória nas células endoteliais e 4) proliferação de fibra lisas e de matriz extracelular. Todos estes eventos evoluem para lesão microvascular típica em diabéticos (KUMAR et al., 2010). A figura 1 ilustra a sequência das reações ocorridas na formação dos AGEs e sua conexão com os RAGEs.

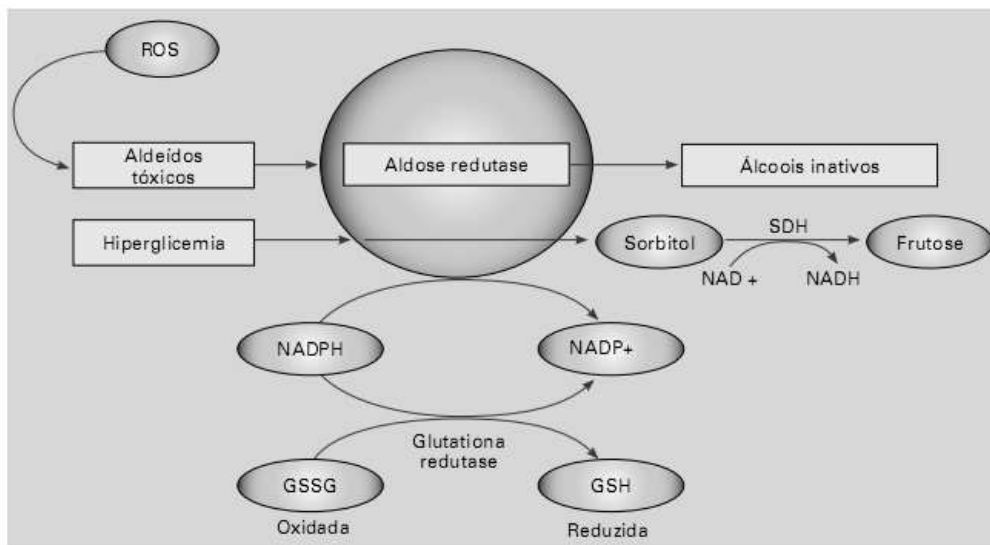


**Figura 1** - Produção de produtos finais de glicação avançada (adaptada de BROWNLE, 2001).

O bloqueio dos RAGEs representa estratégias terapêuticas na tentativa de reduzir os efeitos deletérios decorrentes dos AGEs. Estudos sugerem que algumas drogas parecem apresentar esta capacidade onde se destaca a aminoguanidina, que foi um dos protótipos testados nesta inibição, além de fármacos já prescritos para diabéticos como metformina; e para hipertensão arterial ou nefropatia diabética, como os inibidores da enzima conversora de angiotensina e bloqueadores dos receptores de angiotensina II (SOURRIS et al., 2009; FLYYBJERG et al., 2004).

1.2.2 *Hiperglicemia intracelular e distúrbio na via do poliol*

Na hiperglicemia, órgãos que não dependem da sinalização da insulina para obter glicose, como nervos, rins e vasos sanguíneos, irão receber grande demanda deste monossacarídeo derivada da corrente sanguínea. (KUMAR et al., 2010). O meio intracelular ficará com elevado nível de glicose, o que dará início a ativação da enzima aldolase redutase, sendo esta a primeira enzima a participar da via do poliol. Sua função será reduzir a glicose transformando-a em sorbitol (poliol) que posteriormente poderá ser convertida em frutose pela enzima sorbitol desidrogenase. A ativação da enzima aldolase redutase dependerá do cofator NADPH (fornece H<sup>+</sup> para ativação da enzima) enquanto que a enzima sorbitol desidrogenase será ativada pelo cofator NAD (que oxida liberando H<sup>+</sup> que torna a enzima ativa) conforme esquema apresentado na figura 2 (RAMANA et al., 2005; CHUNG et al., 2003).



**Figura 2** - Via do poliol (adaptada de REIS et al., 2008).

No diabetes não controlado, onde a hiperglicemia é persistente, a ativação da enzima aldolase redutase acaba desviando quantidade significativa de NADPH para sua ativação, e com isto compromete a ativação da enzima celular glutathiona redutase, que exerce função protetora nas células. Esta enzima reduz a glutathiona dissulfeto (GSSG) para a forma sulfidril (GSH), que é um importante antioxidante intracelular. Outro fator

lesivo corresponde ao aumento da osmolaridade intracelular decorrente do acúmulo de sorbitol e frutose. O meio hipertônico desloca água para o meio intracelular, comprometendo desta forma, a integridade das células que constituem órgãos “alvo” das complicações do diabetes (REIS et al., 2008).

### *1.2.3 Ativação da proteína C quinase*

A proteína C quinase participa da via de transdução de sinal intracelular onde fosforila várias proteínas alvo envolvidas neste mecanismo. Sua ativação promove vários efeitos nos vasos sanguíneos, com regulação do fluxo sanguíneo e da contratilidade vascular; proliferação de células da parede vascular assim como regulação da sua permeabilidade. (GERALDES; KING, 2010). Em condições normais, a ativação da proteína C quinase é feita pela liberação de íons cálcio e pelo segundo mensageiro diacilglicerol (DAG), no entanto, na hiperglicemia intracelular haverá aumento na formação de DAG e conseqüente ativação exagerada desta proteína. De maneira objetiva, a hiperglicemia potencializa a ativação da proteína C quinase, resultando em eventos nocivos no diabetes: 1) redução na produção do óxido nítrico; 2) aumento na produção de prostaglandinas E2, endotelina-1 e tromboxano A2; 3) indução na expressão de fatores de crescimento, principalmente o fator de crescimento endotelial vascular; 4) acúmulo de matriz extracelular, fibronectina e colágeno tipo IV na parede vascular; 5) produção de citocinas pró-inflamatórias pelo endotélio vascular, entre outras. Desta forma, a ativação exagerada da proteína C quinase nos diabéticos contribui para as complicações em longo prazo da microangiopatia diabética (KUMAR et al., 2010; GERALDES; KING, 2010).

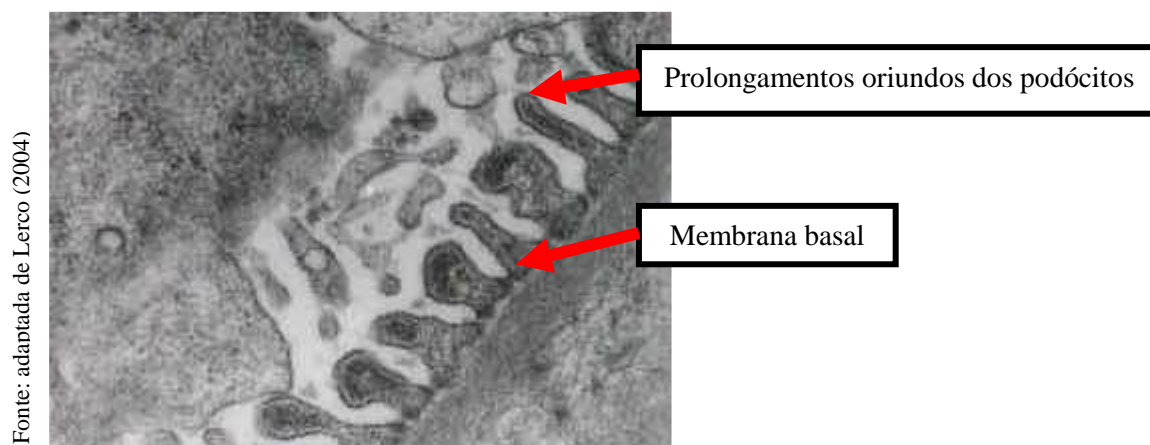
## **1.3 Nefropatia diabética**

A nefropatia diabética é uma das mais relevantes complicações decorrentes da hiperglicemia persistente que ocorre no diabetes. Na última década representou a principal causa de doença renal terminal no mundo ocidental, no entanto, de forma antagonica, dados mais atuais apontam para mudanças gradativas nesta estimativa. Na população diabética tem sido observada uma tendência à diminuição da doença renal

terminal, sugerindo que os atuais esforços na sua prevenção possam ser bem sucedidos (BURROWS et al., 2010). De acordo com Schrijvers et al. (2004), 15% a 25% dos diabéticos do tipo I apresentam nefropatia diabética, enquanto que este percentual é de 30% a 40% para diabéticos do tipo II.

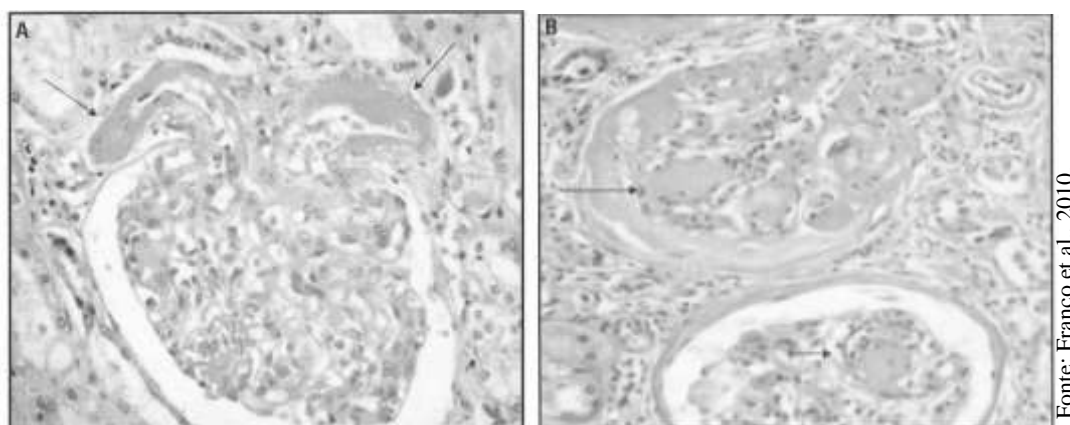
Para Wells et al. (2006), o termo doença renal crônica indica a perda progressiva da função renal e que se estende por meses ou anos. É caracterizada pela substituição gradual da arquitetura normal dos rins pelo desenvolvimento de fibrose intersticial. As alterações metabólicas decorrentes da hiperglicemia persistente afetam os glomérulos renais promovendo expansão mesangial e espessamento da membrana basal glomerular (MBG). Estas alterações se manifestam geralmente após 10 anos do diagnóstico do diabetes (LERCO, 2004).

Cada rim apresenta em média 600 a 800 mil néfrons que representam a unidade funcional deste órgão, sendo composto por uma parte dilatada classificada corpúsculo de Malpighi e pelo túbulo nefrótico. O glomérulo faz parte do corpúsculo de Malpighi, apresentando 200  $\mu\text{m}$  de diâmetro. No seu interior encontra-se o tufo de capilares glomerulares que é envolvido pela cápsula de Bowmann. Esta apresenta dois folhetos: o folheto interno ou visceral, composto por células chamadas de podócitos e folheto externo ou parietal, constituído por células epiteliais que se apoiam numa lâmina composta por fibras reticulares chamada de membrana basal. A membrana basal encontra-se apoiada por projeções ou prolongamentos primários e secundários oriundos dos podócitos (Figura 3). As células mesangiais estão localizadas em algumas regiões dos capilares glomerulares e apresentam receptores para os hormônios angiotensina II e peptídeo natriurético, sendo este último produzido pelas fibras do átrio cardíaco (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2011).



**Figura 3** – Microscopia eletrônica da Membrana Basal Glomerular (MBG) e podócitos. Aumento de 42.000 vezes.

Para Franco et al. (2010), a degeneração hialina extracelular ou hialinose representa a principal alteração histológica observada em diabéticos e hipertensos estando correlacionada às alterações no metabolismo das proteínas que passam a se acumular no meio extracelular. Nos rins, este acúmulo é evidenciado na parede das arteríolas renais e capilares glomerulares levando ao espessamento da membrana basal e hiperplasia do músculo liso da parede das arteríolas renais, que também começam a espessar. Os mesmos autores relatam a ocorrência do processo patológico denominado amiloidose renal, onde ocorrerá depósito de substância amorfa, hialina e rica em proteínas no interstício, afetando geralmente os glomérulos. Inicialmente o depósito ocorre na região mesangial (ao redor das células mesangiais) causando o espessamento da membrana basal que reveste os capilares glomerulares e pressiona a luz do capilar. Gradativamente o glomérulo se transforma numa “bola hialina”, onde depósitos nodulares hialinos conhecidos como degeneração hialina nodular ou de Kimmelstiel-Wilson começam a se formar no seu interior, levando a perda funcional desta parte do néfron. O acúmulo destas substâncias também ocorre no interstício tubular promovendo o surgimento de proteínas na luz dos túbulos, que se estreitam. Como repercussão clínica, a amiloidose renal gera proteinúria, sendo este um dos sintomas da nefropatia diabética. A figura 3 apresenta as evidências histológicas mencionadas.



**Figura 4** – Cortes histológicos do corpúsculo renal. A - Degeneração hialina nas arteríolas aferente e eferente (setas); B - Amiloidose renal, degeneração hialina nodular ou de Kimmelstiel-Wilson (seta).

Chen et al. (2003), associam o aumento da citocina Fator de Crescimento Beta (TGF- $\beta$ ) à iniciação e progressão da nefropatia diabética, sendo este mediador inflamatório correlacionado às alterações histológicas observadas nesta doença, ou seja, esta citocina promoveria hipertrofia das células do rim e produção excessiva da matriz extracelular a partir de fibroblastos intersticiais, células glomerulares e tubulares.

Clinicamente, a nefropatia diabética é caracterizada pela manifestação de albuminúria, proteinúria e azotemia, o que neste caso implica em maior risco para doença renal crônica. No entanto, a microalbuminúria isolada representa um fator de risco independente para doença cardiovascular (KASPER et al., 2015).

Quanto à doença renal crônica, esta é definida como presença de lesão renal ou diminuição da taxa de filtração glomerular inferior a 60 mL/min/1,73m<sup>2</sup> de superfície corporal. Esta alteração deve se manifestar por três meses ou mais. A lesão renal também pode ser estabelecida pela presença de índice albumina por creatinina superior a 30 mg/g em duas a três amostras de urina, o que neste caso é considerado albuminúria. A taxa de filtração glomerular será estimada de acordo com os níveis séricos de creatinina e equações, entre outros parâmetros a fim de se estabelecer o diagnóstico (DIRKS et al., 2005).

### *1.3.1 Nefropatia diabética e risco de doença cardiovascular*

Dentre as complicações microvasculares decorrentes da hiperglicemia destaca-se a nefropatia diabética, cuja incidência cumulativa em dez anos nos brasileiros com diabetes mellitus tipo II atingiu 31% (MURUSSI et al., 2002). O diabetes mellitus tipo II representa 90% dos casos de DM e estes constituem a maioria de pacientes admitidos em programas de diálise, sendo que essas proporções tendem a aumentar (WILD et al., 2004; US RENAL DATA SYSTEM, 2005).

Segundo Velde et al. (2011), a insuficiência renal crônica caracterizada por uma taxa de filtração glomerular de 60 mL/ minuto se correlaciona diretamente com o risco de morte e morbidade cardiovascular. Desta forma, a nefropatia é uma das complicações do diabetes que assume maior gravidade por sua correlação com o aumento de morbimortalidade cardiovascular (WANNER et al., 2007). As doenças cardiovasculares associadas ao diabetes incluem a doença arterial periférica, a doença nas artérias coronárias e o acidente vascular cerebral, sendo que 50% a 80% da mortalidade na população diabética se correlaciona a estas patologias. Aliado a hiperglicemia, os principais fatores de risco para o comprometimento cardiovascular são: a idade, o sedentarismo, hábitos alimentares inadequados, excesso de peso/obesidade, tabagismo, hipertensão arterial e dislipidemia (MONTEIRO et al., 2007).

Estimativas apontam que com o decorrer do diagnóstico do diabetes, 10% a 25% destes indivíduos irão apresentar doenças cardiovasculares, sendo que a maioria não virá a falecer pelo diabetes propriamente dito, mas por suas complicações (WORLD HEALTH ORGANIZATION, 1999).

Dentre os sintomas ocorridos na nefropatia diabética, a presença da proteinúria, tanto em diabéticos tipo I quanto II, apresenta correlação com o aumento de mortalidade, principalmente por causas cardíacas (GROSS et al., 2007). A excreção urinária de proteínas, independente da idade, sexo, função renal e diabetes já é um fator de risco para doença coronariana e também para progressão da lesão renal (KLAUSEN, et al., 2004).

Segundo Wajchenberg et al. (2008), a redução da taxa de filtração glomerular também está correlacionada ao aumento de morbidade e mortalidade cardiovascular em diabéticos. O declínio da função renal é semelhante nos portadores de diabetes tipo I e

II, no entanto, dados mais detalhados sobre a nefropatia diabética encontra-se melhor definido em diabéticos tipo I.

O controle glicêmico, a manutenção da pressão arterial, a prevenção da microalbuminúria e o equilíbrio do perfil lipídico representam as principais formas de prevenção das complicações cardiovasculares (WILSON, 1998).

O tratamento farmacológico para diabéticos com doença arterial coronariana geralmente é feito com fármacos inibidores da enzima conversora de angiotensina, ácido acetilsalicílico e estatinas. Para o infarto agudo do miocárdio a intervenção medicamentosa requer o uso de betabloqueadores tendo como principal meta reduzir a mortalidade. Nitratos e bloqueadores dos canais de cálcio para tratar angina devem ser individualizados (VIJAN; HAYWARD, 2004).

Segundo Gualandro et al. (2011), o procedimento cirúrgico em diabéticos também representa uma opção de tratamento das complicações cardíacas ocorridas. Portadores de diabetes mellitus apresentam maior probabilidade de necessitar de alguma intervenção cirúrgica durante a sua vida em relação à população não diabética, particularmente quando se refere a procedimentos vasculares, cardíacos e oftalmológicos (PAIVA, 2004).

### *1.3.2 Riscos da cirurgia para portadores de nefropatia diabética*

A cirurgia incidental ou relacionada com o diabetes gera um fardo crescente sobre os serviços dos anestesistas. Esse paciente necessita de um período pré-operatório em regime de internação com objetivo de estabilizar suas condições clínicas, tornando-o apto ao procedimento cirúrgico (McANULTY et al., 2000).

Diabéticos com nefropatia apresentam estreita relação com a doença vascular periférica (POREDOS et al., 2007). Estes pacientes geralmente apresentam hipertensão arterial, e esta condição está associada ao quadro de vasculopatia arterial com pior prognóstico pós-operatório (SCHUTTA et al., 2007).

Procedimento cirúrgico pode agredir o rim causando lesão isquêmica, mesmo em curto período de tempo, sendo os túbulos nefróticos os segmentos mais afetados nesta condição (LIEBERTHAL; NYGAM, 1998). A insuficiência renal aguda é uma condição frequente em pacientes hospitalizados e consiste na perda súbita da função

renal ocasionando acúmulo de ureia e creatinina na circulação, concomitante a redução da diurese (COSTA et al., 2003). A uremia é uma das complicações presentes em nefropatas e reduz a atividade das plaquetas, favorecendo o risco de hemorragias durante a cirurgia (WELLS et al., 2006; THRALL, 2007). O acúmulo de metabólitos não excretados decorrentes da uremia compromete a adesão e agregação das plaquetas, podendo ocorrer trombocitopenia. O sangramento muco-cutâneo de leve intensidade é comum nesta condição, contudo, hemorragias mais graves em pacientes com uremia podem ter outras causas. Uma vez ocorrendo sangramento decorrente da uremia, este tende a se estabilizar após a diálise, podendo também ser prescrita doses baixas de estrógenos, cloridrato de desmopressina na dosagem de 0,3 microgramas/kg uma vez por dia, durante 2 a 3 dias e crioprecipitado na dosagem de uma bolsa por kg de peso. A transfusão de plaquetas geralmente não é eficaz. (REZENDE, 2010). As toxinas urêmicas afetam também o sistema nervoso causando neuropatia periférica e disfunções centrais (SEYMEN et al, 2010).

No período pré e pós-operatório da cirurgia, a concentração de creatinina sérica é frequentemente utilizada como marcador da função renal, entretanto, não consegue identificar lesão renal leve e moderada, sendo também influenciada por outros fatores independentes, que podem corroborar para a obtenção de resultados não fidedignos quanto a real condição renal (SARAFIDIS; BAKRIS, 2006).

Segundo Antunes et al., (2004), a avaliação da concentração plasmática de creatinina é de fundamental importância na estratificação do risco de insuficiência renal aguda no pós-operatório. Em pacientes diabéticos e com nefropatia a lesão renal já existente poderá ser agravada no período pós-operatório. Resultados de creatinina sérica maior que 1,6 mg/dL sugerem que o paciente terá 14 vezes mais risco de diálise após a realização da cirurgia (SARNAK, 2003).

O tratamento farmacológico adotado para o controle da glicemia, da hipertensão arterial e da nefropatia diabética deve ser avaliado previamente à cirurgia. Para portadores de diabetes mellitus tipo II que fazem uso do cloridrato de metformina, estes deverão suspender sua administração 48 horas antes do procedimento cirúrgico (LEVINE et al., 2011). A metformina pertence à classe das biguanidas, introduzida no tratamento da hiperglicemia do diabetes mellitus tipo II na década de 50. Tem como

mecanismo de ação a supressão da gliconeogênese (75% da sua ação), a redução da produção hepática de glicose, redução da absorção gastrointestinal de glicose, estimulação anaeróbica dos tecidos periféricos, sendo este mecanismo responsável pela acidose láctica, um dos seus principais efeitos adversos (SILVA, 2010). O aumento da acidez no sangue promove manifestações clínicas extremamente prejudiciais durante cirurgias, desencadeando alterações cardíacas, hiperventilação pulmonar e alterações no sistema nervoso central (WELLS, et al. 2006).

Nos pacientes com insuficiência renal terminal a biodisponibilidade do diurético de alça furosemida não é alterada, no entanto, sua eliminação é menor e sua meia-vida será prolongada. Na presença da síndrome nefrótica ou proteinúria, a redução plasmática de proteínas aumenta a concentração livre deste diurético, mas sua eficácia será reduzida nestes pacientes, devido à ligação intratubular com a albumina, diminuindo sua secreção. Este diurético é contraindicado para portadores de insuficiência renal com anúria, pré-coma, hipopotassemia e hiponatremia graves, hipovolemia e desidratação. O monitoramento médico do fluxo urinário do paciente no período perioperatório deve ser cauteloso, principalmente em pacientes diabéticos. A hipocalcemia promovida pela administração do diurético de alça aumenta os efeitos e a toxicidade de vários fármacos, como a digoxina e antiarrítmicos do tipo III, predispondo a interações medicamentosas (RANG et al. 2007).

A doença renal crônica e doença renal em estágio terminal desencadeiam inúmeras complicações secundárias, onde se destaca o hiperparatireoidismo e a osteodistrofia renal. Com a evolução da doença renal, a ativação da vitamina D é prejudicada reduzindo a absorção intestinal de cálcio. Nesta condição, as concentrações séricas de cálcio diminuem, estimulando a secreção do paratormônio pelas glândulas paratireoides. O declínio progressivo da função renal faz com que o balanço de cálcio seja mantido às custas do aumento da reabsorção óssea, o que promove o surgimento da osteodistrofia renal (WELLS et al., 2006). O calcitriol é a forma ativa da vitamina D3 e trata a osteodistrofia renal, no entanto, os níveis plasmáticos de cálcio devem ser monitorados durante o tratamento, pois poderá ocasionar hipercalcemia (RANG et al., 2007). Pacientes com nefropatia diabética e que fazem uso de vitamina D ativa (calcitriol, por exemplo), podem sofrer intoxicação por esta vitamina, visto que sua

meia-vida é longa (semanas a meses). O principal sintoma desta intoxicação é a hipercalcemia (PETTIFOR et al., 1995). Dentre as complicações ocasionadas pela hipercalcemia durante um quadro cirúrgico destaca-se a depleção de volume, visto que o paciente apresenta dificuldade em concentrar a urina, causando poliúria e polidipsia. Em casos graves ocasiona diminuição do intervalo QT no eletrocardiograma e hipertensão. Quando a concentração de cálcio estiver acima de 16 mg/dL poderá provocar o coma (RANG et al., 2007; DUTRA et al., 2012).

Segundo Wells et al. (2006), a patogênese da hipertensão arterial no portador de doença renal crônica é multifatorial. Inclui níveis elevados de endotelina-I, uso de eritropoetina para o controle da anemia típica nesta condição, retenção hídrica, aumento da atividade simpática, hiperparatireoidismo e alterações ocasionadas pela hiperglicemia na integridade vascular. Pacientes hipertensos submetidos à cirurgia devem ter os níveis pressóricos estabilizados e para isto a terapia anti-hipertensiva deve ser mantida até o dia do procedimento e reintegrada após a mesma. Esta consideração está relacionada ao fato de que betabloqueadores ou fármacos anti-hipertensivos que bloqueiam os canais de cálcio interagem de forma benéfica com os anestésicos, sem promover resposta hipotensiva à indução da anestesia (CORIAT et al., 1994).

Os fármacos inibidores da enzima conversora da angiotensina impedem a ativação do hormônio hipertensor angiotensina II que atua independente da ação simpática, representando uma grande vantagem para a ação desta droga, no entanto, tem se observado leve estimulação do sistema parassimpático (SILVA, 2010). Os inibidores da enzima conversora da angiotensina atuam no sistema cardiovascular para regular a pressão arterial e são mencionados como o único grupo de fármacos que deveriam ser suspensos no período pré-operatório (TUMAN et al., 1995). Pacientes que realizam tratamento crônico com os inibidores da enzima conversora da angiotensina apresentam maior dificuldade em manter o débito cardíaco perante o decréscimo agudo do volume ventricular desencadeado pela anestesia. Com isto, na indução anestésica, o paciente terá maior risco de desenvolver hipotensão arterial (COLSON et al., 1992).

### 1.3.3 *Nefropatia diabética experimental*

Em animais utilizados para experimentação como ratos, camundongos e coelhos, a indução química seletiva do diabetes tem sido feita com substâncias que apresentam capacidade de exercer destruição química seletiva das células beta pancreáticas, responsáveis pela produção e secreção de insulina. A aloxana e a estreptozotocina têm sido as mais utilizadas, sendo que sua dose dependerá da espécie do animal e do seu peso (SZKUDELSKI, 2001). Para o estudo de complicações decorrentes do diabetes, dentre elas a nefropatia diabética, a aloxana tem sido amplamente utilizada (MACEDO et al., 2000; MACHADO, 1993; LERCO, 2004). O animal passa a desenvolver alterações renais semelhantes às observadas na nefropatia diabética de seres humanos e evidenciadas tanto na microscopia óptica quanto na eletrônica. A partir da quarta semana da indução, os animais desenvolvem proteinúria crescente. Posteriormente, apresentam espessamento da membrana basal, expansão mesangial, expansão da cápsula de Bowmann e lesões tubulares (LEE et al., 1974; STEEN et al., 1966).

Segundo Szkudelski (2001) a Aloxana pode ser administrada pelas vias intravenosa, intraperitoneal ou subcutânea. A dose intravenosa utilizada frequentemente em ratos é de 65 mg/kg. Nas vias intraperitoneal ou subcutânea a dose deve ser duas a três vezes maior (no mínimo 150 mg/kg).

### 1.3.4 *Manobra da isquemia e reperfusão renal*

Técnicas de “condicionamento tecidual” correspondem à exposição de determinado tecido a breves ciclos alternados de isquemia e reperfusão, sendo esta uma abordagem de estudo que permite a avaliação dos danos causados pela isquemia prolongada, assim como as lesões ocasionadas pela reperfusão tecidual (VINTEN-JOHANSEN; SHI, 2011).

A isquemia é considerada a ausência ou redução do fluxo sanguíneo para o tecido e provoca várias condições fisiopatológicas, tais como infarto do miocárdio, insuficiência vascular periférica, acidente vascular cerebral e choque hipovolêmico. A reperfusão representa a restauração do fluxo sanguíneo para o órgão isquêmico, e apesar de evitar a lesão celular irreversível, chega a provocar lesões celulares mais graves que as provocadas pela isquemia, conhecidas como lesões de reperfusão. A lesão de

isquemia e reperfusão (I/R) causa resposta inflamatória local e sistêmica, podendo resultar em disfunção múltipla de órgãos, como o rim, e a morte do paciente (COLLARD; GELMAN, 2001).

Estudos histopatológicos do rim relacionado à lesão aguda decorrente da isquemia e reperfusão demonstraram aumento de permeabilidade de microvasos, acúmulo de líquido no interstício, comprometimento dos mecanismos de regulação vascular, infiltrado inflamatório e necrose tubular aguda (GRANGER; KORTHUIS, 1995; BREZIS; ROSEN, 1995).

Após um insulto isquêmico ou tóxico, o rim apresenta capacidade de se restaurar. Células não afetadas desenvolvem mecanismos para recuperar a integridade funcional do néfron. Existe uma relação dinâmica entre o reparo do tecido renal e a progressão ou regressão da lesão decorrente da isquemia e reperfusão. Estudos sugerem haver um retardo ou inibição do reparo tecidual que poderá evoluir para doença renal crônica, enquanto que a reparação tecidual precoce detém a progressão da lesão e recupera o rim (VAIDYA et al., 2008).

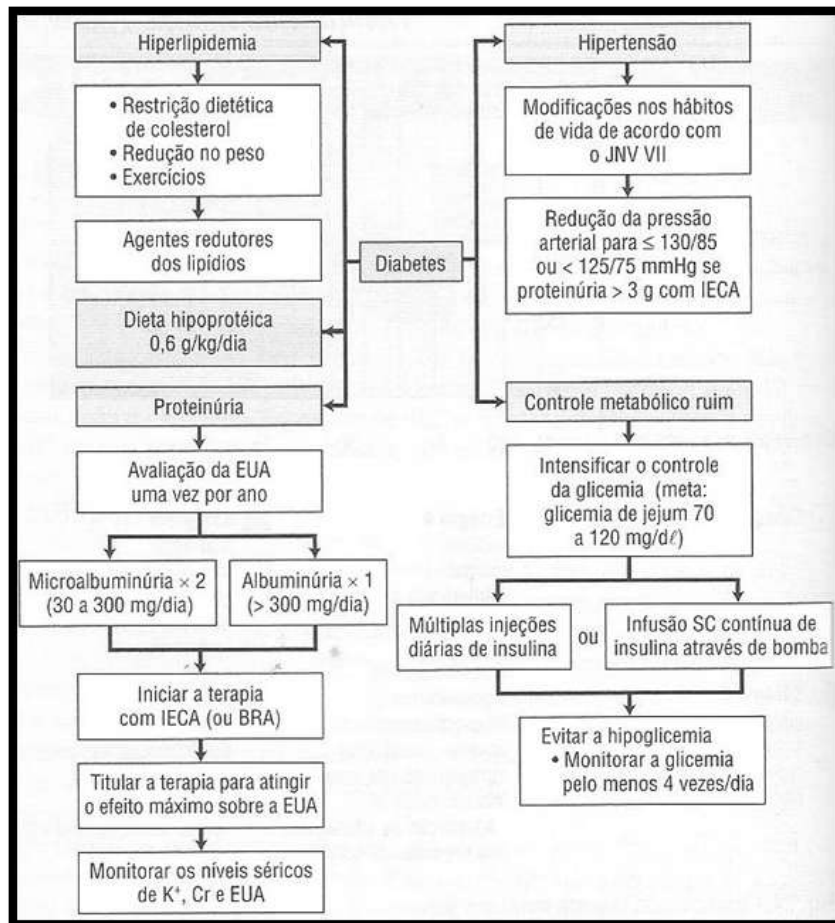
Apesar desta capacidade de recuperação renal existir, estudos clínicos têm usado agentes terapêuticos anti-inflamatórios, reguladores metabólicos ou pró-coagulantes como medidas de renoproteção frente à isquemia e reperfusão (PICCINATO, 2014). O pré-condicionamento isquêmico consiste em submeter o órgão a breves episódios de isquemia e reperfusão, promovendo um mecanismo de adaptação que exerce proteção aos tecidos contra a lesão (KUZUYA et al., 1993).

Intervenções antioxidantes têm sido extensivamente investigadas frente ao aumento de espécies reativas de oxigênio geradas pela isquemia (PICCINATO, 2014).

#### **1.4 Uso de plantas medicinais com potencial de renoproteção**

Segundo Wells et al. (2006) o controle da glicemia tem sido a principal tática capaz de reduzir a frequência, amenizar a gravidade e retardar a evolução da nefropatia diabética. O controle da hipertensão arterial e da dislipidemia também são condutas de extrema importância. A supervisão da excreção urinária de albumina consiste numa conduta clínica que deve ser avaliada pelo menos uma vez por ano, além da terapia

farmacológica para controle da hipertensão arterial, feita com fármacos inibidores da enzima conversora da angiotensina e bloqueadores dos receptores de angiotensina II frequentemente mais utilizados. A figura 5 apresenta o organograma com as estratégias terapêuticas para impedir a evolução da doença renal crônica em diabéticos.



Fonte: Wells et al. (2006).

**Figura 5** – Organograma da estratégia terapêutica para impedir a evolução da doença renal crônica em indivíduos diabéticos. EUA: excreção urinária de albumina; SC: subcutânea; JNC VII: o sétimo relatório do Joint Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure.

A busca por novas alternativas terapêuticas que retardem a evolução ou tratem as alterações estruturais e funcionais dos rins decorrentes da nefropatia diabética tem sido o objetivo de inúmeras pesquisas. O uso de extratos vegetais representa uma das expectativas para investigação de fármacos mais eficazes no controle da evolução ou mesmo na suspensão da nefropatia diabética. Um estudo recente estimou que cerca de

30% dos portadores de diabetes mellitus utilizam medicinas alternativas para o tratamento desta enfermidade e de suas complicações (RAMAN et al., 2012).

De acordo com Rispler e Sara (2011), 21% a 70% dos pacientes que serão submetidos a determinado procedimento cirúrgico utilizam terapias alternativas, principalmente plantas medicinais e fitoterápicos no tratamento de doenças. O uso crônico de extratos vegetais por pacientes submetidos ao procedimento anestésico-cirúrgico pode apresentar interferências que potencializam ou inibem a analgesia, o relaxamento muscular, a indução do sono, além de alterar a estabilidade cardiorrespiratória (LEAK, 2000).

Anestesistas e cirurgiões devem-se atentar ao questionamento prévio ao procedimento cirúrgico quanto ao uso destes produtos, visando evitar interferências que comprometam a estabilidade do paciente. (GALLO et al., 2014). A ocorrência de interações medicamentosas entre plantas medicinais e/ou fitoterápicos com medicamentos tipicamente usados em cirurgias podem provocar tendência hemorrágica, alteração funcional do sistema nervoso central, instabilidade hemodinâmicas no curso da cirurgia, alteração imunológica predispondo infecções relacionadas ao procedimento invasivo da cirurgia, e em diabéticos a iminência de hipoglicemia. (ANG-LEE et al., 2001; BAJWA; PANDA, 2012; TSAY et al., 2012).

De acordo com Tessier e Bash (2003), deve-se suspender o uso de plantas duas semanas antes do procedimento cirúrgico, principalmente quando não se tem informações farmacológicas seguras em relação ao produto vegetal utilizado.

Lesões renais representam um problema de saúde global e estão associadas ao aumento da morbidade, mortalidade e internações hospitalares (COCA et al., 2012). O uso de plantas medicinais no tratamento de lesões renais é comum e tem sido incentivado pela Organização Mundial da Saúde (OMS) a partir de estratégias que procuram valorizar as práticas da medicina tradicional. O tratamento com plantas medicinais e fitoterápicos possibilitam aos países mais pobres o acesso a tratamentos mais baratos e comumente conhecidos pela população. Estas práticas se tornam válidas desde que bem fundamentadas, ou seja, realizadas por profissionais da saúde corretamente habilitados para garantir a segurança e eficácia deste procedimento terapêutico (LO, 2008; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2002).

Plantas da família botânica *cucurbitaceae* incluem cerca de 120 gêneros e 850 espécies. No Brasil ocorrem cerca de 30 gêneros e 200 espécies, onde se destaca a *Momordica charantia*, popularmente conhecida como melão-de-são-caetano, que se comporta como invasora de culturas (LORENZI; SOUZA, 2008). Inúmeros estudos sugerem que os frutos da *Momordica charantia* apresentam componentes que reduzem à intolerância a glicose, suprime a glicemia pós-prandial em ratos, melhora a sensibilidade das células ao hormônio insulina, favorece a lipólise, além de possivelmente apresentar efeito hipoglicemiante similar a fármacos já utilizados como glibenclamida (BAKARE et al., 2010; SNEE et al., 2011).

De acordo com citações publicadas por Grover e Yadav (2004) a *Momordica charantia* L. apresenta componentes químicos com suposto potencial hipoglicêmico. Trata-se de uma mistura de saponinas esteroides conhecidas como charantinas; peptídeos dependentes de insulina e alcaloides, os quais estão concentrados nos frutos que apresentam pronunciada atividade hipoglicemiante. A figura 4 apresenta as folhas, flores, frutos e sementes da *Momordica charantia* L.



**Figura 6** - Folhas, frutos, flores e sementes da *Momordica charantia* L.

Fonte: Coleção de plantas medicinais aromáticas e condimentares

Disponível em: <<http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/33576/1/documento-157.pdf>>

Segundo Marles e Farnsworth (1995), as charantinas são formadas pela mistura de dois glicosídeos esteroidais quimicamente semelhante à insulina, encontrados nos frutos da *Momordica charantia* L., e que mostraram potencial hipoglicemiante em coelhos normais, ratos e gatos. Outro componente é a momordicina, que é um alcaloide que também apresenta capacidade de controlar a hiperglicemia. Bragança (1996) menciona o polipeptídeo p isolado dos frutos desta planta. Este componente é também chamado de insulina-p e quimicamente é muito parecida com a insulina humana, apresentando apenas um aminoácido a mais (metionina) em sua estrutura.

Segundo Viridi et al., (2003) o extrato aquoso liofilizado da *Momordica charantia* L. representa uma alternativa para o controle glicêmico em diabéticos. Extratos obtidos da *Momordica charantia* L. conseguiram exercer proteção glomerular em relação aos efeitos deletérios ocasionados pela hiperglicemia. Evidenciou-se a redução na excreção urinária de albumina, não houve o aumento do volume urinário e da hipertrofia renal (GROVER; VATS.,2001). Um estudo realizado por ABDOLLAHI et al. (2011) com os frutos da *Momordica charantia* L. evidenciou redução significativa nos níveis séricos de creatinina.

Estudo em ratos diabéticos realizado por Mahmoud et al. (2017) demonstrou aumento na secreção de insulina e melhora das alterações histopatológicas do pâncreas. Outro estudo realizado por Abas et al. (2015) em ratos com diabetes induzido por estreptozotocina e tratados durante 28 dias por via oral com extrato dos frutos (1,5 gramas/kg), mostrou efeito vascular protetor significativo, reduzindo os níveis de pressão arterial, colesterol total e triglicerídeos. No mesmo estudo houve aumento na expressão da enzima óxido nítrico sintetase no revestimento endotelial dos vasos, da mesma forma em que ocasionou reversão da deteriorização morfológica dos tecidos aórticos. Sua atividade antioxidante foi mensurada pela dosagem do malondialdeído que reduziu significativamente neste estudo.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivos gerais

Avaliar a função e a histologia renal de ratos Wistar com nefropatia diabética experimental, submetidos à manobra da isquemia e reperfusão, tratados com a infusão dos frutos da *Momordica charantia* L.

### 2.2 Objetivos específicos

- ✓ Avaliar a glicemia dos animais durante o experimento;
- ✓ mensurar a variação ponderal dos animais;
- ✓ quantificar no sangue os valores de creatinina e ureia;
- ✓ avaliar a excreção urinária de albumina no decorrer do tratamento;
- ✓ avaliar o rim pela microscopia eletrônica.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Amostra

Foram utilizados 26 *Rattus norvegicus*, cedidos pelo Biotério da Universidade Sagrado Coração – USC que foram distribuídos em 3 grupos:

- ✓ Grupo controle sem diabetes (n=10), tratados com 0,5 mL de solução aquosa.
- ✓ Grupo diabético sem tratamento (n=8): tratados com 0,5 mL de solução aquosa.
- ✓ Grupo diabético com tratamento (n=8): que recebeu 0,5 mL da infusão contendo 250 mg (Mishra et al., 2015) do extrato seco dos frutos da *Momordica charantia* L. A concentração foi convertida de acordo com a média de peso dos animais. A administração foi feita por gavagem, durante 30 dias.

Previamente à eutanásia, todos os grupos foram submetidos à manobra da isquemia do rim esquerdo durante 30 minutos, seguida da reperfusão renal, por 15 minutos. Os rins com e sem isquemia foram seccionados e encaminhados para análise em microscopia eletrônica.

Durante o experimento foram cumpridas as normas do “National Research Council (1996)”. O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA da Universidade Sagrado Coração - USC, pelo protocolo 24/14 (Anexo A).

#### 3.2 Indução do diabetes com Aloxano

Para indução do diabetes, foi administrado Aloxano (diluído a 2% em solução de citrato de sódio 0,05 M, pH 4,5) na dose de 150 mg/kg, após um período de jejum de 24 horas, via intraperitoneal, dose única. Após 6 horas da indução, foi fornecida glicose 10% como única fonte hídrica, durante 24 horas para evitar uma hipoglicemia fatal, devido à liberação maciça de insulina pelas células beta remanescentes das Ilhotas de Langerhans, ainda não destruídas pelo Aloxano. Após 15 dias, a glicose sanguínea foi mensurada com auxílio de Glicosímetro One Touch Ultra Mini, durante o período matinal, com os animais em jejum de 12 horas. Os ratos que apresentaram glicemia inferior a 180 mg/dL foram novamente induzidos, seguindo o mesmo protocolo.

Somente os animais com glicemia de jejum superior a 180 mg/dL, foram considerados diabéticos e selecionados para o experimento. Após a confirmação do diabetes, os animais foram acomodados no biotério por um período de 30 dias antes do início do tratamento.

### 3.3 Avaliação da excreção urinária de proteínas com tiras reagentes

Os animais foram acondicionados individualmente em gaiolas metabólicas para obtenção da urina por um período de 24 horas. Cada gaiola foi provida de água e ração *ad libitum*. A coleta foi feita na quarta semana após a confirmação da hiperglicemia para confirmação da proteinúria prevista nos animais. (LEE et al., 1974; STEEN et al., 1966). O mesmo procedimento foi feito 24 horas antes do início do tratamento, no 15º dia e 24 horas antes da eutanásia. A urinálise foi feita pela técnica de química seca com utilização de tira reagente do laboratório Labtest®, composta de pequenos quadrados absorventes, embebido em reagentes que, em contato com a urina, mudam de cor (ou não), indicando resultados como negativo, normal, traços, +, ++ ou +++. A figura 7 ilustra o procedimento.



Fonte: Arquivo pessoal

**Figura 7** – Etapas da coleta de urina, exame de proteinúria e determinação do volume urinário. A-Gaiolas metabólicas; B- Determinação do volume urinário com proveta e uso de fitas reagentes Urine Strip® para o teste de proteinúria.

### 3.4 Etapas de preparo da infusão dos frutos da *Momordica charantia* L.

Os frutos da *Momordica charantia* L. foram coletados no município de Bauru-SP, entre os meses de janeiro a março de 2016, sendo encaminhados para o Herbário da Universidade Sagrado Coração – USC para a identificação botânica, tendo o número de registro: 5585. Em seguida, foram colocados em estufa para secagem numa temperatura máxima de 40°C. Após este processo, os frutos foram pulverizados. A infusão foi preparada com 20 mL de água fervente, vertida em 4,2 gramas do extrato dos frutos da *Momordica charantia* L., ficando em contato por 15 minutos. Cada animal recebeu por gavagem o volume de 1 mL da infusão, contendo 0,21 gramas do extrato. A administração foi feita por 30 dias após a confirmação da hiperglicemia e proteinúria.



**Figura 8** – Etapas da preparação da infusão dos frutos da *Momordica charantia* L. A- Identificação botânica; B - Frutos in natura; C - Estufa para secagem dos frutos; D - Frutos secos; E - Frutos pulverizados; F - Preparo da infusão.

### 3.5 Pesagem dos animais

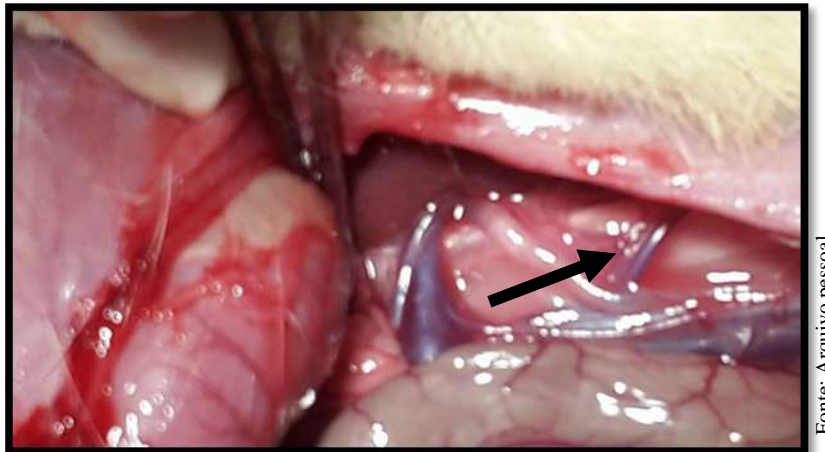
Os animais de cada grupo foram pesados em balança digital da marca Urano, no início do procedimento. Durante o tratamento a pesagem foi realizada uma vez por semana no decorrer dos 30 dias de tratamento. A figura 9 mostra o procedimento da pesagem dos animais.



**Figura 9** - Pesagem do rato

### 3.6 Manobra da isquemia e reperfusão renal

Os animais de ambos os grupos de experimento foram anestesiados com cloridrato de quetamina e xilazina (1:1) por via intraperitoneal. Com auxílio de tesoura e pinça cirúrgica foi feita uma incisão no abdômen para exposição do rim esquerdo. Fez-se a dissecação da artéria renal esquerda e isquemia deste rim, pela aplicação de clampe microcirúrgico (Figura 10) para a oclusão da artéria renal, durante 30 minutos. Em seguida o clampe foi removido para reperfusão renal de 15 minutos.



Fonte: Arquivo pessoal

**Figura 10** - Aplicação do clampe microcirúrgico (seta) para oclusão da artéria renal.

### 3.7 Eutanásia dos animais e coleta do sangue

Os animais de ambos os grupos foram eutanasiados com dose letal de Tiopental (150 mg/Kg) e Lidocaína (10 mg/mL). O sangue foi coletado por punção cardíaca, num volume médio de 2 mL, sendo este acondicionado em tubos de SST e encaminhados para o laboratório de Análises Clínicas da Universidade Sagrado Coração – USC, onde foi realizada a dosagem bioquímica de ureia e creatinina com utilização de Kit Labtest®.

### 3.8 Microscopia eletrônica do rim

#### 3.8.1 Exame histológico ao microscópio eletrônico – preparo dos Rins

Após a retirada do rim esquerdo, este foi imediatamente seccionado em fragmentos representativos da região cortical renal. Os mesmos foram fixados em glutaraldeído a 2,5% em tampão fosfato 0,1M e pH 7,3 e a seguir submetidos aos seguintes procedimentos:

- ✓ Lavagem em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 (três vezes por cinco minutos cada uma).
- ✓ Pós-fixação em tetróxido de ósmio 1% no mesmo tampão por duas horas.
- ✓ Lavagem em água destilada três vezes por cinco minutos cada uma.
- ✓ Incubação em acetato de uracila 0,5% em solução aquosa por duas horas.

- ✓ Desidratação em sequência crescente de solução de acetona, a 50% duas vezes de dez minutos, 70% duas vezes de dez minutos, 90% duas vezes de 15 minutos e 100% três vezes de 15 minutos.
- ✓ Embebição em mistura de 1:1 em resina (Araldite grade 502) e acetona 100% por 12 horas.
- ✓ Embebição em resina pura durante uma hora em estufa à 37°C.
- ✓ Inclusão em resina pura e polimerização por 72 horas em estufa à 60°C.

Foram feitos cinco a seis blocos contendo tecido renal. Os blocos foram preparados por trimagem manual, sendo obtidos cortes de 0,5 µm corados com mistura de azul de toluidina a 1% e bórax a 1%. Estes cortes foram examinados ao microscópio de luz para pesquisa da presença de glomérulos. Constatando-se os glomérulos, seis para cada animal, os blocos foram selecionados para estudo de cortes ultrafinos; estes foram contrastados com solução saturada de acetato de uranila em álcool 50% e, posteriormente, em citrato de chumbo, durante 20 minutos.

Os cortes ultrafinos preparados foram examinados ao microscópio eletrônico de Transmissão “CM-100 Philips export B.V.” (Figura 10), sendo utilizados filmes 35mm “Eastman 5302” (KodakR), para documentação elétron-micrográfica. Toda documentação eletronmicrográfica foi feita com aumento de 42.000 vezes. A figura 11 mostra algumas etapas do procedimento.



**Figura 11** - Etapas da microscopia eletrônica: A - Centro de Microscopia Eletrônica – UNESP/Botucatu; B - Cortes ultrafinos; C - Inserção dos cortes no microscópio eletrônico; D - Padronização do microscópio; E - Localização dos campos para visualização dos glomérulos; F - Documentação elétron-micrográfica.

### 3.9 Análise estatística

Para a glicemia, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para comparar grupos e o teste de Friedman para comparar momentos, já que a variável não apresentava distribuição normal e nem homogeneidade de variâncias. Para o peso foi utilizada a análise de perfil. Para as demais variáveis, as que apresentaram distribuição normal e homogeneidade de variâncias foi utilizada a análise de variância no delineamento inteiramente ao acaso, caso contrário, foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. O nível de significância utilizado foi de 5%.

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Valores da glicemia

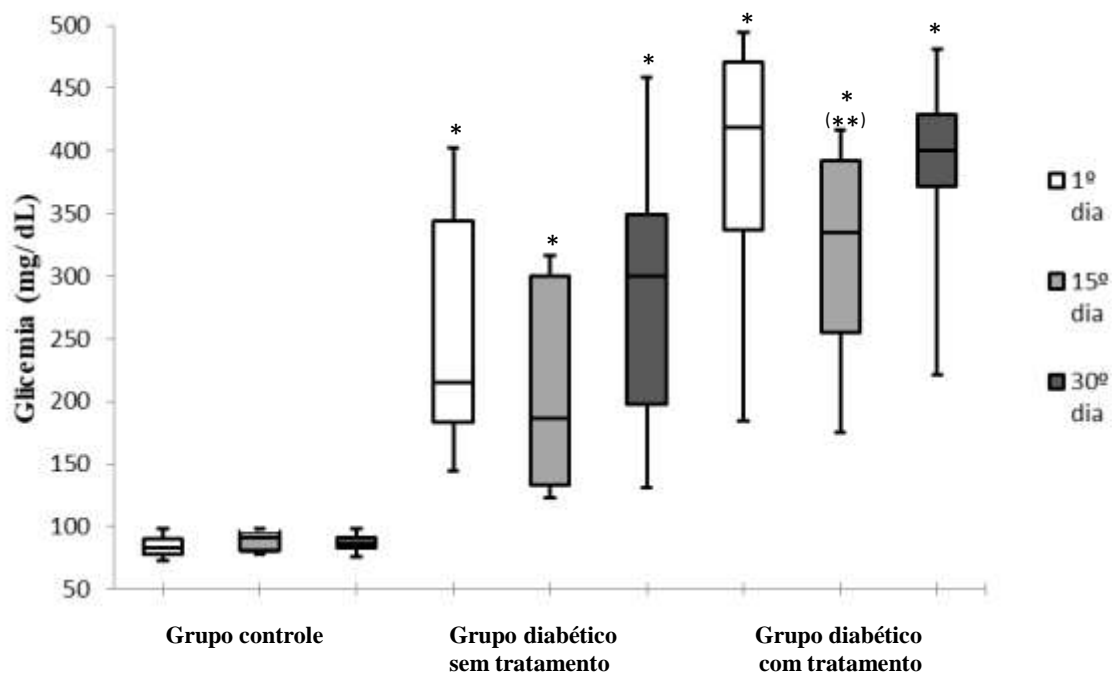
As medianas obtidas da glicemia de ambos os grupos no primeiro, décimo quinto e trigésimo dia do experimento estão expostas na tabela 1 e figura 12. Os resultados obtidos evidenciam aumento significativo (Teste de Friedman,  $p < 0,05$ ) da glicemia nos três períodos nos grupos diabético sem tratamento e diabéticos com tratamento em relação à média da glicemia dos animais não diabéticos do grupo controle. Analisando a glicemia nos grupos, notou-se que no 15º dia ocorreu redução significativa da glicemia no grupo diabético tratado em relação ao 1º dia, no entanto, esta redução não foi mantida, sendo que a glicemia aumentou no 30ª dia.

**Tabela 1-** Mediana, 1<sup>o</sup> e 3<sup>o</sup> quartil, referentes à glicemia segundo momento (Teste de Friedman,  $p < 0,05$ ) e grupos (Teste de Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$ )

Momento		Grupo			P
		Controle	Diabetes sem tratamento	Diabetes com tratamento	
1º dia	Mediana	83,00b	215,00a	419,00a	<0,001
	25%	78,00	183,50	337,00	
	75%	90,50	344,50	471,50	
15º dia	Mediana	91,50b	186,00a	335,00a	<0,001
	25%	80,50	133,50	255,00	
	75%	96,00	301,50	392,00	
30º dia	Mediana	86,50b	300,50a	400,00a	<0,001
	25%	83,00	198,00	372,00	
	75%	91,00	349,00	429,00	
p		0,53	0,79	0,04	

Letras minúsculas comparam grupos em cada momento.

Letras maiúsculas compara a variação da glicemia nos 3 momentos para o grupo tratado com a planta.



**Figura 12** - Comparação da média da glicemia no primeiro, décimo quinto e trigésimo dia do experimento, em ambos os grupos.

(Teste Friedman  $p < 0,05$  para os momentos; Teste de Kruskal-Wallis,  $p < 0,05$  valores de glicemia nos grupos.

\* valores significativos em relação ao grupo controle;

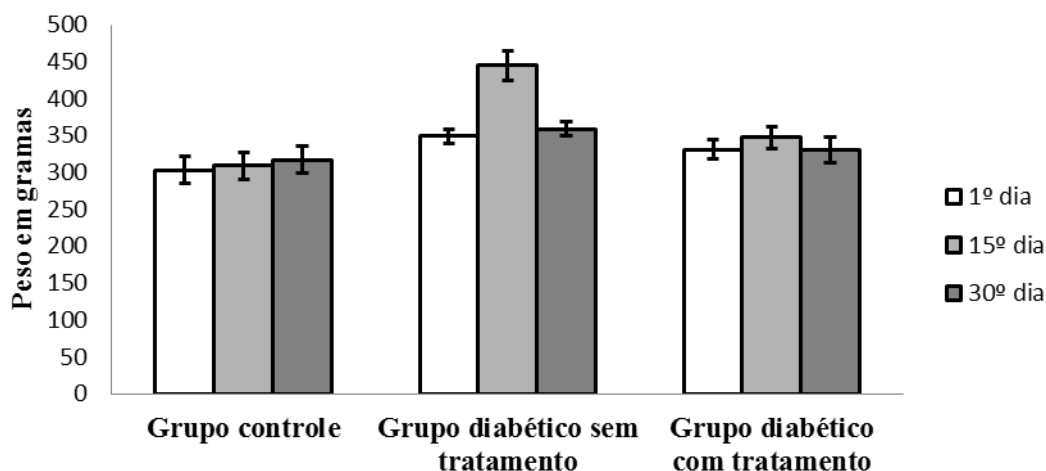
\*\*valores significativos em relação ao grupo diabético sem tratamento.

## 4.2 Variação ponderal

A tabela 2 e a figura 13 apresentam as médias e desvio padrão do peso em três momentos: 1º, 15º e 30º dia de experimentação. O grupo controle foi aumentando o valor do peso nos 3 momentos, no entanto, este aumento não foi significativo ( $p=0,916$  do 1º para o 15º dia;  $p=0,817$  do 15º ao 3º dia). Já os grupos diabéticos sem e com tratamento aumentaram o peso do 1º para o 15º dia ( $p=0,867$  para o grupo diabético sem tratamento e  $p=0,907$  para diabéticos com tratamento) e depois diminuíram os valores no 30º dia ( $p=0,765$  para diabéticos sem tratamento; e  $p=0,632$  para diabéticos com tratamento). A análise comparativa dos dados dos grupos nos períodos estabelecidos não evidenciou variações estatisticamente significativas.

**Tabela 2** - Média e desvio padrão referentes ao peso (gramas) nos grupos de experimento

Momentos	Grupos					
	Controle		Diabetes sem tratamento		Diabetes com tratamento	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
1º dia	303,30	±51,80	349,00	±26,80	331,10	±38,90
15º dia	308,80	±1,10	444,50	±48,90	347,30	±42,90
30º dia	317,00	±53,30	358,60	±27,20	330,70	±48,80



**Figura 13** - Comparação das médias e desvio-padrão do peso para os grupos no 1º, 15º e 30º dia de experimentação.

### 4.3 Ureia

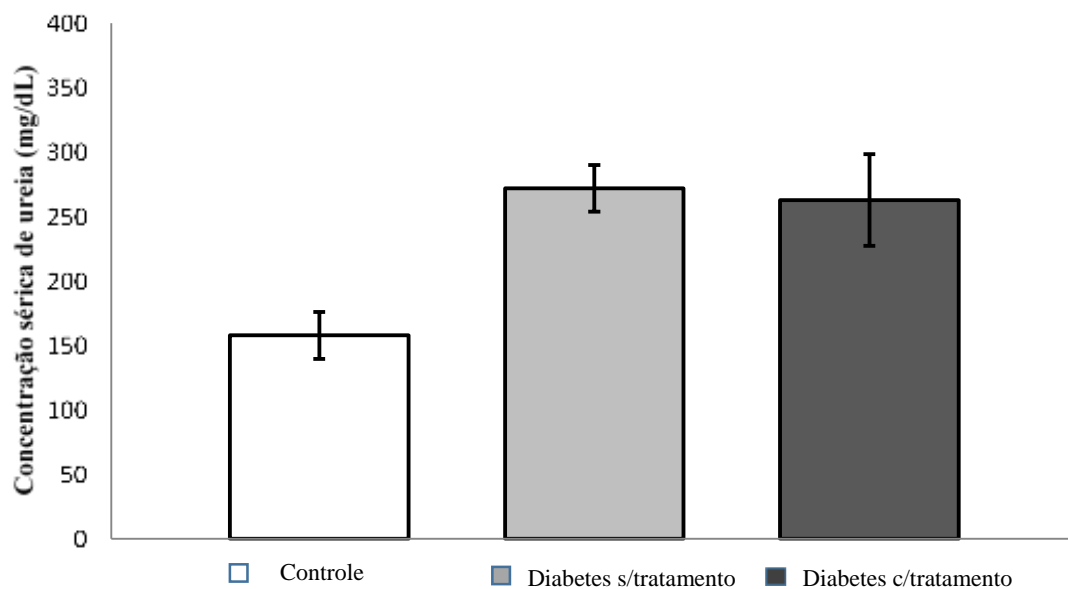
A tabela 3 e a figura 14 apresentam as médias obtidas em relação aos níveis séricos de ureia. O aumento dos níveis séricos de ureia observados nos grupos diabéticos sem e com tratamento foram estatisticamente significativos. O tratamento com a planta não interferiu neste resultado.

**Tabela 3** - Média e desvio padrão referentes a concentração sérica de ureia (mg/dL) nos grupos de experimento

Grupos						P
Controle		Diabetes sem tratamento		Diabetes com tratamento		
Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
42,00	±0,24	72,50	±0,39	69,90	±0,57	0,001

\* valores significativos em relação ao grupo controle;

\*\*valores significativos em relação ao grupo diabético sem tratamento.



(p<0,05)

**Figura 14** – Comparação das médias de ureia sérica em ambos os grupos.

#### 4.4 Creatinina

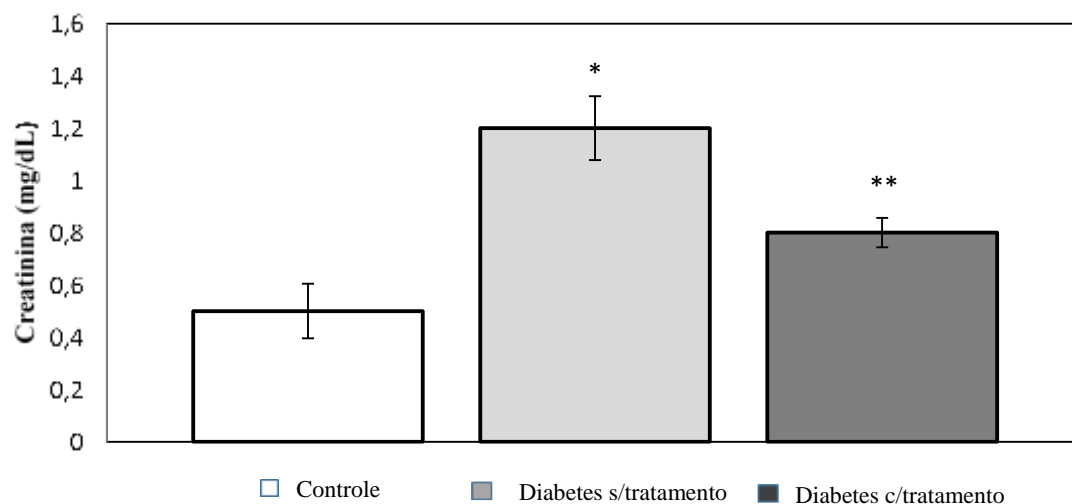
A tabela 4 e a figura 16 apresentam a média e o desvio padrão obtidos da creatinina. Em ambos os grupos diabéticos, sem tratamento e com tratamento, foi evidenciado aumento significativo de creatinina em comparação ao grupo controle, no entanto, o grupo diabético tratado mostrou redução significativa ( $p=0,02$ ) de creatinina em comparação ao grupo diabético não tratado.

**Tabela 4** - Média e desvio padrão referentes aos níveis séricos de creatinina (mg/dL) nos grupos de experimento.

Grupos						P
Controle		Diabetes sem tratamento		Diabetes com tratamento		
Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
0,58	$\pm 0,260$	1,200*	$\pm 0,270$	0,850**	$\pm 0,140$	0,04

\* valores significativos em relação ao grupo controle;

\*\*valores significativos em relação ao grupo diabético sem tratamento.



**Figura 15** - Valores da creatinina sérica (média e desvio padrão) segundo os grupos.

\* valores significativos em relação ao grupo controle ( $p=0,04$ );

\*\*valores significativos em relação ao grupo diabético sem tratamento ( $p=0,02$ ).

#### 4.5 Excreção urinária de proteínas

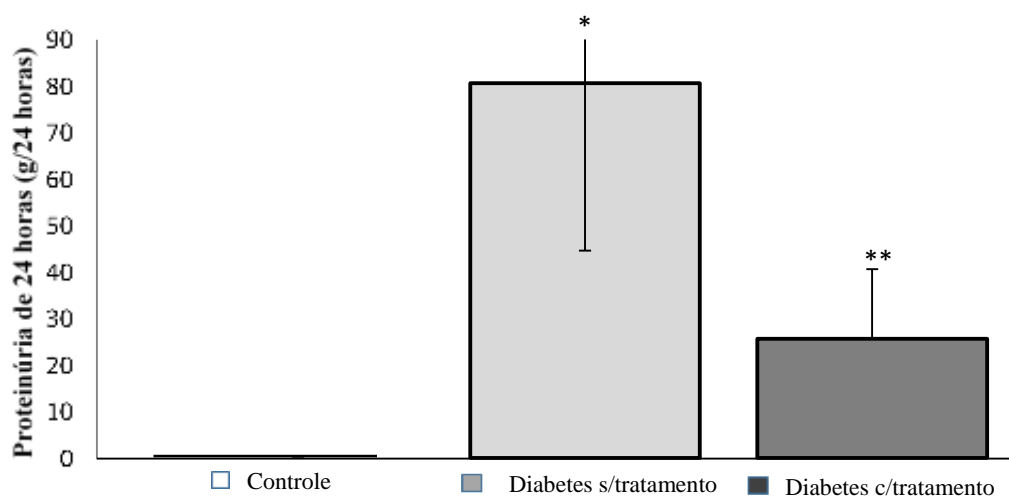
Na tabela 5 e figura 16 encontram-se as médias e o desvio padrão da proteinúria de 24 horas dos grupos. Notou-se aumento significativo na excreção urinária de proteínas no grupo diabético sem tratamento e no grupo diabético com tratamento em relação ao grupo controle. Na comparação entre o grupo diabético não tratado com o grupo tratado com a *Momordica charantia* L., foi evidenciada redução significativa da proteinúria nos animais submetidos ao uso da infusão.

**Tabela 5** - Média e desvio padrão da proteinúria (g/24 horas) dos grupos de experimento

Grupos					
Controle		Diabetes sem tratamento		Diabetes com tratamento	
Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
0,00	0,00	80,62*	±36,09	25,62**	±15,62

\* valores significativos em relação ao grupo controle (p=0,030);

\*\*valores significativos em relação ao grupo diabético sem tratamento (p=0,001).



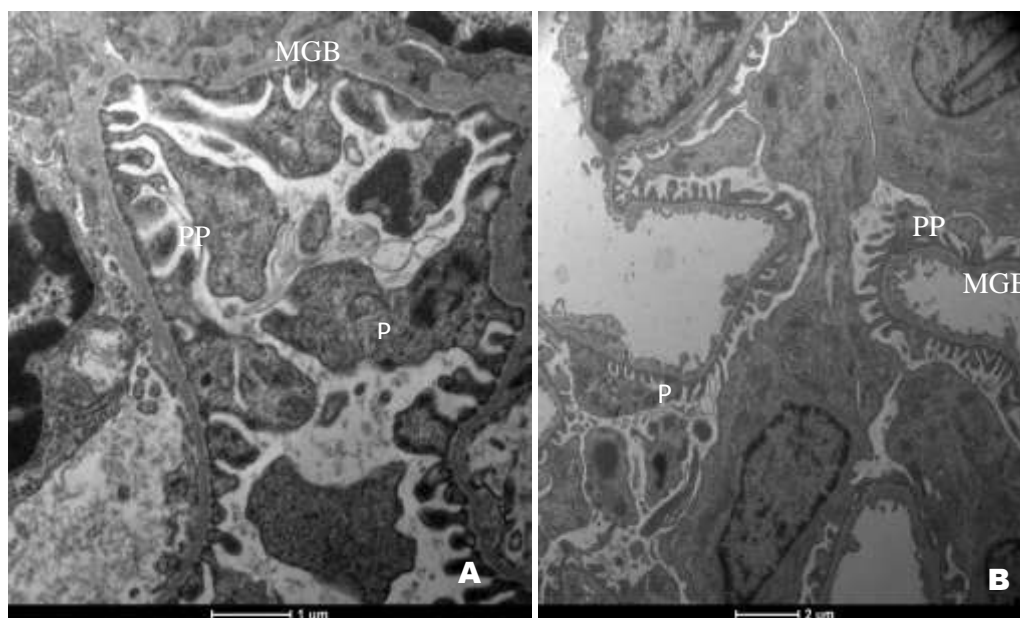
**Figura 16** - Médias e desvio padrão de proteinúria em urina de 24 horas.

\* valores significativos em relação ao grupo controle;

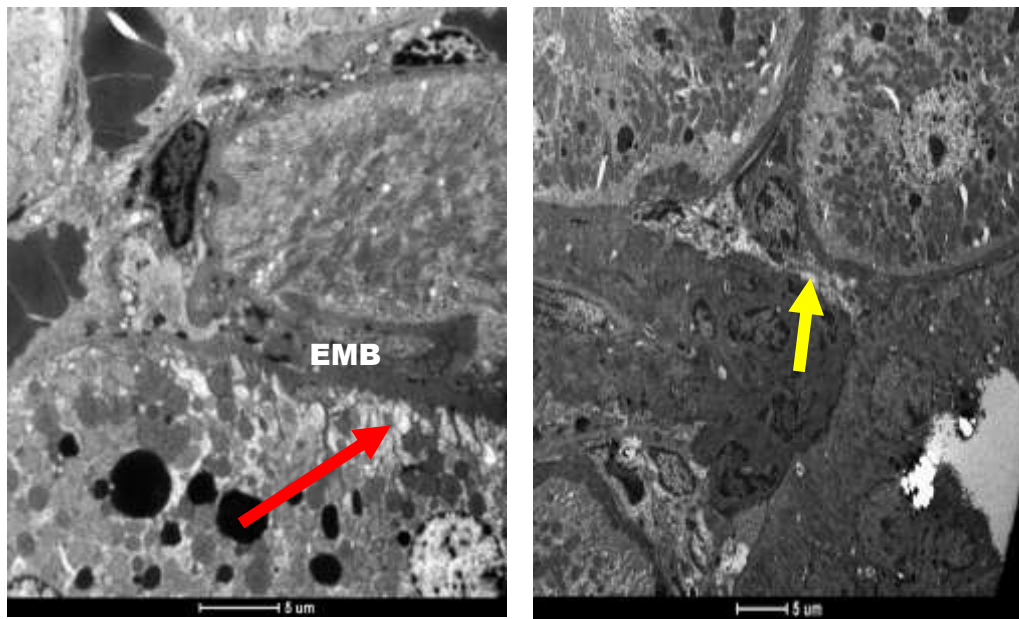
\*\*valores significativos em relação ao grupo diabético sem tratamento.

#### 4.6 Microscopia eletrônica

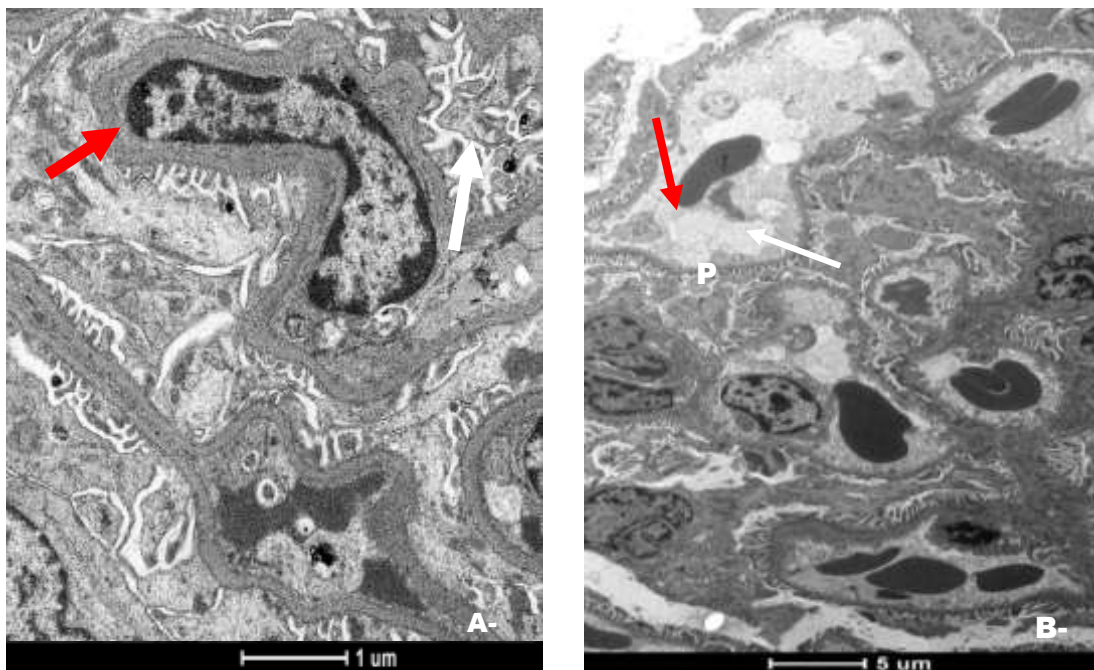
Na microscopia eletrônica do grupo controle (Figura 17), os rins não isquêmico e isquêmico apresentaram membrana basal preservada, assim como integridade dos podócitos e sua projeções (pedicelos). No grupo diabético sem tratamento (Figura 18) notou-se espessamento e áreas com ruptura da membrana basal, expansão extracelular, perda de podócitos e pedicelos. No grupo diabético tratado (Figura 19) por 30 dias, com a infusão dos frutos da *Momordica charantia* L., notou-se a manutenção da integridade da membrana basal e dos podócitos. Os pedicelos também foram mantidos e não houve expansão extracelular.



**Figura 17** - Microscopia eletrônica do glomérulo grupo controle. A-Grupo Controle sem Diabetes sem isquemia: membrana glomerular basal (MGB), Podócitos (P), Processos pediculares ou pedicelos preservados (PP); B-Grupo controle com isquemia e reperfusão: membrana glomerular basal (MGB), Podócitos (P), Processos pediculares ou pedicelos (PP) intactos. Aumento de 1 $\mu$ m e 2 $\mu$ m, respectivamente.



**Figura 18** - Microscopia eletrônica do glomérulo grupo diabético sem tratamento: A-Grupo Diabético sem tratamento e sem isquemia: Espessamento da MB (EMB); Perda dos pedicelos (seta); Expansão da matriz extracelular (\*). B- Grupo diabético sem tratamento com isquemia e reperfusão: Ruptura da MB (seta vermelha) , Expansão extracelular (\*), Perda de pedicelos (seta amarela). Aumento de 5µm.



**Figura 19** - Microscopia eletrônica do glomérulo grupo diabético com tratamento: A- Grupo diabético com tratamento SI: Preservação da MB (seta vermelha); Preservação dos podócitos e pedicelos (seta branca). Aumento 1 µm. B- Grupo diabético com tratamento e isquemia e reperfusão: Membrana basal preservada (seta vermelha), podócitos (P) e pedicelos preservados (seta branca). Aumento de 5 µm.

## 5 DISCUSSÃO

### 5.1 Variações da glicemia e do peso

Em animais utilizados em experimentação como ratos, camundongos e coelhos, a indução química seletiva do diabetes tem sido feita com substâncias que apresentam capacidade de exercer destruição química seletiva das células beta pancreáticas, responsáveis pela produção e secreção de insulina. A aloxana e a estreptozotocina têm sido as drogas mais utilizadas, sendo que sua dose depende da espécie do animal e do seu peso (SZKUDELSKI, 2001). A aloxana apresenta menor custo e fraco potencial oncogênico, quando comparada a STZ (LERCO et al., 2003).

O mecanismo citotóxico da aloxana se dá pelo fato deste fármaco ser um derivado da pirimidina, quimicamente similar à glicose (NEGRI, 2005). Com este aspecto químico, é rapidamente conduzida ao interior das células beta pancreáticas, atravessando o transportador de glicose GLUT2 (CAVALLI et al., 2007). Sua ação citotóxica se inicia pelos radicais livres gerados nas reações de oxidação e redução, afetando o metabolismo oxidativo da célula beta, com subsequente necrose seletiva e morte exclusiva destas células (ZANOELLO et al., 2002).

Em Lima et al. (2001), por meio do método imunoistoquímico, observou-se que o pâncreas dos animais submetidos ao uso da aloxana apresentaram redução de 70% da área da ilhota ocupada pelas células beta, chegando até a ausência dela.

De acordo com Lenzen (2008), a aloxana não causa diabetes em humanos. Sua citotoxicidade específica para as células beta produtoras de insulina, promove insuficiência primária do pâncreas, que reage inicialmente liberando menos insulina; posteriormente as células remanescentes secretam quantidades elevadas deste hormônio, podendo gerar grave hipoglicemia nas 24 horas subsequentes a indução; e após este período inicia-se a instalação da hiperglicemia persistente (LERCO et al., 2003). No presente estudo, observou-se no 15º dia do experimento a redução significativa da glicemia, nos animais diabéticos tratados com a infusão dos frutos da *Momordica charantia* L. quando comparados aos animais diabéticos sem tratamento, no entanto, no 30º dia, a glicemia aumentou em ambos os grupos. Nesta condição, pode-se supor que a

redução ocorrida no 15º dia esteja associada ao efeito secretagogo dos componentes da planta nas células beta pancreáticas remanescentes, ou seja, células ainda não destruídas pela aloxana (SNEE et al., 2011).

Uma das propostas do presente estudo foi avaliar o potencial terapêutico da infusão obtida dos frutos da *Momordica charantia* L. no controle da hiperglicemia. Inúmeros estudos sugerem que os frutos da *Momordica charantia* L. apresentam componentes que reduzem a intolerância à glicose, suprimem a glicemia pós-prandial em ratos, melhoram a sensibilidade das células ao hormônio insulina, favorecem a lipólise, além de possivelmente apresentarem efeito hipoglicemiante similares a fármacos já utilizados, como a glibenclamida, que atua nas células beta, estimulando maior secreção de insulina (BAKARE et al., 2010; SNEE et al., 2011). Os resultados obtidos no grupo tratado com a infusão da planta e que mostrou redução significativa da glicemia no 15º dia, em comparação aos animais diabéticos não tratados, estão de acordo com o mecanismo secretagogo atribuído aos componentes químicos da *Momordica charantia* L.

Um estudo realizado por Virdi et al. (2003), utilizou o pó dos frutos inteiros e secos da *Momordica charantia* L. no preparo de extratos, contendo 20 mg/kg desta planta. Notou-se a redução da glicemia em jejum em 48% dos ratos diabéticos tratados, sendo este efeito comparado ao do fármaco glibenclamida, que já é utilizado no tratamento do diabetes tipo II. O mesmo estudo avaliou parâmetros histológicos e bioquímicos do rim e fígado, não evidenciando potencial tóxico da planta nestes órgãos.

De acordo com Chen et al. (2005) estudos farmacológicos indicam que componentes químicos da planta, conhecidos como curcubitanos, são responsáveis pela sua atividade hipoglicemiante. Dentre os mecanismos propostos pela literatura quanto à regulação da hiperglicemia, destaca-se a capacidade do extrato aquoso em estimular a secreção de insulina pelas células beta das Ilhotas de Langerhans, isoladas de camundongos obesos e diabéticos (DAY et al., 1990). Outra publicação feita por Lin et al. (2010), mencionam que o tratamento com comprimidos da *Momordica charantia* L., administrado em dose única a 40 pacientes com diabetes tipo II, aumentaram a concentração sanguínea de insulina, reduzindo a glicemia pós-prandial

após uma refeição leve. Os resultados encontrados no grupo diabético tratado com a planta no 15º dia de experimento do presente estudo estão de acordo com estas pesquisas.

Um experimento feito por Karananayake et al. (1990) em ratos com diabetes induzido por estreptozotocina não evidenciou controle significativo agudo ou cumulativo sobre a hiperglicemia e hemoglobina glicada. Neste estudo ratos receberam o suco da planta numa dosagem de 10 mL/kg durante 30 dias. Os autores alegaram que possivelmente seja necessária uma reserva de células pancreáticas viáveis para que a planta exerça seu efeito em relação ao controle da hiperglicemia. Marles e Farnsworth (1995) utilizaram a charantina (glicosídeo esteroideal), que é um dos componentes ativos da *Momordica charantia* L. quimicamente semelhante ao hormônio insulina. Este componente mostrou efeito antidiabetogênico em gatos normais, no entanto, em gatos com remoção do pâncreas mostrou efeitos equivocados.

Os resultados apresentados no presente estudo sugerem que o êxito na redução da glicemia ocasionada pela infusão da planta esteja correlacionado ao seu efeito secretagogo. O insucesso no controle glicêmico citado por Karananayake et al. (1990) seria justificado pelo fato da estreptozotocina ter maior potencial citotóxico que a aloxana. O mesmo é reforçado no estudo de Marles e Farnsworth (1995). Nesta condição, a suposta dependência de células beta para atuação da planta, sugerida na discussão dos resultados apresentados do presente estudo, corroboram com as citações de Marles e Farnsworth (1995), onde a planta apresentou efeito antidiabetogênico em gatos normais, mas não foi efetiva em gatos submetidos à remoção do pâncreas.

Reforçando esta hipótese Miura et al. (2004) e Senanayake et al. (2004) mencionam que os extratos obtidos dos frutos da *Momordica charantia* L. demonstram-se eficientes no tratamento do diabetes tipo 2, cuja liberação de insulina pelas células  $\beta$  pancreáticas é deficiente. Para Chaturvedi (2012), componentes químicos da *Momordica charantia* L. repararam danos às células beta e aumentam sua capacidade de secretar insulina.

Segundo Machado (1989) a evolução ponderal de ratos é conhecida pela curva de crescimento expressa por massa corpórea na condição em que água e comida são ofertadas *ad libitum*. Esta curva mostra que nos primeiros sete meses de vida, os ratos apresentam ganho constante de peso que, inicialmente, se mostra positivamente acelerado e no decorrer dos dias, desacelera-se gradativamente tendendo a uma relativa estabilidade assintótica. Neste estudo, notou-se esta evolução ponderal nos animais do grupo controle.

Os animais diabéticos sem tratamento apresentaram ganho de peso no 15º dia de experimentação, no entanto, ocorreu redução ponderal no término do estudo. De acordo com Azevedo et al. (2002), a redução de insulina leva à lipólise, havendo liberação de ácidos graxos na circulação, ocasionando consequente perda de peso. A hiperglicemia compromete a entrada da glicose em células sensíveis à insulina, e estas passam a metabolizar principalmente gorduras, havendo redução ponderal (BARONE et al., 2007). No presente estudo, o pico hiperglicêmico nos animais diabéticos sem tratamento, manifestou-se a partir do 15º dia, o que consequentemente favoreceu a redução ponderal evidenciada no 30º dia de experimentação. Grover et al. (2001) realizaram a avaliação do peso de ratos diabéticos que apresentaram diminuição ponderal, enquanto que o grupo controle ganhou peso progressivamente. Os resultados encontrados no presente estudo evidenciaram as mesmas variações ponderais citadas.

Outro estudo mencionado por Volpato et al. (2007) investigou o efeito do *Polymnia sonchifolia* (yacon) em ratas diabéticas e observou que após a manifestação do diabetes, independente do tratamento, os animais apresentaram redução ponderal ao final da experimentação. O mesmo é mencionado por Ferreira (2008), que associa a ausência da insulina à ocorrência da lipólise e redução de peso. No presente estudo, a redução ponderal evidenciada nos animais diabéticos sem tratamento corrobora com esta citação, mostrando que a hiperglicemia se correlaciona com a redução ponderal.

Quanto ao grupo diabético com tratamento, as variações de peso foram menos expressivas daquelas observadas no grupo diabético não tratado, no entanto, evidenciou-se discreto aumento ponderal no 15º dia, seguida da redução de peso no 30º dia, quando comparado ao início do tratamento. De acordo com Viridi et al.

(2003), extratos obtidos dos frutos da *Momordica charantia* L. em baixas dosagens não promovem ganho de peso. Nesta condição, visto que a planta promoveu melhor controle glicêmico neste grupo e não interferiu no peso, justifica-se o resultado apresentado neste estudo.

Um estudo realizado por Rocha et al. (2014) realizou uma metodologia semelhante à deste estudo, onde ratos com diabetes induzido por aloxana receberam a infusão do pó liofilizado dos frutos da *Momordica charantia* L., na concentração de 3 gramas em 30 mL de água destilada. Notou-se que no grupo diabético sem tratamento ocorreu redução de peso em 2,68% dos animais e no grupo diabético tratado com a planta a redução ponderal foi de 11,79%. No presente estudo a planta não interferiu na redução ponderal, no entanto, a concentração administrada foi menor que a utilizada no estudo mencionado.

## 5.2 Concentração sanguínea de ureia

Os valores de referência da ureia para ratos, de acordo com Melo et al. (2012), variam de 30 a 42 mg/dL. Segundo Abraham e Schrier (1997), o isolamento da ureia ocorreu em 1773 e marcou o início das tentativas para quantificar funcionalmente o rim. Em 1903 o nitrogênio ureico foi utilizado para avaliação da função renal e em 1929 introduziu-se o conceito de depuração da ureia.

O valor de ureia no plasma é afetado pela função renal, pelo conteúdo proteico da dieta, pelo teor do catabolismo proteico, estado de hidratação do paciente e presença de sangramento intestinal. Apesar dessas limitações, a concentração de ureia serve como parâmetro de diagnóstico na distinção entre várias causas da insuficiência renal (MOTTA, 2003).

A nefropatia diabética pode ser classificada em três fases evolutivas: nefropatia incipiente ou fase de microalbuminúria, chamada assim por ser caracterizada pelo aumento da excreção urinária de albumina nas concentrações de 20 a 200 µg/minuto; nefropatia clínica ou na fase de macroalbuminúria, chamada assim pela presença de proteinúria persistente superior a 500 mg/24 horas, ou pela excreção urinária de albumina superior a 200 µg/minuto (macroalbuminúria), que se associa a

perda progressiva de função renal, de modo que 10% dos pacientes nesta condição, evoluem para insuficiência renal crônica num prazo de 10 anos; e insuficiência renal terminal com manifestação de uremia (MURUSSI et al, 2003). As médias de ureia observadas nos grupos diabéticos sem e com tratamento deste estudo, caracterizam o comprometimento renal ocasionado pela hiperglicemia persistente nos 30 dias de experimentação.

O uso de extratos vegetais representa uma das expectativas para investigação de fármacos mais eficazes no controle da evolução, ou mesmo na suspensão da nefropatia diabética. Um estudo recente estimou que cerca de 30% dos portadores de diabetes mellitus, utilizam medicina alternativa para o tratamento desta enfermidade e de suas complicações (RAMAN et al., 2012). Um estudo realizado por Raish et al. (2016) mostrou que a administração de um polissacarídeo presente na *Momordica charantia* L. nas concentrações de 150 e 300 mg/kg, respectivamente, reduziram significativamente os valores de nitrogênio ureico no sangue de ratos. Estes valores após o tratamento se aproximaram dos encontrados no grupo controle sem diabetes. No presente estudo o tratamento adotado por 30 dias não interferiu na concentração de ureia, que se manteve elevada no 15º até o término do tratamento. A justificativa pode estar relacionada ao fato de que no estudo mencionado, o tratamento foi feito com um polissacarídeo isolado da *Momordic charantia* L., enquanto que no presente estudo o tratamento foi feito por infusão do pó dos frutos.

### 5.3 Concentração sanguínea de creatinina

Em 1832, o pesquisador francês Michel Eugene Chevreul descobriu uma substância na carne denominada creatina. Em 1880 foi encontrado na urina um metabólito derivado da creatina, a qual foi chamada de creatinina e estaria associada com a quantidade da massa muscular corporal. A síntese de creatina ocorre no fígado e nos rins, que participam da reação metabólica das células, sendo catabolizada nos músculos e excretada através dos rins na forma de creatinina (RIEHI et al., 2004).

A dosagem de creatinina é feita pela reação de Jaffe, que foi descrita em 1886. Esta análise foi modificada viabilizando dosagens diretas no soro, plasma e urina. A

creatinina tornou-se um biomarcador praticamente universal para avaliar a filtração glomerular, sendo possível realizar diagnóstico de doença renal e monitorar sua evolução. Dois testes fundamentais no diagnóstico de doença renal crônica são a dosagem de creatinina e a pesquisa da excreção urinária de proteínas (BASTOS; KIRZTAJN, 2011). Estes parâmetros foram utilizados no presente estudo.

Para ratos, os valores de referência de creatinina variam de 0,44 a 0,64 md/dL. (MELO et al., 2012). Os valores obtidos no grupo controle deste estudo estão de acordo com a referência apresentada.

A comparação entre as médias do grupo diabético sem tratamento com o grupo tratado com a planta, mostrou redução significativa de creatinina ( $p=0,022$ ), mostrando que os frutos da *Momordica charantia* L. exercem renoproteção nas lesões ocasionadas pela hiperglicemia. Este resultado está de acordo com estudos já publicados que mencionam que os frutos da *Momordica charantia* L. apresentam capacidade de reduzir níveis séricos de creatinina, sendo este efeito também observado no soro de camundongos com diabetes induzido por estreptozotocina (GROVER et al. 2001; ABDOLLAHI et al., 2011).

Um estudo realizado por Mardani et al. (2014) em camundongos que receberam doses únicas da *Momordica charantia* L. nas concentrações de 0, 100, 500, 1000, 2000 e 4000 mg/kg e doses múltiplas 500 mg/kg por dia, durante 7 dias, por via intraperitoneal, avaliaram a concentração de creatinina no sangue. Os resultados obtidos não evidenciaram alterações deste biomarcador. Em comparação ao presente estudo, inúmeros fatores metodológicos foram diferentes, em particular a via de administração da planta e o tempo de tratamento. Estes fatores devem ser considerados com objetivo de se estabelecer os eventos farmacocinéticos que validem a administração do extrato vegetal.

Raish et al. (2016) isolaram um peptídeo da *Momordica charantia* L. que obteve êxito na redução da creatinina, concomitante a redução de ureia no sangue de ratos diabéticos. Os resultados apresentados no presente estudo corroboram com o potencial redutor de creatinina atribuído à *Momordica charantia* L. Nota-se na comparação entre os estudos que sua forma de uso bruta (pó seco) ou com seu componente isolado foram eficientes na redução sanguínea de creatinina. Destaca-se nesta comparação que o

veículo aquoso foi um parâmetro comum aos dois estudos, contendo princípios ativos com atividade renoprotetora.

El Sattar et al. (2006) realizaram um estudo toxicológico com extratos da *Momordica charantia* L. em ratos normais e com diabetes induzido por Aloxana. Nos ratos normais a planta não alterou a concentração sanguínea de ureia e creatinina, no entanto, ocorreu redução significativa nestes parâmetros nos animais diabéticos. Estes resultados sugerem que o extrato desta planta exerce proteção renal.

#### 5.4 Microscopia eletrônica e excreção urinária de proteínas

Extratos obtidos da *Momordica charantia* L. apresentaram capacidade de proteger os glomérulos de ratos dos efeitos lesivos ocasionados pela hiperglicemia, reduzindo a excreção urinária de albumina (GROVER; VATS, 2001). Neste estudo, os animais diabéticos tratados com a *Momordica charantia* L. tiveram menor proteinúria em relação aos animais diabéticos sem tratamento, corroborando com esta citação. Este efeito pode estar associado ao potencial antioxidante desta planta. A hiperglicemia persistente aumenta o estresse oxidativo e reduz a cinética das enzimas antioxidantes catalase, glutatona peroxidase e glutatona redutase. A administração oral do extrato da *Momordica charantia* L. em ratos diabéticos reduziu a peroxidação lipídica, aumentou a cinética das enzimas antioxidantes e restaurou a quantidade de glutatona em ratos diabéticos. Estes efeitos podem minimizar as complicações relacionadas com o diabetes, como retinopatia diabética, neuropatia e nefropatia (CHANDRA et al., 2007). Concomitantemente a redução da proteinúria no grupo diabético tratado com *Momordica charantia* L., o presente estudo demonstrou a preservação de estruturas glomerulares pela microscopia eletrônica, que se correlacionam a este efeito renoprotetor.

As alterações estruturais decorrentes da hiperglicemia associam-se com a produção dos produtos finais da glicação não enzimática, que afetam a integridade da membrana basal glomerular, da matriz extracelular e podócitos. Nesta condição, haverá aumento do fator de crescimento beta, que estimula a expansão da matriz extracelular, contribuindo para o espessamento da membrana basal (VLASSARA; PALACE, 2002). Estas alterações foram evidenciadas em nosso estudo, onde a microscopia eletrônica do

grupo diabético sem tratamento mostrou expansão da matriz extracelular, espessamento e ruptura da membrana basal que envolve os capilares glomerulares. Ocorreu também perda dos podócitos com seus pedicelos. Estas alterações estruturais se correlacionam à manifestação da proteinúria evidenciada nos animais diabéticos sem tratamento do presente estudo.

Para Guyton e Hall (1996), os capilares glomerulares apresentam 3 camadas: endotélio, membrana basal e epitélio externo ou podócitos. Juntas, estas três camadas filtram muito mais água e solutos do que as membranas dos demais capilares do leito vascular. Apesar disto, a membrana basal presente nos capilares glomerulares em condições normais repele proteínas plasmáticas. Nesta condição, as alterações estruturais ocorridas na membrana basal no grupo diabético sem tratamento (espessamento da membrana basal e áreas com ruptura), justificam a manifestação clínica da proteinúria e lesão renal ocasionada neste grupo.

Nos resultados apresentados na figura 19, nota-se que a infusão dos frutos da *Momordica charantia* L. mostrou potencial protetor nas estruturas glomerulares. Esta evidência estrutural se correlaciona com a redução da excreção urinária de proteínas deste mesmo grupo, apresentados na figura 16. Houve preservação da matriz extracelular, da membrana basal, dos podócitos e pedicelos no grupo diabético tratado, tanto no rim isquêmico e não isquêmico. Extratos obtidos da *Momordica charantia* L. conseguiram exercer proteção glomerular em relação aos efeitos deletérios ocasionados pela hiperglicemia (VIRDI et al., 2001). Os resultados do presente estudo foram semelhantes.

A progressão da lesão renal tem sido cada vez mais relacionada à participação de processos inflamatórios que promovem fibrose e esclerose glomerular (RUIZ-ORTEGA et al., 2001). Estudos clínicos associam o papel das citocinas pró-inflamatórias na progressão das lesões glomerulares (LAN et al., 1995). A proteinúria e alterações morfológicas do glomérulo se correlacionam com o aumento da citocina fator e transformação de crescimento -TGF- $\beta$ 1 (HONKANEN et al., 1997). No presente estudo o grupo diabético tratado com a infusão dos frutos da *Momordica charantia* L. apresentou a preservação das estruturas glomerulares afetadas pela hiperglicemia.

Estudos realizados mencionam que o pó da *Momordica charantia* L. apresenta capacidade de reduzir significativamente as citocinas pró-inflamatórias pela supressão da ativação das vias de sinalização celular NF-kB (NERURKAR et al., 2011). Esta via de sinalização celular é ativada por mediadores inflamatórios e estimula a proteinúria e lesão renal (DONADELLI et al., 2000). Desta forma, a preservação das estruturas glomerulares evidenciadas pela microscopia eletrônica no grupo diabético tratado com a planta, pode ser justificada pelo suposto efeito anti-inflamatório atribuído a *Momordica charantia* L.

Quanto à manobra da isquemia e reperfusão renal, os animais do grupo diabético tratado com a planta não apresentaram lesões glomerulares. Estudos publicados mencionam que a *Momordica charantia* L. protegeu o tecido nervoso submetido à isquemia e reperfusão, reduzindo o estresse oxidativo, inibindo a liberação de citocromos c, inibindo a fosforilação da via de sinalização celular JNK3 e reduziu a expressão de Fas-L (GONG et al., 2015). Estes mecanismos atribuídos à planta na proteção do tecido nervoso corroboram com a renoproteção evidenciada pela microscopia eletrônica do glomérulo no presente estudo. Esta evidência sugere que componentes desta planta também exerçam proteção no tecido renal.

Dentre as limitações deste estudo destaca-se que a administração da infusão e as análises propostas foram feitas apenas em ratos e por um período de 30 dias. Não foi possível avaliar o potencial renoprotetor dos frutos da *Momordica charantia* L. no período pós-operatório.

## 6 CONCLUSÕES

A *Momordica charantia* L. mostrou-se eficaz na redução da glicemia no 15º dia de experimento, período este onde a presença de células beta remanescentes do efeito citotóxico da aloxana, tenha permitido a melhora da glicemia por suposto mecanismo secretagogo da planta. Quanto a variação ponderal os animais tratados com a planta apresentaram aumento de peso no 15º dia, seguida da redução no 30º dia. Em relação à creatinina, esta reduziu significativamente em relação aos animais diabéticos sem tratamento, enquanto que a ureia se manteve elevada durante todo o período experimental. A excreção urinária de proteínas reduziu significativamente nos animais diabéticos tratados em comparação aos diabéticos não tratados, sendo que este resultado bioquímico foi reforçado pela microscopia eletrônica que evidenciou preservação da membrana basal, dos podócitos, de suas projeções e ausência de expansão extracelular no glomérulo dos ratos diabéticos tratados com a infusão dos frutos da *Momordica charantia* L. Desta forma, conclui-se que a planta apresenta potencial renoprotetor.

## REFERÊNCIAS

ABAS, R.; OTHMAN, F. O.; TRENT, Z. C. Effect of *Momordica charantia* fruit extract on vascular complication in type 1 diabetic rats. **EXCLI J.**, v. 14, p. 179-189, 2015.

ABDOLLAHI, M. et al. Effects of aqueous extract *Momordica charantia* in renal histopathological changes associated with streptozotocin- diabetes mellitus type II induced in newborn rats. **J. Med. Plants Res.**, v. 5, n. 9, p. 1779-1787, 2011.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Economic costs of diabetes in the USA in 2012. **Diabetes Care**, v. 36, p. 1033-1046, 2013.

ANG-LEE, M. K.; MOSS, J.; YUAN, C. Herbal medicines and perioperative care. **J. Am. Med. Assoc.**, v. 286, n. 2, p. 208-216, 2001.

ANTUNES, P. E. et al. Renal dysfunction after myocardial revascularization. **Eur. J. Cardiothoracic. Surg.**, v.25, n.4, p.597-604, 2004.

AZEVEDO, A. P.; PAPELBAUM, M.; D`ELIA, F. Diabetes e transtornos alimentares: uma associação de alto risco. **Rev. Bras. Psiquiatr.**, v. 24, n. 3, p. 77-80, 2002.

BAJWA, S. J. S.; PANDA, A. Alternative medicine and anesthesia: Implications and considerations in daily practice. **Int. Q. J. Res. Ayu.**, v. 33, n. 4, p.475-480, 2012.

BAKARE, R. I. et al. Nutritional and chemical evaluation of *Momordica charantia*. **J. Med. Plant Res.**, v. 4, n 21, p. 2189-2193, 2010.

BARONE, B. et al. A cetoacidose diabética em adultos – Atualização de uma complicação antiga. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.51, n.9, p.1434-1447. 2007.

BASTOS, M. G.; KIRSZTAIN, G. M. Chronic kidney disease: importance of early diagnosis, immediate refer.al and structured interdisciplinary approach to improve outcomes in patients not yet on dialysis. **J. Bras. Nefrol.**, v..33, n.1, p..93-108, 2011.

BOSI, P.L. et al. Prevalência de diabete melito e tolerância à glucose diminuída na população urbana de 30 a 79 anos da cidade de São Carlos, São Paulo. **Arq. Bras. Endocrinol. Metabol.**, v.53, n,6, p.726-32, 2010.

BRAGANÇA, L. A. R. **Plantas medicinais antidiabéticas. Uma abordagem multidisciplinar.** Rio de Janeiro: Editora EDUFF, 1996, p.168-169.

BREZIS, M.; ROSEN, S. Hypoxia of the renal medulla-its implications for disease. **N. Engl. J. Med.**, v.9, n.10.p.647-655, 1995.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature.** v. 414, n.6865, p. 813-20, 2001.

- BURROWS, N. R. et al. Incidence of treatment for end-stage renal disease among individuals with diabetes in the U.S. continues to decline. **Diabetes Care**, v.33, n.1, p.73–77, 2010.
- BUSCH, M., FRANKE, S., RUSTER, C., WOLF, G. Advanced glycation end-products and the kidney. **Eur. J. Clin. Invest.**, v.40, n.8, p.742–755, 2010.
- CAVALLI, V. L. L. O. et al. Avaliação in vivo do efeito hipoglicemiante de extratos obtidos da raiz e folha de bardana *Arctium minus* (Hill). **Rev. Bras. Farmacogn.**, v.17, n.1, p.64–70, 2007.
- CHANDRA, A. et al. Indian herbs result in hypoglycemic responses in streptozotocin induced diabetic rats. **Nutr. Res.**, v.27, n.3, p.161–168, 2007.
- CHATURVEDI P. Antidiabetic Potentials of *Momordica charantia*: Multiple Mechanisms Behind the Effects. **J. Med. Food**, v.15, n.2, p.101–107, 2012.
- CHEN J. C. et al. Cucurbitacins and cucurbitane glycosides: Structures and biological activities. **Nat. Prod. Rep.**, v.22, n.3, p. 386–399, 2005.
- CHEN, B. et al. Diabetic nephropathy and transforming growth factor-beta: transforming our view of glomerulosclerosis and fibrosis build-up. **Semin. Nephrol.**, v.23, n.6, p. 532–543, 2003.
- CHUNG, S. S. et al. Contribution of polyol pathway to diabetes-induced oxidative stress. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v.14, n.3, p.233–236, 2003.
- COCA, S. G. et al. Chronic Kidney Disease after Acute Kidney Injury: A Systematic Review and Meta-analysis. **Kidney Int.**, v.81, n.5, p.442–448, 2012.
- COLLARD, C. D.; GELMAN, S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. **Anesthesiology**, v.94, n.6, p.1133–1138, 2001.
- COLSON, P. et al. Hemodynamic effects of anesthesia in patients chronically treated with angiotensin-converting enzyme inhibitors. **Anesth. Analg.**, v.74, p.805–808, 1992.
- CORIAT, P. et al. Influence of chronic angiotensin-converting enzyme inhibition on anesthetic induction. **Anesthesiology**, v.81, n.2, p.299–307, 1994.
- COSTA, J. A.C. et al. Insuficiência Renal Aguda. **Rev. Med.**, v.36, n.2, p.307–324, 2003.
- DAY, C. et al. Hypoglycaemic effect of *Momordica charantia* extracts. **Planta Med.**, v.56, n.5, p.426–429, 1990.
- DIRKS, J. H. et al. Prevention of chronic kidney and vascular disease: toward global health equity--the Bellagio 2004 Declaration. **Kidney Int.**, v.68, n.98, p.1–6, 2005.

- DONADELLI, R. et al. Protein traffic activates NF-kB gene signaling and promotes MCP-1-dependent interstitial inflammation. **Am. J. Kidney Dis.**, v.36, n.6, p.1226-41, 2000.
- DUTRA, V.F. et al. Desequilíbrios hidroeletrólíticos na sala de emergência. **Rev. Bras. Clin. Med.**, v.10, n.5, p.410-419, 2012.
- EL SATTAR A. et al. Some toxicological studies of *Momordica charantia* L. on albino rats in normal and alloxan diabetic rats. **J. Ethnopharmacol.**, v.108, n.2, p.236-42, 2006.
- FERREIRA, R. M. **Efeito da infusão dos frutos da *Momordica charantia* L. em ratas diabéticas.** 2008. 76 f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2008.
- FLYVBJERG, A. et al. Long-term renal effects of a neutralizing RAGE antibody in obese type 2 diabetic mice. **Diabetes**, v.53, n.3, p.66–172, 2004.
- FORSTER, A. et al. Studies on absorption and elimination of dietary maillard reaction products. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.10, n.43, p.474-81, 2005.
- FRANCO, M. et al. **Patologia: processos gerais.** 5ª ed. São Paulo: Ed. Atheneu, 2010, p.331.
- GALLO, E. et al. Pharmacovigilance of herb-drug interactions among preoperative patients. **Alt. Ther. Health Med.**, v. 20, n.2, p.13-17, 2014.
- GERALDES, P.; KING, G.L. Activation of protein kinase C isoforms and its impact on diabetic complications. **Circ Res.**, v.106, n.8, p.1319–1331, 2010.
- GOLDBERG, T. et al. Advanced glycoxidation end products in commonly consumed foods. **J., Am. Diet. Assoc.**, v.104, n.8, p.1287-91, 2004.
- GONG J. et al. *Momordica charantia* polysaccharides could protect against cerebral ischemia/reperfusion injury through inhibiting oxidative stress mediated c-Jun N-terminal kinase 3 signaling pathway. **Neuropharm.**, v.91, p.123–134, 2015.
- GRANGER, D. N.; KORTHUIS, R, J. Physiologic mechanisms of postischemic tissue injury. **Annu. Rev. Physiol.**, v.57, p.311-32. 1995.
- GROSS, J. L. et al. Nefropatia diabética e doença cardíaca. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 51, n. 2, p. 244-256, 2007.
- GROVER, J. K.; VATS, V. Shifting paradigm “from conventional to alternative medicine”. An Introduction on Traditional Indian Medicine. **Asia Pacific Biotech. News**, v.5 n.1 p.28-32. 2001.

- GROVER, J. K.; YADAV, S. P. Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. **J. Ethnopharmacol.**, v.93, p.123-132, 2004.
- GUALANDRO, D.M. et al. II Diretriz de Avaliação Perioperatória da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.96, n.3, p. 1-68, 2011.
- GUYTON, A. C.; HALL, J. **Tratado de Fisiologia Médica**. 9ª Ed. São Paulo: Guanabara Koogan, 1996, p. 291-304.
- HONKANEN, E, et al. Urinary transforming growth factor-beta 1 in membranous glomerulonephritis. **Nephrol. Dial. Transplant.**, v.12, p. 2562-2568, 1997.
- JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. Texto/Atlas. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p.281- 299, 2011.
- KARANANAYAKE, E. H. et al. Effect of *Momordica charantia* fruit juice on streptozotocin-induced diabetes in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 30, n. 2, p. 199-204, 1990.
- KASPER, D. et al. **Harrison's Principles of Internal Medicine**. 19. Ed. English: McGraw Hill, p.33 -45, 2015.
- KDIGO - Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. **Kidney Int. Suppl.**, v.2, n.1, p.8-12, 2012.
- KLAUSEN, K. et al. Very low levels of microalbuminuria are associated with increased risk of coronary heart disease and death independently of renal function, hypertension, and diabetes. **Circulation**, v.110, n.1, p. 32-35, 2004.
- KUMAR, V. et al. **Robbins e Cotran: bases patológicas das doenças**. 8ª Ed. Rio de Janeiro: Elsevier, p.453- 470, 2010.
- KUZUYA, T. et al. Delayed effects of sublethal ischemia on the acquisition of tolerance to ischemia. **Circ. Res.**,v.72, n.6, p1293-9, 1993.
- LAN, H. Y. et al. Interleukin-1 receptor antagonist halts the progression of established crescentic glomerulonephritis in the rat. **Kidney Int.**, v.47, p.1303-1309, 1995.
- LEAK, J. Perioperative considerations in the management of the patient taking herbal medicines. **Curr. Opin. Anaesthesiol.**, v.13, n.3, p. 321-5, 2000.
- LEE, C.S. et al. Renal transplantation in diabetes mellitus in rats. **J. Exp. Med.**, v.139, n.4, p. 793-800, 1974.
- LERCO,M. et al. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes Mellitus, induzido por aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cir.Bras**.vol.18, n.2, p.132-142, 2003.

LERCO, M. M. **Nefropatia diabética experimental: estudo de parâmetros clínicos, laboratoriais e análise ultra-estrutural e morfométrica da membrana basal e podócitos glomerulares de ratos diabéticos induzidos pela aloxana.** 2004. 113 f. Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista, 2004.

LESLIE, R. D. et al. Level of an advanced glycated end product is genetically determined. A study of normal twins. **Diabetes**, v.52, n.9, p.2441-4, 2003.

LEVINE, G.N. et al. 2011 ACCF/AHA/SCAI Guideline for Percutaneous Coronary Intervention: a report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines and the Society for Cardiovascular Angiography and Interventions. **Circulation**. v.124, n.23, p574-651, 2011.

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

LIEBERTHAL, W.; NYGAM, S. K. Acute renal failure.I. Relative importance of proximal x distal tubular injury. **Am. J. Physiol.**, v.272, p.622-632, 1998.

LIMA, M.A. et al. Análise quantitativa das células das ilhotas pancreáticas em ratos sob efeito de aloxana. **Medicina (Ribeirão Preto)**, v.34, p.308-314. 2001.

LIN, S.T. et al. The mocha DM study: The effect of *Momordica Charantia* tablets on glucose and insulin levels during the postprandial state among patients with type 2 diabetes mellitus. **Philipp. J. Int. Med.**, v.48, p.19-25, 2010.

LO, D. C. **Fórmulas magistrais Chinesas.** São Paulo: Roca, 2008. p.590.

LORENZI, H.; SOUZA, V.C.et al. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II.** 2ª Ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2008, p. 86-92.

MACEDO, C.S. **Nefropatia diabética experimental no rato. Efeito de acarbose, insulina e acarbose associada a insulina sobre as lesões renais. Estudo semiquantitativo à microscopia óptica.** 2000. [tese]. Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2000.

MACHADO, U.F. Alteração de secreção de insulina em rato Wistar com 12 meses de idade. Tese de doutorado. São Paulo : Universidade de São Paulo, 1989.

MACHADO, J.L.M. **Neuropatia diabética experimental: estudo morfológico e morfométrico do nervo ciático de ratos diabéticos.** [dissertação]. Botucatu: Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista; 1993.

MAHMOUD, M. F. et al. Studies on the antidiabetic activities of *Momordica charantia* fruit juice in streptozotocin-induced diabetic rats. **Pharm. Biol.**,v.55, n.1, p.758-765, 2017.

- MARDANI, S, et al. Impact of *Momordica charantia* extract on kidney function and structure in mice. **J. Nephrologist**, v.3, n.1, p. 35–40, 2014.
- MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Phytomedicine**, v.2, n.2, p.137-89, 1995.
- MCANULTY, G.R. et al. Anaesthetic management of patients with diabetes mellitus. **Br. J. Anaesth.**, v.85, n.1, p. 80-90, 2000.
- MELO, M. G. D. Valores de referência Hematológicos e Bioquímicos de Ratos (*Rattus norvegicus* linhagem Wistar) provenientes do biotério central da Universidade Federal de Sergipe. **Sci. Plena**, v.8, n.4, p.1-6, 2012.
- MISHRA, A. et al. Effect of *Momordica charantia* fruits on streptozotocin-induced diabetes mellitus and its associated complications. **Int. J. Pharm. Pharm. Sci.**, v.7, n.3, p.356–363, 2015.
- MIURA, T. et al. Suppressive activity of the fruit of *Momordica charantia* with exercise on blood glucose in type 2 diabetic mice. **Biol. Pharm. Bull.**, v. 27, p. 248-250, 2004.
- MONTEIRO, A. G. et al. Complicações cardiovasculares na diabetes: Prevenções Primária e Secundária nos CSP. **Rev. Port. Clin. Geral**, Portugal, v. 23, n. 6, p. 627-647, 2007.
- MOTTA, V. T. **Bioquímica Clínica para o Laboratório-Princípios e Interpretações**. 5. ed. Rio de Janeiro: MedBook, 2009, p. 256-258.
- MURUSSI, M. et al. Risk factors for microalbuminuria and macroalbuminuria in type 2 diabetic patients. **Diabetes Care**, v. 25, p.1101-3, 2002.
- MURUSSI, M. et al. Nefropatia Diabética no Diabetes Mellito Tipo 2: Fatores de Risco e Prevenção. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 47, n. 3, p. 207-19, 2003.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC). **Guide for the care and use of laboratory animals**. National Research Council. Washington: National Academy Press, 1996.
- NEGRI G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Rev. Bras. Cienc. Farm.**, v.41, n.2, p.121-42, 2005.
- NERURKAR, P.V. Strategies to improve palatability and increase consumption intentions for *Momordica charantia* (bitter melon): A vegetable commonly used for diabetes management. **Nutr. J.**, v.10, p.78, 2011.
- PAIVA, I. Diabetes Mellitus e cirurgia. **Acta Med. Port.**, v.17, p.94-9, 2004.
- PETTIFOR, J.M. et al. Serum levels of free 1,25-dihydroxyvitamin D in vitamin D toxicity. **Ann. Intern. Med.**, v.122, p.511-3, 1995.

- PICINATTO, C.E. Perspectivas na terapia da isquemia e reperfusão. **J. Vasc. Bras.**, v.13,n.3, p.159-161, 2014.
- POREDOSA, P; JUG, B. The prevalence of peripheral arterial disease in high risk subjects and coronary or cerebrovascular patients. **Angiology**, v.16, p.114-122, 2007.
- RAISH , M. et al. Momordica charantia polysaccharides mitigate the progression of STZ induced diabetic nephropathy in rats. **Int. J. Biol. Macromol.**, v.91, p. 394-399, 2016.
- RAMAN, B.V. et al. Plants with antidiabetic activities and their medicinal values. **Int. Res. J. Pharm.**, v.3, n.2, p.11-15, 2012.
- RAMANA, K.V. et al. Requirement of aldose reductase for the hyperglycemic activation of protein kinase C and formation of diacylglycerol in vascular smooth muscle cells. **Diabetes**, v.54, p.818-829, 2005.
- RANG, H. P.; DALE, M. M., FLOWER, R. J. **Rang e Dale: Farmacologia**. 6ª edição, Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, p.377.
- REIS, J. S. et al. Estresse oxidativo: Revisão da sinalização metabólica no Diabetes tipo 1. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v. 52, n. 7, p. 1098, 2008.
- RIEHI, O. et al. Excreção de creatinina como meio de análise da massa corporal magra. **Rev. Digital**, v.10, n.69, p.1, 2004.
- RISPLER, D.T.; SARA, J. The Impact of Complementary and Alternative Treatment Modalities on the Care of Orthopaedic Patients. **J. Am. Acad. Orthop. Surg.**, v. 19, n. 10, p.634-643, 2011.
- ROCHA, M.T.A. Ratos diabético-induzidos submetidos à infusão de *Momordica charantia* L. **Ciênc. Nat.**, v. 36, n.2, p. 711-717, 2014.
- RUIZ-ORTEGA, M. et al. Proinflammatory actions of angiotensins. **Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.**, v.10, p.321-329, 2001.
- SARAFIDIS, P.A.; BAKRIS, G.L. Level of kidney function determines cardiovascular fate after coronary bypass graft surgery. **Circulation**, v.113, p.1046-7, 2006.
- SARNAK, M. J. Cardiovascular complications in chronic kidney disease. **Am. J. Kidney Dis.**, v.41, n.5, p.11-17, 2003.
- SCHRIJVERS, B. F. et al. From Hyperglycemia to Diabetic Kidney Disease: The Role of Metabolic, Hemodynamic, Intracellular Factors and Growth Factors/Cytokines. **Endocr. Rev.**, v.25, n.6, p.971-1010, 2004.
- SCHUTTA, M. H. Diabetes and hypertension: epidemiology of the relationship and pathophysiology of factors associated with these comorbid conditions. **J. Cardiometab. Syndr.**, v.2, p.124-130, 2007.

- SENANAYAKE, G. V. K. et al. The effects of bitter melon (*Momordica Charantia*) on serum and liver triglyceride levels in rats. **J. Ethnopharmacol.**, v. 91, p. 257-262, 2004.
- SEYMEN, P. et al. Evaluation of visual evoked potentials in chronic renal failure patients with different treatment modalities. **J. Nephrol.**, v. 23, n. 06, p. 705- 710, 2010.
- SNEE, L. S. et al. Strategies to improve palatability and increase consumption intentions for *Momordica charantia* (bitter melon): a vegetable commonly used for diabetes management. **Nutr. J.** v.10, p.78, 2011.
- SILVA, P. **Farmacologia**. 8ªEd. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2010, p. 717-726.
- SOURRIS, K.C. et al. A new perspective on therapeutic inhibition of advanced glycation in diabetic microvascular complications: common downstream endpoints achieved through disparate therapeutic approaches? **Am. J. Nephrol.**,v.30, p.323–335, 2009.
- SPADELLA, C.T. et al. Effect of pancreas transplantation on the prevention of nephropathy in alloxan-induced diabetic rats. **Braz. J. Med. Biol. Res.**,v.29, p.1019-24, 1996.
- STEEN, O. T. et al. Kidney lesions in rats with severe long-term alloxan diabetes. **Acta Pathol. Microbiol. Scand.**, v.66, p. 1-12, 1966.
- SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the Rat pancreas. **Physiol Res.**,v.50, p. 50:536-46, 2001.
- TAN, A. L. et al. AGE, RAGE, and ROS in diabetic nephropathy. **Semin. Nephrol.**, v.27, p.130–143, 2007.
- TESSIER, D. J.; BASH, D. S. A surgeon's guide to herbal supplements. **J. Surg. Res.**,v.114, n.1, p.30-36, 2003.
- THRALL, M. A. **Hematologia e bioquímica clínica veterinária**. 1.ed. São Paulo: Roca, p. 181 – 184, 2007.
- TSAI, H. H. et al. Evaluation of documented drug interactions and contraindications associated with herbs and dietary supplements: a systematic literature review. **Int. J. Clin. Pract.**, v. 66, n. 11, p.1056-1078, 2012.
- TUMAN, K.J. et al. Angiotensin-converting enzyme inhibitors increase vasoconstrictor requirements after cardiopulmonary bypass. **Anesth. Analg.**, v.80, p.473, 1995.
- US RENAL DATA SYSTEM. Annual data report. **Am. J. Kidney Dis.**,v.45, p.69-80, 2005.

- VAIDYA, V. S, Biomarkers of acute kidney injury. **Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.**, v.48, p.463-93, 2008.
- VELDE, M.V. D. et al. Levey Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. **Kidney Int.**, v.79,n.12, p. 1341-1352, 2011.
- VIJAN, S.; HAYWARD, R.A. Pharmacologic lipid-lowering therapy in type 2 diabetes mellitus: background paper for the American College of Physicians. **Ann Intern Med.** v.140, n.8, p.650-8, 2004.
- VINTEN-JOHANSEN, J.; SHI, W. Perconditioning and pos-tconditioning: current knowledge, knowledge gaps, barriers to adoption, and future directions. **J. Cardiovasc. Pharmacol. Ther.**, v.16, n.3, p.260-6, 2011.
- VIRDI, J. et al. Antihyperglycemic effects of three extracts from *Momordica charantia*. **J. Ethnopharmacol.**, v.88, p.107-11, 2003.
- VLASSARA H, PALACE MR. Diabetes and advanced glycation endproducts. **J. Intern. Med.**, v.251, n.2, p.87-101, 2002.
- VLASSARA, H. Advanced glycation in health and disease. Role of the modern environment. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v.1043, p.452-60, 2005.
- VLASSARA, H.; PALACE, M.R. Diabetes and advanced glycation endproducts. **J. Intern. Med.**, v.251, n.2, p.87-101, 2002.
- VOLPATO, G.T. et al. Efeito do extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* (yacon) em ratas diabéticas. **Rev. Bras. Plantas Med.**, v.88, p.88-93, 2007.
- WAJCHENBERG, B. L. et al. Cardiovascular disease in type 1diabetes mellitus. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, São Paulo, v.52, n. 2, p. 387-397, 2008.
- WANNER, C. et al. Lipid metabolism in chronic kidney disease: the role of statins in cardiovascular risk. **J. Ren. Nutr.**, v. 17, n. 1, p. 75-78, 2007.
- WELLS, B.G. et al. **Manual de Farmacoterapia**. 6ª edição, São Paulo: McGrawHill, 2006, p.792.
- WILD, S. et al. Global prevalence of diabetes. **Diabetes Care**, v.27, n.5, p.1047-53, 2004.
- WILSON, P. W. Diabetes mellitus and coronary heart disease. **Am. J. Kidney Dis.**, v. 32, n.3, p.89-100, 1998.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. Diabetes: the cost of diabetes. WHO fact sheet. September 2002, n. 236.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Report of a WHO Consultation. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Geneva: World Health Organization; 1999. (WHO/NCD/NCS/99.2).

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Traditional Medicine Strategy 2002 – 2005**. Geneva: WHO, 2002.p 74.

YU, L. et al. Métodos Dialíticos em UTI. **Ars Curandi**, v.30, n.4, p.44-53, 1997.

ZANOELLO, A.M. Efeito Protetor do *Syzygium cumini* contra Diabetes mellitus induzido por Aloxano em Ratos. **Acta Farm. Bonaerense**, v.21, n.1, p.31-6, 2002.

ZHANG, X. et al. Prevalence of diabetic retinopathy in the United States, 2005-2008. **JAMA**, v. 304, p.649–56, 2010.

**ANEXO A – Termo de aprovação da Comissão de ética no uso de animais –  
CEUA-USC**

 UNIVERSIDADE DO  
**SAGRADO  
CORÇÃO**  
A Universidade de Deus aqui

PRÓ-REITORIA DE  
PESQUISA E  
PÓS-GRADUAÇÃO

**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS  
CEUA - USC**

**CERTIFICADO**

PROTOCOLO N° 24/14

A CEUA USC dentro de suas competências e seguindo normas vigentes no Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal - CONCEA, analisou o projeto "INVESTIGAÇÃO DO EFEITO DA *Momordica charantia* L. NO CONTROLE GLICÊMICO E NA RENOPROTEÇÃO DE RATOS COM NEFROPATIA DIABÉTICA SUBMETIDOS A MANOBRA DE ISQUEMIA E REFERFUSÃO RENAL", sob a responsabilidade do pesquisador MARCIA CLÉLIA LEITE MARCELINO e o considerou APROVADO.

Bauru, 24 de novembro de 2017



Dra. Dulce H. J. Constantino  
Presidente CEUA - USC