

# RESSALVA

Atendendo solicitação da autora, o texto completo desta **Tese** será disponibilizado somente a partir de 17/06/2021.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"  
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS  
CÂMPUS DE ARARAQUARA**



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

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DA CURCUMINA E  
AMINOGUANIDINA EM IOGURTE, ISOLADAS E CO-ADMINISTRADAS:  
ALTERAÇÕES METABÓLICAS, ESTRESSE GLICO-OXIDATIVO E FUNÇÃO  
NEUTROFÍLICA**

**Tayra Ferreira Oliveira de Lima**

**Orientador: Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti**

**Araraquara/SP**

**2019**

**Tayra Ferreira Oliveira de Lima**

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIDIABÉTICO DA CURCUMINA E  
AMINOGUANIDINA EM IOGURTE, ISOLADAS E CO-ADMINISTRADAS:  
ALTERAÇÕES METABÓLICAS, ESTRESSE GLICO-OXIDATIVO E FUNÇÃO  
NEUTROFÍLICA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em  
Biotecnologia e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia,  
da Faculdade de Ciências Farmacêuticas, UNESP,  
como parte dos requisitos para obtenção do Título de  
Doutor, área de pesquisa em bioquímica.

Orientador: Prof. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti

**Araraquara/SP**

**2019**

---

**L732a** Lima, Tayra Ferreira Oliveira de.  
Avaliação do potencial antidiabético da curcumina e aminoguanidina em iogurte, Isoladas e co-administradas: alterações metabólicas, estresse glico-oxidativo e função neutrofílica / Tayra Ferreira Oliveira de Lima. – Araraquara: [S.n.], 2019.  
189 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. "Júlio de Mesquita Filho". Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Biotecnologia e Biotecnologia Aplicadas à Farmácia. Área de Pesquisa em Bioquímica.

Orientador: Iguatemy Lourenço Brunetti.

1. Curcumina. 2. Aminoguanidina. 3. Diabetes mellitus. 4. Estresse glico-oxidativo. 5. Neutrófilos. I. Brunetti, Iguatemy Lourenço, orient. II. Título.

---

Diretoria do Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação - Faculdade de Ciências Farmacêuticas  
UNESP - Campus de Araraquara

**CAPES: 33004030081P7**

**Esta ficha não pode ser modificada**

## AGRADECIMENTOS

*À Deus, primeiramente, por me guiar, iluminar e me dar forças.*

*À minha mãe e avó Eneas, meu alicerce, sem vocês nada seria possível. Agradeço pelo amor, confiança, motivação e ajuda no biotério. Obrigada pela compreensão ao serem privadas em muitos momentos da minha companhia e atenção. Obrigada por cuidarem tão bem de mim e pelo imenso apoio.*

*Ao meu irmão Tiago pelo carinho e incentivo de sempre.*

*Ao meu noivo Gabriel por ter caminhado ao meu lado, pelo seu amor, apoio, compreensão e por me fazer sempre acreditar que o melhor estava por vir. Obrigada por sempre estar disposto a vir ficar comigo e também pela ajuda no biotério.*

*Aos meus familiares e familiares do meu noivo por todo amor e motivação de sempre.*

*Às minhas amigas Bruna, Cristina, Jaqueline e Olívia, por todo carinho e incentivo nesses anos.*

*Ao meu orientador professor. Dr. Iguatemy Lourenço Brunetti, pela oportunidade de realizar este trabalho, por todos os ensinamentos, dedicação, paciência e motivação. Agradeço imensamente pela sua orientação que me guiou ao longo desses anos e me tornou o que sou hoje. Obrigada por sempre estar disposto a me ensinar e ter contribuído grandemente para o meu crescimento profissional e pessoal.*

*À professora Dra. Amanda Martins Baviera pelos inúmeros ensinamentos, disponibilidade e motivação que também me guiaram ao longo desses anos. Muito obrigada por ter contribuído para minha formação.*

*Às minhas amigas do laboratório de Bioquímica e Enzimologia: Ingrid, Maiara, Mariana e Renata, sem vocês esses anos teriam sido mais difíceis. Obrigada pela amizade construída e por toda ajuda com o desenvolvimento desse trabalho. Sentirei muitas saudades, obrigada por tudo. Ainda, agradeço imensamente a Mariana e a Ingrid pelo companheirismo e disponibilidade para a execução dos experimentos; e a Renata pela companhia ao longo desses anos fora do ambiente de trabalho.*

*Aos colegas do laboratório de Bioquímica e Enzimologia: Marcel, Maíra, Anderson, Monalisa, Carlos, Thaís, Juliana, Bruno, Camila, Ariane, Karen, Isabela, Giovanna e Victor, meus sinceros agradecimentos. Cada um de vocês, de alguma forma, contribuíram para realização deste trabalho. Sentirei saudades da convivência, das risadas e parceria.*

*Ao técnico Renildo pela ajuda no biotério.*

*À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES)- Finance Code 001, pelo apoio financeiro.*

*Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), processo número 311126/2018-9, pelo apoio financeiro.*

*À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo apoio financeiro.*

## RESUMO

O diabetes mellitus (DM) é uma síndrome metabólica crônica, caracterizada principalmente por hiperglicemia. A hiperglicemia crônica é um dos principais fatores envolvidos na instalação do estresse glico-oxidativo, o qual está implicado no desenvolvimento das complicações micro e macrovasculares do DM, as quais resultam em morbidade e mortalidade significativas. Portanto, o tratamento da doença tem como principal objetivo a manutenção dos níveis glicêmicos próximos a normalidade e a atenuação do estresse glico-oxidativo. A curcumina, apresenta potencial efeito antidiabético e antioxidante. Já a aminoguanidina é um dos agentes mais utilizados para prevenir a formação de produtos finais da glicação avançada (AGE), *in vitro* e em modelos animais. Esse estudo investigou em ratos, o potencial antidiabético da curcumina e/ou aminoguanidina incorporadas no iogurte, avaliando parâmetros relacionados às alterações do controle glicêmico, estresse glico-oxidativo (plasma, fígado e rim) e parâmetros da função neutrofílica (exsudato peritoneal). Ratos Wistar, não diabéticos e diabéticos (estreptozotocínico) não tratados, receberam apenas iogurte e os diabéticos tratados receberam: insulina (4U/dia); 90 mg/kg de curcumina; 50 mg/kg de aminoguanidina; 90 mg/kg de curcumina e 50 mg/kg de aminoguanidina; 100 mg/kg de aminoguanidina; e 90 mg/kg de curcumina e 100 mg/kg de aminoguanidina; os tratamentos foram realizados durante 45 dias. Os parâmetros analisados foram: (i) fisiológicos: peso corporal; (ii) bioquímicos: glicemia, hemoglobina glicada (HbA1c), frutamina, colesterol total, colesterol-HDL, colesterol-não HDL, triacilgliceróis (TAG), alanina (ALT) e aspartato (AST) aminotransferases, fosfatase alcalina (ALP) e proteinúria; (iii) bioquímicos relacionados ao estresse glico-oxidativo e defesas antioxidantes: substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), proteínas carboniladas (PCO), AGE fluorescentes, nitrato e nitrito total (NO<sub>x</sub>), paraoxonase (PON1), superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutationa peroxidase (GSH-Px) e redutase (GSH-Rd), grupos tióis não proteicos e níveis proteicos de receptores de AGE (RAGE e AGE-R1), fator nuclear kappa B (NF-kB) e glioxalase 1 (GLO 1); e (iv) parâmetros relacionados à função neutrofílica: NADPH oxidase fagocítico (NOX2) e mieloperoxidase (MPO). Os animais diabéticos não tratados, apresentaram piora em todos os parâmetros analisados, assim como a instalação do estresse glico-oxidativo, contudo apresentaram um mecanismo compensatório ao estresse oxidativo com aumento nas atividades de GSH-Px e GSH-Rd. O tratamento com insulina foi eficaz na melhoria de todos os parâmetros analisados. O tratamento com curcumina promoveu melhoria nos biomarcadores fisio-metabólicos e do estresse glico-oxidativo e o tratamento com a aminoguanidina nos biomarcadores metabólicos, do estresse glico-oxidativo e da função neutrofílica. Os tratamentos com as associações também foram benéficos frente aos parâmetros alterados no DM experimental. Contudo, o tratamento que apresentou mais benefícios foi a associação curcumina com 50 mg/kg de aminoguanidina, pois foi promissor no controle glicêmico, na redução do estresse glico-oxidativo e na melhoria da função neutrofílica, apresentando respostas mais eficazes que os respectivos compostos administrados isoladamente. Desta forma, demonstrando potencial na atenuação e/ou prevenção das complicações do DM. Considerando os resultados na função neutrofílica e a semelhança estrutural entre aminoguanidina e metformina também avaliamos o tratamento com 250 mg/kg de metformina e sua associação com 90 mg/kg de curcumina, incorporadas no iogurte, durante 45 dias, entretanto, não foi observado melhorias significativas na função neutrofílica.

**Palavras-chave:** curcumina, aminoguanidina, diabetes mellitus, estresse glico-oxidativo, neutrófilos.

## ABSTRACT

Diabetes mellitus (DM) is a chronic metabolic syndrome characterized mainly by hyperglycemia. Chronic hyperglycemia is one of the main factors involved in the installation of glycoxidative stress, and it is implicated in the development of micro and macrovascular complications of DM, which result in significant morbidity and mortality. Therefore, the treatment of the disease has as main objective the maintenance of glycemic to levels near to normality and the attenuation of glycoxidative stress. Curcumin has potential antidiabetic and antioxidant effects. Aminoguanidine is one of the most used agents to prevent the formation of advanced glycation end products (AGE), *in vitro* and animal models. This study investigated in rats the antidiabetic potential of curcumin and/or aminoguanidine incorporated into yoghurt, evaluating parameters related to changes in glycemic control, glycoxidative stress (plasma, liver and Kidney) and parameters of neutrophil function (peritoneal exudate). Rats Wistar, non-diabetic and diabetic (streptozotocinic) untreated received alone yoghurt and treated-diabetic received: insulin (4U/day); 90 mg/kg curcumin; 50 mg/kg aminoguanidine; 90 mg/kg curcumin and 50 mg/kg aminoguanidine; 100 mg/kg aminoguanidine; and (vi) 90 mg/kg curcumin and 100 mg/kg aminoguanidine; the treatments were performed for 45 days. The parameters analyzed were: (i) physiological: body weight; (ii) biochemicals: glycemia, glycated hemoglobin (HbA1c), fructosamine, total cholesterol, HDL-cholesterol, non-HDL-cholesterol, triglycerides (TAG), alanine (ALT) and aspartate (AST) aminotransferases, alkaline phosphatase (ALP) and proteinuria; (iii) biochemical related to glycoxidative stress and antioxidant defenses: thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), protein carbonyl groups (PCO), fluorescent AGE, total nitrate and nitrite (NO<sub>x</sub>), paraoxonase (PON1), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GSH-Px) and reductase (GSH-Rd), non-protein thiol groups and protein levels of AGE (RAGE and AGE-R1) receptors, factor nuclear kappa B (NF-κB) and glyoxalase 1 (GLO 1); and (iv) parameters related to neutrophil function: phagocytic NADPH oxidase (NOX2) and myeloperoxidase (MPO). The untreated-diabetic animals showed worsening in all analyzed parameters, as well as the installation of glycoxidative stress, however it presented a compensatory mechanism against oxidative stress with increases in the activities of GSH-Px and GSH-Rd. The treatment with insulin was effective in improve all analyzed parameters. Treatment with curcumin promoted improvement in physio-metabolic biomarkers and glycoxidative stress, and treatment with aminoguanidine in metabolic biomarkers, glycoxidative stress and neutrophil function. The treatments with the associations were also beneficial for the altered parameters in experimental DM. However, the most beneficial treatment was the combination of curcumin with 50 mg/kg aminoguanidine; it was promising in glycemic control, reduction of glycoxidative stress and improvement of neutrophil function, presenting more effective responses than the respective compounds administered alone. Therefore, demonstrating potential attenuation and/or prevention of complications of DM. Considering the results on neutrophilic function and the structural similarity between aminoguanidine and metformin we also evaluated treatment with 250 mg/kg metformin and its association with 90 mg/kg curcumin, incorporated in yoghurt, for 45 days, however, no improvement was observed in neutrophil function.

**Keywords:** curcumin, aminoguanidine, diabetes mellitus, glycoxidative stress, neutrophils.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Vias ativadas pela hiperglicemia e responsáveis por lesões celulares e teciduais...	21
Figura 2 – Espécies reativas geradas na hiperglicemia e enzimas antioxidantes.....	24
Figura 3 – Formação de AGE.....	25
Figura 4 – Sistema da glioxalase.....	28
Figura 5 – Formação de AGE e alguns alvos de intervenção na via da glicação.....	29
Figura 6 – Sistema NOX2 de neutrófilos, em repouso, “preparado” e ativado.....	31
Figura 7 – <i>Burst</i> oxidativo.....	31
Figura 8 – Sistema antimicrobiano mediado pela MPO.....	32
Figura 9 – Ciclos catalíticos da MPO.....	33
Figura 10 – Estruturas moleculares da curcumina em equilíbrio ceto-enólico.....	35
Figura 11 – Estrutura molecular da aminoguanidina.....	37
Figura 12 – Estrutura molecular da metformina.....	39
Figura 13 – Peso corporal de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina, durante 45 dias.....	54
Figura 14 – Glicemia de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina, durante 45 dias.....	55
Figura 15 – HbA1c e frutossamina, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	57
Figura 16 – Níveis de triacilgliceróis, colesterol total, colesterol-HDL e níveis estimados de colesterol-não HDL, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	58
Figura 17 – Atividade plasmática das enzimas hepáticas ALT, AST e ALP, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	60
Figura 18 – Proteinúria de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	61
Figura 19 – Níveis TBARS, PCO e AGE, após 45 dias, no plasma de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	62
Figura 20 - Nitrato + nitrito total (NOx), após 45 dias, no plasma de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	63
Figura 21 – Atividade de PON1, após 45 dias, no plasma de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina durante.....	64

Figura 22 – Níveis de TBARS, PCO e AGE fluorescentes, após 45 dias, no fígado de ratos normais e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	65
Figura 23 – Atividades das enzimas SOD e CAT, após 45 dias, no fígado de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	66
Figura 24 – Níveis de grupos tióis não proteicos e atividades das enzimas GSH-Rd e GSH-Px, após 45 dias, no fígado de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	67
Figura 25 - Níveis de TBARS, PCO e AGE fluorescentes, após 45 dias, no rim de ratos normais e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina. ....	68
Figura 26 – Atividades das enzimas SOD e CAT, após 45 dias, no rim de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	69
Figura 27 – Níveis de grupos tióis não proteicos e atividades das enzimas GSH-Rd e GSH-Px, após 45 dias, no rim de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	71
Figura 28 – Níveis proteicos de RAGE, NF- $\kappa$ B, AGE-R1 e GLO 1, após 45 dias, no fígado de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	72
Figura 29 – Níveis proteicos de NF- $\kappa$ B, AGE-R1 e GLO 1, após 45 dias, no rim de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	73
Figura 30 – Número de neutrófilos migrados para a cavidade peritoneal, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	75
Figura 31 – Atividade de NOX2 de neutrófilos peritoneais, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	77
Figura 32 – Atividade de MPO de neutrófilos peritoneais, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	78
Figura 33 – Geração de ERO de neutrófilos peritoneais, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	79

Figura 34 – Glicemia e HbA1c, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou metformina.....	87
Figura 35 – Número de neutrófilos migrados, após 45 dias, para a cavidade peritoneal de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou metformina.....	88
Figura 36 – Atividade de NOX2 de neutrófilos peritoneais, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou metformina.....	89
Figura 37 – Atividade de MPO de neutrófilos peritoneais, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou metformina.....	90
Figura 38 – Geração de ERO de neutrófilos peritoneais, após 45 dias, de ratos não diabéticos e ratos diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou metformina.....	91

## **LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 – Anticorpos primários e secundários, diluições e condições de armazenamento.....49

Tabela 2 – Valores comparativos de biomarcadores analisados em plasma, fígado e rim, após 45 dias de tratamento de ratos diabéticos tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina em relação aos ratos diabéticos não tratados (vide legenda para interpretação da tabela).....80

## LISTA DE ABREVIATURAS

4-HNE	4-Hidroxinonenal
ABCA1	Transportador A1 de cassetes de ligação ao ATP
ADA	Associação Americana de Diabetes
AGE	Produtos finais de glicação avançada
AGE-R	<i>AGE-receptors</i>
ALE	Produtos finais de lipoxidação avançada
AkT	Proteína quinase B
ALP	Fosfatase alcalina
ALT	Alanina aminotransferase
ALX	Aloxana
AMP	Adenosina monofosfato
AMPK	Proteína quinase dependente de AMP
Apo A1	Apolipoproteína A1
Apo B100	Apolipoproteína B1
AST	Aspartato aminotransferase
AUC	Área sob a curva
CAT	Catalase
CEL	Nε-(carboxietil) lisina
CETP	Proteína de transferência de colesterol
Cl <sup>-</sup>	Cloreto
CML	Nε-(carboximetil) lisina
DAG	Diacilglicerol
DA-50	Ratos diabéticos tratados com 50 mg/kg de aminoguanidina em iogurte
DA-100	Ratos diabéticos tratados com 100 mg/kg de aminoguanidina em iogurte
DC	Ratos diabéticos tratados com 90 mg/kg de curcumina em iogurte
DCA-50	Ratos diabéticos tratados com 90 mg/kg de curcumina e 50 mg/kg de aminoguanidina em iogurte
DCA-100	Ratos diabéticos tratados com 90 mg/kg de curcumina e 100 mg/kg de aminoguanidina em iogurte
DCMET	Ratos diabéticos tratados com 90 mg/kg de curcumina e 250 mg/kg

	de metformina em iogurte
DINS	Ratos diabéticos tratados com 4U/dia de insulina
DIOG	Ratos diabéticos tratados com iogurte
DM	Diabetes mellitus
DMET	Ratos diabéticos tratados com 250 mg/kg de metformina em iogurte
DNPH	2,4-Dinitrofenilhidrazina
DTNB	5,5-Ditio-2-nitrobenzoico
EASD	Associação Europeia dos Estudos em Diabetes
EPM	Erro padrão da média
Egr-1	Proteína de resposta de crescimento inicial 1
ERNO	Espécies reativas de nitrogênio e oxigênio
ERK	Quinase regulada por sinal extracelular
ERO	Espécies reativas de oxigênio
FADH2	Flavina adenina dinucleótido reduzida
fMLP	N-formil Metionil-Leucil-Fenilalanina
GADPH	Gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase
GLO 1	Glioxalase 1
GLO 2	Glioxalase 2
GLUT 2	Transportador de glicose do tipo 2
GLUT 4	Transportador de glicose do tipo 4
GM-CSF	Fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos
GOLD	Dímero de lisina derivado de glioxal
GSH	Glutathiona reduzida
GSH-Px	Glutathiona peroxidase
GSH-Rd	Glutathiona redutase
GSSG	Glutathiona oxidada
GST	Glutathiona S-transferase
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	Peróxido de hidrogênio
HbA1c	Hemoglobina glicada
HDL	Lipoproteína de alta densidade
HMG-CoA	3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA
HOCl	Ácido hipocloroso
IKK	Quinase IκB

eNOS	Oxido nítrico sintase endotelial
iNOS	Oxido nítrico sintase induzível
nNOS	Oxido nítrico sintase neuronal
JAK/STAT	Janus quinase/transdutor de sinal e ativador de transcrição
LCAT	Lecitina colesterol aciltransferase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade
LDL-ox	Lipoproteína de baixa densidade oxidada
LDL-R	Receptor de LDL
LOOH	Hidroperóxidos lipídicos
LPO	Lipoperoxidação ou peroxidação lipídica
MAPK	Proteína quinase ativada por mitógeno
MDA	Malondialdeído
MGG	May Grunwald e Giemsa
MOLD	Dímero de lisina derivado do metilglioxal
MPO	Mieloperoxidase
NAD <sup>+</sup>	Nicotinamida adenina dinucleotídeo oxidada
NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida
NBT	<i>Nitroblue tetrazolium</i>
NF-κB	Fator nuclear kappa B
NIOG	Ratos normais, não diabéticos, tratados com iogurte
NO	Óxido nítrico
NOS	Óxido nítrico sintase
NO <sub>x</sub>	Nitrato e nitrito total
NOX2	Sistema NADPH oxidase fagocítico
NRF 2	<i>Nuclear Factor Erythroid 2-Related Factor 2</i>
<sup>1</sup> O <sub>2</sub>	Oxigênio singlete
O <sub>2</sub> <sup>•-</sup>	Radical anion superóxido
OH <sup>•</sup>	Radical hidroxila
OONO <sup>-</sup>	Peroxinitrito
PBS	Tampão fosfato de sódio
PBS-D	Tampão fosfato de sódio contendo CaCl <sub>2</sub> , MgCl <sub>2</sub> e glicose
PCO	Proteínas carboniladas
PI3K	Fosfatidilinositol-3-quinase

PMA	Forbol-12-miristato-13-acetato
PPAR $\gamma$	Proliferador de peroxissomo
PKC	Proteína quinase C
PON 1	Paraoxonase 1
RAGE	<i>Receptor for AGEs</i>
SIRT 1	Sirtuína
SOD	Superóxido dismutase
SR-BI	receptor da classe de eliminação B tipo 1 (SR-BI)
STZ	Estreptozotocina
TAG	Triacilgliceróis
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TMB	3,3',5,5' tetrametilbenzidina
TNF- $\alpha$	Fator de necrose tumoral $\alpha$
UKPDS	Estudos Clínicos Prospectivos em Diabetes do Reino Unido

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS

RESUMO

ABSTRACT

LISTA DE FIGURAS

LISTA DE TABELAS

LISTA DE ABREVIATURAS

Capítulo 1.....	15
1 INTRODUÇÃO.....	16
1.1 Justificativa.....	16
1.2 Revisão da literatura.....	18
1.2.1 Diabetes mellitus.....	18
1.2.2 Estresse glico-oxidativo no diabetes mellitus.....	20
1.2.3 Função neutrofílica no diabetes mellitus.....	29
1.2.4 Curcumina.....	34
1.2.5 Aminoguanidina .....	37
2 OBJETIVOS.....	40
2.1 Objetivo geral.....	40
2.2 Objetivos específicos.....	40
3 MATERIAL E MÉTODOS.....	42
3.1 Animais.....	42
3.2 Indução do diabetes mellitus experimental.....	42
3.3 Tratamento dos animais diabéticos com curcumina e/ou aminoguanidina incorporadas em iogurte .....	42
3.4 Tratamento dos animais diabéticos com curcumina e/ou metformina incorporadas em iogurte .....	44
3.5 Determinações bioquímicas .....	44
3.6 Avaliação da peroxidação lipídica.....	44
3.7 Quantificação de grupos carbonílicos de proteínas.....	45
3.8 Quantificação de nitrato e nitrito (óxido nítrico).....	45
3.9 Atividade de paraoxonase 1.....	45
3.10 Determinação da concentração de grupos tióis não proteicos.....	46
3.11 Atividade de enzimas antioxidantes em fígado e rim .....	46
3.11.1 Preparo das amostras.....	47
3.11.2 Atividade da enzima superóxido dismutase.....	47
3.11.3 Atividade da enzima catalase.....	47
3.11.4 Atividade da enzima glutathiona peroxidase.....	47
3.11.5 Atividade da enzima glutathiona redutase.....	48
3.12 Estimativa dos produtos finais de glicação avançada.....	48
3.13 Dosagem de proteínas totais.....	48
3.14 Western Blot.....	48
3.15 Recrutamento dos neutrófilos.....	50
3.16 Avaliação de parâmetros da função neutrofílica.....	50
3.16.1 Avaliação da atividade de mieloperoxidase.....	50
3.16.2 Avaliação da atividade do sistema NADPH oxidase fagocítico.....	51
3.16.2.1 Quiluminescência dependente de lucigenina.....	51
3.16.2.2 Ensaio de redução do citocromo C.....	51
3.16.3 Avaliação da produção de ERO proveniente do <i>burst</i> oxidativo	

	Quimiluminescência dependente de luminol.....	51
3.17	Análise dos resultados	52
4	<b>RESULTADOS</b> .....	53
4.1	Parâmetros fisiológicos e bioquímicos de animais não diabéticos e animais diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina em iogurte.....	53
4.2	Biomarcadores relacionados ao estresse glico-oxidativo e potencial antioxidante no plasma de animais não diabéticos e animais diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina em iogurte.....	61
4.3	Biomarcadores relacionados ao estresse glico-oxidativo e sistemas antioxidantes no fígado de animais não diabéticos e animais diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina em iogurte.....	64
4.4	Biomarcadores relacionados ao estresse glico-oxidativo e sistemas antioxidantes no rim de animais não diabéticos e animais diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina em iogurte.....	68
4.5	Níveis proteicos de RAGE, NF- $\kappa$ B, AGE-R1 e GLO 1 no fígado e rim de animais não diabéticos e animais diabéticos tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina.....	71
4.6	Avaliação de parâmetros da função neutrofílica de animais não diabéticos e animais diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou aminoguanidina em iogurte.....	74
4.7	Glicemia, HbA1c e parâmetros da função neutrofílica de animais não diabéticos e animais diabéticos não tratados e tratados com insulina, curcumina e/ou metformina em iogurte.....	86
5	<b>DISCUSSÃO</b> .....	92
6	<b>CONCLUSÃO</b> .....	120
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	121
	<b>APÊNDICE I: Cinética de emissão de luz nos ensaios de função neutrofílica..</b>	146
	<b>ANEXO I: CEUA/FCF/CAR: 25/2016</b> .....	148
	<b>Capítulo 2</b> .....	149
	<b>Artigo: Curcumin and aminoguanidine administered alone or in combination, improve metabolic control and oxidative status and increase glycation product detoxification in streptozotocin-diabetic rats</b> .....	150

# **CAPÍTULO 1**

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Justificativa

O diabetes mellitus (DM) é uma síndrome metabólica caracterizada principalmente por hiperglicemia, resultante de defeitos na secreção e/ou ação da insulina (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014). A hiperglicemia crônica, a longo prazo, está associada ao desenvolvimento de complicações microvasculares, como a nefropatia, retinopatia e neuropatia, bem como das complicações macrovasculares, como as doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral. Tais complicações são as principais causas das elevadas taxas de morbidade e mortalidade em indivíduos diabéticos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

A exacerbação na geração de espécies reativas de oxigênio (ERO) e produtos finais de glicação avançada (AGE), em grande parte devido à hiperglicemia crônica, causa o estresse glico-oxidativo em vários tecidos, e assim desempenha um papel relevante na patogênese das complicações diabéticas micro e macrovasculares (CHILELLI; BURLINA; LAPOLLA, 2013; ROCHETTE et al., 2014). Os AGE também podem ocasionar o fenômeno denominado “memória metabólica”: após exposição prolongada à hiperglicemia, o subsequente controle glicêmico efetivo não é suficiente para prevenir o desenvolvimento das complicações do DM; o fenômeno “memória metabólica” é explicado em parte pela manutenção da ligação do AGE ao seu receptor RAGE nos tecidos (YAMAGISHI; NAKAMURA; MATSUI, 2017).

De especial relevância no DM, podem ser citadas as alterações das funções neutrofílicas que resultam na atenuação da capacidade de defesa contra microrganismos invasores (ALBA-LOUREIRO et al., 2006; DAOUD et al., 2009). A hiperglicemia também pode aumentar a geração de ERO pelos neutrófilos, os quais geram danos nos tecidos (MARIN et al., 2011; RAYNER; LOVE; HAWKINS, 2014). Uma vez que os neutrófilos desempenham um papel importante na primeira defesa do organismo contra microrganismos invasores, esses fatores também podem contribuir para o estresse glico-oxidativo e lesão tecidual.

A saúde dos tecidos e dos organismos está intimamente relacionada com as interações altamente ordenadas entre respostas imunes e metabólicas. Falhas dessas interações estão subjacentes ao surgimento e complicações de muitas patologias, particularmente doenças crônicas não transmissíveis, como obesidade e diabetes (HOTAMISLIGIL, 2017).

A hiperglicemia é considerada um fator *pivotal* envolvido no estabelecimento das complicações do DM, portanto, o tratamento da doença tem como principal objetivo a manutenção dos níveis glicêmicos próximos à normalidade. No entanto, tendo em vista a perda progressiva do controle metabólico mesmo com a existência de diversas terapias (por exemplo, insulina, antidiabéticos orais, reeducação alimentar e prática de atividades físicas), ainda há evidências da necessidade na exploração de novas opções para o tratamento do DM (TURNER et al., 1999; DAVIES et al., 2013; KAUL; APOSTOLOPOULOU; RODEN, 2015).

Nosso laboratório tem se dedicado ao estudo do potencial antidiabético e antioxidante de fitoquímicos presentes em “alimentos funcionais” incorporados no iogurte, com destaque para a curcumina, administrada de forma isolada ou combinada com outros fitoquímicos ou com fármacos comerciais (GUTIERRES et al., 2012; ARCARO et al., 2014; ASSIS et al., 2017; GUTIERRES et al., 2019; ROXO et al., 2019). Gutierrez et al. (2012) demonstraram que os tratamentos apenas com iogurte não alteraram os parâmetros fisiológicos e bioquímicos caracteristicamente alterados no modelo experimental de DM induzido por estreptozotocina (STZ). Desta forma, o iogurte pode ser considerado um veículo para fitoquímicos em estudos anteriores e atuais do laboratório, uma vez que, resolve o problema da baixa solubilidade em água para a curcumina e outros compostos insolúveis em meio aquoso. O iogurte é um dos alimentos lácteos mais consumidos em todo o mundo; o enriquecimento/fortificação do iogurte tem sido considerado uma opção prática como veículo de compostos bioativos de outros alimentos funcionais, de plantas medicinais e antioxidantes (GAHRUIE et al., 2015).

A combinação de compostos com diferentes mecanismos bioquímicos de ação sobre uma mesma resposta em sistemas biológicos pode promover efeitos combinados, aditivos ou sinérgicos, em relação à administração isolada. Além disso, é possível ampliar o espectro de ação combinando-se compostos bioativos que tenham atividades distintas nesses sistemas, e estas combinações podem ter relevância para condições fisiopatológicas caracterizadas por distúrbios multifatoriais, como é o caso do DM. A maioria de trabalhos tem investigado a combinação de fitoquímicos com fármacos comerciais (metformina, glibenclamida, gliptinas) já utilizados na terapia do DM (PRABHAKAR; KUMAR; DOBLE, 2014; SINGH et al., 2015; ROXO et al., 2019).

Neste contexto, torna-se importante uma estratégia terapêutica direcionada para modular o estresse glico-oxidativo, bem como, os parâmetros da função neutrófila, e que pode contribuir no auxílio da diminuição da morbidade e mortalidade do DM, o que aponta

para associação curcumina e um agente antiglicante visando os AGE, uma estratégia em potencial.

## **1.2 Revisão da literatura**

### **1.2.1 Diabetes mellitus**

A hiperglicemia no DM é resultante da deficiência na secreção de insulina pelas células beta pancreáticas e/ou de resistência à ação desse hormônio em tecidos alvo. Além da hiperglicemia, várias outras alterações são frequentemente observadas no DM, tais como dislipidemia, com elevados níveis circulantes de triacilgliceróis (TAG), ácidos graxos e lipoproteína de baixa densidade (LDL) e níveis diminuídos de lipoproteína de alta densidade (HDL); glicosúria; hipertensão arterial; dentre outras (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; ROCHETTE et al., 2014). Além disso, as manifestações clínicas da hiperglicemia incluem perda de peso, poliúria, polidipsia, polifagia e visão turva (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; WORLD HEALTH ORGANIZATION, 2019).

O DM é uma síndrome comum na maioria dos países e continua a aumentar em número e significância, atualmente reconhecido como um problema de saúde pública mundial. Mais de 463 milhões de pessoas tinham DM em 2019 e as projeções desse número global aumenta para 578 milhões em 2030 e para 700 milhões em 2045 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019).

O DM é classificado principalmente em: i) DM tipo 1, que tem como característica a destruição das células beta do pâncreas, em geral mediada por autoimunidade, culminando em deficiência absoluta de insulina; ii) DM tipo 2, observa-se predominância de resistência insulínica com disfunção pancreática e deficiência relativa de insulina; iii) outros tipos específicos de DM, tais como defeito genético das células beta do pâncreas, endocrinopatias, dentre outras causas; e iv) DM gestacional, com intolerância à glicose que tem início na gravidez ou primeiramente detectada durante a gestação (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2018).

No DM tipo 1 a hiperglicemia se desenvolve rapidamente, sem resistência prévia à insulina, e conforme aumenta a cronicidade da hiperglicemia, a resistência à insulina pode aumentar gradualmente. Já no DM tipo 2 a resistência à insulina está presente por vários anos antes que a hiperglicemia evidente se desenvolva e estabeleça. Na resistência à insulina ocorre

uma diminuição da sensibilidade às ações da insulina, nos principais tecidos-alvo envolvidos do metabolismo da glicose, como o músculo esquelético, tecido adiposo, fígado e pâncreas (LAAKSO; KUUSISTO, 2014). Vários mecanismos podem ocasionar a resistência à insulina ao interferirem com a cascata de sinalização desse hormônio, como exposição crônica aos elevados níveis de glicose, lipídeos, aminoácidos, o estresse oxidativo, a inflamação, entre outros (KAUL; APOSTOLOPOULOU; RODEN, 2015).

Assim o DM pode ser caracterizado por uma série de alterações metabólicas; a hiperglicemia crônica leva à alteração vascular difusa e disfunção de múltiplos órgãos, tecidos e células, especialmente os olhos, rins, nervos, coração, fígado e células endoteliais dos vasos sanguíneos. A longo prazo, indivíduos diabéticos estão sujeitos às complicações microvasculares, tais como i) nefropatia, levando a insuficiência renal; ii) retinopatia com potencial perda da visão; iii) neuropatia periférica com riscos de úlceras do pé, amputações e articulações de *Charcot*; iv) neuropatia autonômica causando alterações dos sistemas gastrointestinal, geniturinário, cardiovascular e genital. Também estão sujeitos às complicações macrovasculares, como aumento na incidência de doença aterosclerótica, cardiovascular, arterial periférica e cerebrovascular. Tais complicações são as principais causas das elevadas taxas de morbidade e mortalidade em indivíduos diabéticos (RAINS; JAIN, 2011; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; FORBES; FOTHERINGHAM, 2017).

Para induzir o DM experimental em animais são muito utilizados dois compostos diabetogênicos, a STZ e a aloxana (ALX). Ambos compostos possuem mecanismos idênticos de ação nas células beta pancreáticas, entretanto o potencial diabetogênico é alcançado por diferentes vias citotóxicas (RADENKOVIĆ; STOJANOVIĆ; PROSTRAN, 2016). A ALX entra nas células beta pancreáticas via transportador de glicose do tipo 2 (GLUT 2) e estabelece um ciclo redox com o produto de sua redução (ácido dialúrico), ocasionando a geração de radical ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), esses são dismutados a peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), e após reação de Fenton é gerado radical hidroxila ( $OH^{\cdot}$ ). As ações das ERO juntamente com um aumento maciço na concentração de cálcio citosólico causa rápida destruição das células beta pancreáticas. A STZ também é captada pelas células beta pancreáticas via GLUT 2 e ocasiona a alquilação do DNA. Os danos ao DNA induzem a ativação de Poli ADP ribosilação, que é o efeito diabetogênico mais importante da STZ. Além disso, ocorre liberação tóxica de óxido nítrico (NO) e a formação de espécies reativas, como o  $O_2^{\cdot-}$ ,  $H_2O_2$ ,  $OH^{\cdot}$  e peroxinitrito ( $OONO^{\cdot}$ ) que também participam dos danos ao DNA. Como resultado, as células beta pancreáticas são destruídas por necrose (SZKUDELSKI, 2001).

Tanto a ALX quanto a STZ podem ser utilizadas para a indução do DM tipo 1, no entanto, a STZ é usada com mais frequência para induzir o DM em ratos. Além disso, o DM induzido por STZ é um modelo mais estável de DM experimental e pode ser usado em experimentos de curto ou longo prazo (RADENKOVIĆ; STOJANOVIĆ; PROSTRAN, 2016). A administração de STZ ocasiona uma destruição maciça e importante das células beta pancreáticas, levando ao desenvolvimento de modelo de DM que mimetiza as alterações do DM tipo 1 (mais severo), em que a hiperglicemia é alta e conseqüentemente as complicações da doença aparecem rapidamente, tornando-se um modelo interessante para o estudo do potencial de compostos que previnem e/ou melhoram as complicações do DM relacionadas à hiperglicemia.

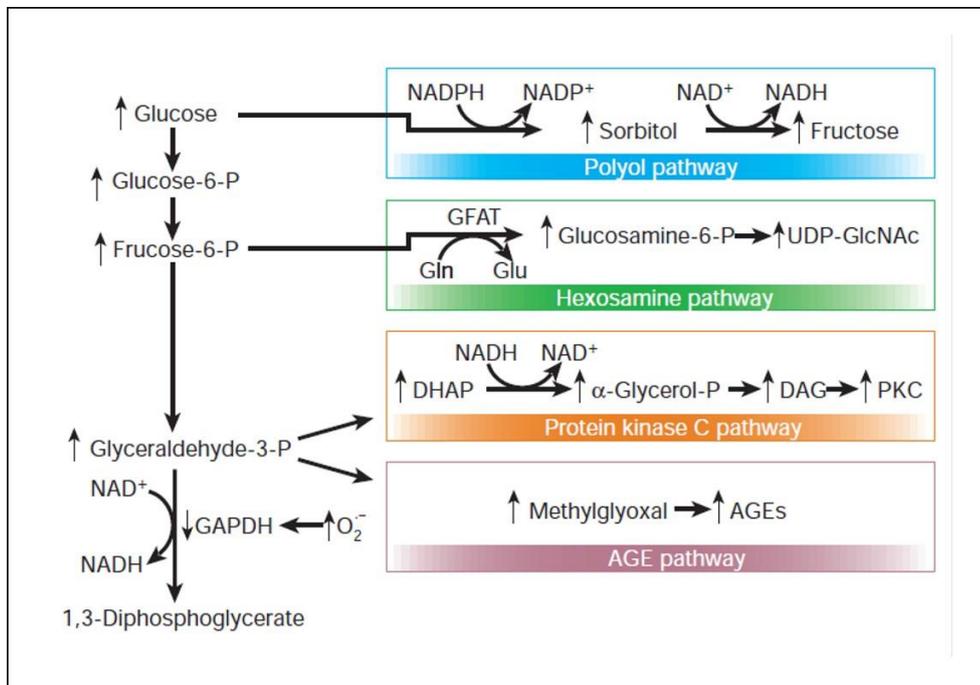
### **1.2.2 Estresse glico-oxidativo no diabetes mellitus**

A hiperglicemia prolongada causa alteração da função e estrutura dos vasos sanguíneos e tecidos, via quatro mecanismos principais: i) aumento do fluxo de glicose e outros açúcares pela via do poliol; ii) aumento na formação de AGE; iii) ativação da proteína quinase C (PKC) via aumento na geração de diacilglicerol (DAG); e iv) hiperatividade da via hexosamina. Estes mecanismos parecem estar ligados por um fator comum, a produção aumentada de  $O_2^{\bullet-}$  pela cadeia transportadora de elétron mitocondrial (BROWNLEE, 2001; GIACCO; BROWNLEE, 2010) (FIGURA 1). A hiperglicemia acarreta o aumento de doadores de elétrons, nicotinamida adenina dinucleotídeo reduzida (NADH) e flavina adenina dinucleotídeo reduzida (FADH<sub>2</sub>) derivados do ciclo de Krebs que geram um alto potencial de membrana, por bombear prótons através da membrana interna mitocondrial. Esse processo inibe o transporte de elétrons no complexo III da cadeia transportadora de elétrons, aumentando a meia-vida dos radicais livres intermediários da ubiquinona (coenzima Q), que reduz o  $O_2$  a  $O_2^{\bullet-}$  (BROWNLEE, 2001).

A ativação da via do poliol ocasiona a maior conversão de glicose à sorbitol, com consumo da coenzima nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzida (NADPH) e o sorbitol é convertido à frutose com geração de NADH. Isso tem como consequência uma menor disponibilidade da NADPH, molécula necessária para a regeneração da forma reduzida da glutatona (GSH, L- $\gamma$ -glutamil-L-cisteinil-glicina), culminando na diminuição drástica deste antioxidante endógeno e aumentando assim o estresse oxidativo induzido por hiperglicemia. No estresse oxidativo celular o  $O_2^{\bullet-}$  (em especial gerado na mitocôndria) inibe parcialmente a enzima gliceraldeído 3-fosfato desidrogenase (GAPDH), a qual também pode

ser inibida pelo aumento da relação  $\text{NADH}:\text{NAD}^+$  (supracitado), a inibição dessa enzima ocasiona o aumento do seu substrato gliceraldeído 3-fosfato, esse composto pode levar a formação de metilglioxal (precursor de AGE) e/ou o aumento de DAG e este promove a ativação da PKC, que culmina no aumento da expressão de fatores pró-trombóticos e pró-inflamatórios. Por fim, o aumento na formação de AGE, além de causar danos teciduais diretos, também pode estimular o aumento na formação das ERO (FIGURA 1) (BROWNLEE, 2001; MADONNA; DE CATERINA, 2011; ROCHETTE et al., 2014).

Figura 1 – Vias ativadas pela hiperglicemia e responsáveis por lesões celulares e teciduais.



O excesso na produção de  $\text{O}_2^-$  mitocondrial, devido a hiperglicemia, inibe parcialmente a enzima glicolítica gliceraldeído-3-fosfato desidrogenase (GAPDH), desviando assim os metabólitos da glicólise para as vias de super-utilização da glicose. Desta forma, ocorre: i) aumento do fluxo da glicose pela via do poliol que consome  $\text{NADPH}$  e esgota a  $\text{GSH}$ ; ii) aumento do fluxo de frutose-6-fosfato para difosfato de uridina N-acetilglicosamina (UDP-GlcNAc) que aumenta a modificação de proteínas; iii) aumento do fluxo de di-hidroxiacetona (DHAP) para DAG, um ativador de PKC; e iv) aumento de fosfatos trioses para metilglioxal, precursor de AGE. Fonte: BROWNLEE, 2001.

A exacerbação na geração de ERO, principalmente pela mitocôndria, em grande parte devido à hiperglicemia crônica, causa o estresse oxidativo em vários tecidos, e assim desempenha um papel relevante na patogênese das complicações diabéticas micro e macrovasculares. O estresse oxidativo é geralmente definido como um desequilíbrio entre os sistemas pró-oxidantes e antioxidantes (RAINS; JAIN, 2011; ROCHETTE et al., 2014); tem

sido demonstrado que a diminuição nas defesas antioxidantes também desempenha papel importante na gênese do estresse oxidativo no DM (MADONNA; DE CATERINA, 2011).

Em sistemas biológicos, as ERO, em quantidades adequadas, estão envolvidas em diversos processos de sinalização celular e na defesa constitutiva em determinadas células do sistema imune, porém seu excesso ocasiona alterações em carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos (ROCHETTE et al., 2014). O principal alvo do estresse oxidativo depende do tipo de célula, da natureza das espécies oxidantes geradas, do local da geração (intra ou extracelular), da proximidade do oxidante ao substrato oxidável celular específico e a gravidade do estresse (DALLE-DONNE et al., 2003; DALLE-DONNE et al., 2006).

Os lipídeos são particularmente vulneráveis à oxidação por ERO, e isto pode resultar na lipoperoxidação (LPO), que contribui para o desenvolvimento das complicações do DM (DAVÌ et al., 2005). A LPO é um processo em que ERO atacam lipídeos contendo ligações duplas carbono-carbono, especialmente ácido graxos poli-insaturados, resultando em uma variedade de produtos. Os principais produtos primários da LPO são os hidroperóxidos lipídicos (LOOH) e alguns dos produtos secundários são o malondialdeído (MDA), mais mutagênico, e o 4-hidroxi-nonenal (4-HNE), mais tóxico (MARNETT, 1999; AYALA et al., 2014). As células respondem à LPO de acordo com as condições metabólicas específicas e capacidade de reparo, podendo assim promover a sobrevivência ou induzir a morte celular. Sob condições fisiológicas ou baixas taxas de LPO, as células estimulam sua manutenção e sobrevivência por meio de defesas antioxidantes, porém sob altas taxas de LPO as células não conseguem reparar os danos e ocorre a indução da apoptose ou necrose (AYALA et al., 2014).

As proteínas são os principais alvos de ERO e/ou de subprodutos secundários do estresse glico-oxidativo e dão origem as proteínas carboniladas (PCO; aldeídos e cetonas). A geração de PCO é um marcador geral de dano oxidativo às proteínas e reflete dano celular induzido por múltiplas formas de ERO (DALLE-DONNE et al., 2006; SUZUKI et al., 2010). As PCO podem ser formadas por i) oxidação direta de cadeias laterais de aminoácidos (lisina, arginina, prolina e treonina); ii) clivagem oxidativa de proteínas; iii) por produtos originados na LPO e iv) por açúcares redutores ou seus produtos de oxidação, via glico-oxidação (DALLE-DONNE et al., 2006).

Além das ERO, pode ocorrer também a superprodução de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio (ERON), a qual também pode acarretar em prejuízos na homeostase do organismo. O NO, uma ERO, é uma espécie radicalar reguladora com extensos efeitos metabólicos, vasculares e celulares. O NO é gerado por uma família de enzimas chamadas

óxido nítrico sintase (NOS) e suas isoformas são: neuronal (nNOS), induzível (iNOS) e endotelial (eNOS). Baixos níveis de NO são benéficos para diversas funções fisiológicas e celulares, entretanto, altos níveis podem causar danos, como por exemplo podem reagir com o  $O_2^{\cdot-}$  e gerar o  $OONO^{\cdot-}$ , que se liga as proteínas e altera suas funções (KOMERS; ANDERSON, 2003; PITOCCO et al., 2010; SOSKIC et al., 2011).

A prevalência dos organismos aeróbicos na obtenção de energia pelo metabolismo oxidativo ocasiona a produção de ERO, o que o levou ao desenvolvimento de mecanismos de defesa na forma de agentes antioxidantes. Tem-se como conceito que o antioxidante é capaz de diminuir a velocidade, impedir ou eliminar os danos oxidativos em moléculas alvo. No DM, além do aumento na produção de ERO, também ocorre uma diminuição na atividade de algumas enzimas antioxidantes, tais como a superóxido dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GSH-Px) e catalase (CAT), atribuída às alterações dessas proteínas pelas ERO ou eventos glicativos (SINDHU et al. 2014; RAJENDRAN et. al., 2014; ARCARO et al. 2014).

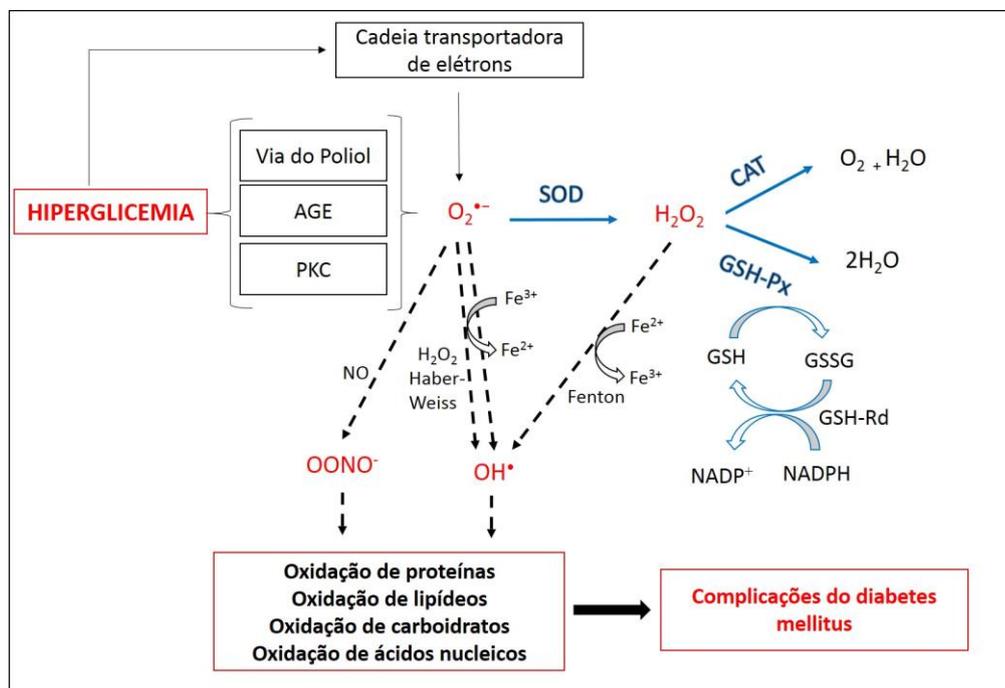
As enzimas antioxidantes geralmente convertem ERO em moléculas de  $O_2$  relativamente não reativas e/ou formam  $H_2O$ . Durante o processo de geração de ERO, o  $O_2^{\cdot-}$  é o principal intermediário reativo de  $O_2$ , que é rapidamente dismutado a  $H_2O_2$  espontaneamente e/ou por ação catalítica da SOD. O  $H_2O_2$  sofre ação da CAT e/ou da GSH-Px originando  $H_2O$ . O  $O_2^{\cdot-}$  e o  $H_2O_2$ , podem originar outras ERO muito reativas, como  $OH^{\cdot}$  pela reação de Fenton e/ou Haber-Weiss;  $OONO^{\cdot-}$  pela reação com o NO (FIGURA 2) (JHA et al., 2016). Portanto, as ações antioxidantes são de extrema importância para o controle do estresse glico-oxidativo.

A paraoxonase-1 (PON1) é uma esterase associada à HDL, que apresenta atividade antioxidante por ser capaz de hidrolisar peróxidos lipídicos. A atividade primária da PON1 é de lactonase; ácidos graxos poli-insaturados oxidados formam estruturas químicas *lactona-like*, portanto, podem servir como substratos para a PON1 (CHISTIAKOV et al., 2017). O estresse oxidativo no DM é amplamente aceito como um componente importante na produção de LDL oxidada (LDL-ox), que é crucial para o desenvolvimento de lesões ateroscleróticas (LEVITAN et al., 2010), a PON1 possui a capacidade de hidrolisar peróxidos lipídicos da LDL-ox, demonstrando ser uma enzima fisiologicamente importante; outra função protetora da PON1 é hidrolisar a homocisteína tiolactona e conseqüentemente prevenir a modificação proteica (CHISTIAKOV et al., 2017; SHUNMOOGAM; NAIDOO; CHILTON, 2018).

Mazur (1946) e Aldridge (1953) desempenharam um papel fundamental na identificação e classificação da PON1, inicialmente ela foi identificada como A-esterase, mas depois se tornou conhecida como paraoxonase devido à sua capacidade de desintoxicar o

composto organofosforado paraoxon, que é um metabólito tóxico do Paration (pesticida agrícola). A PON1 pertence a uma família de três paraoxonases séricas (PON1, PON2 e PON3) e apenas a PON1 possui a capacidade de hidrolisar organofosfatos. A PON1 e PON3 são sintetizadas principalmente no fígado e encontradas principalmente no plasma associadas à HDL (CHISTI AKOV et al., 2017). As paraoxonases possuem diversas atividades e substratos, como i) atividade de paraoxonase, substratos: organofosforados (paraoxon); ii) atividade de lactonase, substratos: ésteres carboxílicos cíclicos (lactonas); iii) atividade de tiolactonase, substrato: homocisteína tiolactona; iv) atividade de arilesterase, substratos: ésteres aromáticos (acetato de fenila) e v) atividade de peroxidase, substratos: ERO ( $O_2^{\cdot-}$  e peróxidos) (LEVY; REICHERT; BYDŁOWSKI, 2019). Atualmente, a PON1 é considerada a paraoxonase mais importante, pois possui a capacidade de hidrolisar vários intermediários oxidados e a homocisteína tiolactona, desta forma, protegendo contra o estresse oxidativo e distúrbios inflamatórios, como a aterosclerose (CHISTI AKOV et al., 2017; SHUNMOOGAM; NAIDOO; CHILTON, 2018).

Figura 2 – Espécies reativas geradas na hiperglicemia e enzimas antioxidantes.

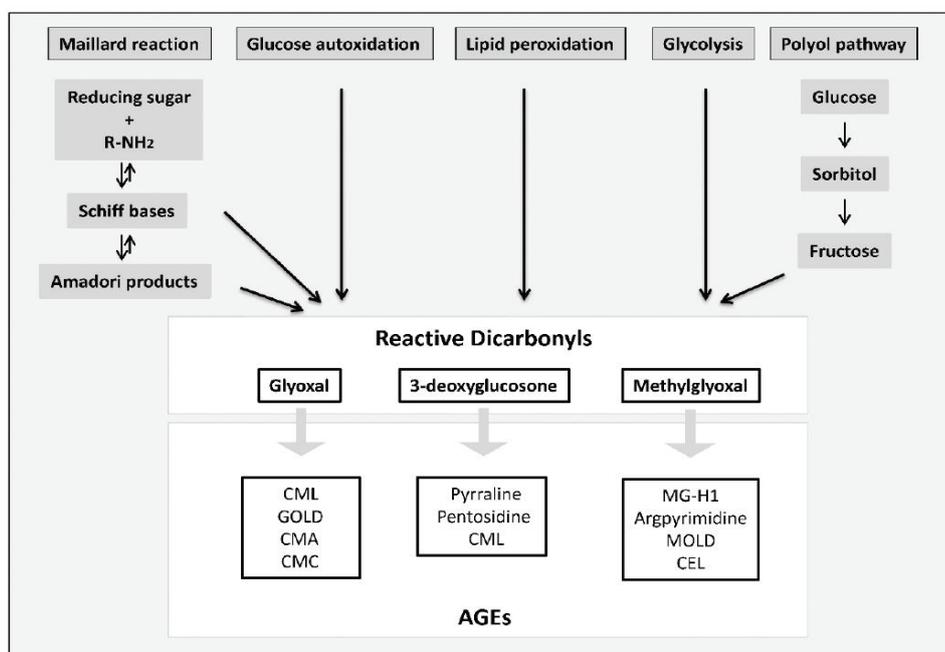


Linha preta pontilhada = espécies reativas responsáveis pela instalação e/ou progressão das complicações do diabetes mellitus. Linha azul contínua = sistema antioxidante. SOD: superóxido dismutase; CAT: catalase; GSH-Px: glutaciona peroxidase; GSH-Rd: glutaciona redutase; GSH: glutaciona reduzida; GSSG: glutaciona oxidada. Fonte: Do autor, 2019.

A produção de AGE em excesso é um mecanismo importante envolvido na fisiopatologia de complicações crônicas do DM. Os AGE são formados principalmente pela

glicação não enzimática de proteínas, ou reação de Maillard, que se inicia com a reação de açúcares redutores (como glicose e frutose) e o grupo amino de proteínas (como lisina e arginina), originando uma base de Schiff instável. A base de Schiff sofre rearranjos intramoleculares e origina os produtos de Amadori (exemplos bem conhecidos de produtos de Amadori são a hemoglobina glicada (HbA1c) e a frutosamina). Uma parte desses produtos de Amadori pode sofrer reações oxidativas e não oxidativas e formar compostos irreversíveis, denominados AGE, que modificam proteínas e levam a lesões tissulares (RAINS; JAIN, 2011; OTT et al., 2014). Os produtos de Amadori podem ser convertidos em AGE diretamente ou sofrerem auto-oxidação e formarem os reativos intermediários dicarbonílicos, como metilglioxal, glioxal e 3-desoxiglicossone. Estes, por sua vez, completam os “ataques” às proteínas e nas quais, seguidos de rearranjos moleculares, também originam AGE (RAINS; JAIN, 2011; EMEL’YANOV, 2017). Nesses processos de formação de AGE os intermediários dicarbonílicos também podem ser formados pela auto-oxidação da glicose e como resultado da LPO e do estresse oxidativo (FIGURA 3) (ENGELEN; STEHOUWER; SCHALKWIJK, 2013; OTT et al., 2014).

Figura 3 – Formação de AGE.



A formação de AGE ocorre por diversos mecanismos, como pela reação de Maillard (reação entre açúcares redutores e grupo amino livre de proteínas), por meio da autoxidação da glicose, lipoperoxidação, intermediários da glicólise e da via dos polióis. Esses processos podem gerar reativos intermediários dicarbonílicos, como glioxal, 3-desoxiglicossone e metilglioxal, que levam a formação dos AGE. CML: N $\epsilon$ -(carboximetil) lisina; GOLD: dímero de lisina derivado de glioxal; CMA: N $\omega$ -(carboximetil) arginina; CMC: N $\epsilon$ -(carboximetil) cisteína; MG-H1: hidroimizalona derivado do metilglioxal; MOLD: dímero de lisina derivado do metilglioxal; CEL: N $\epsilon$ -(carboxietil) lisina. Fonte: NOWOTNY et al., 2015.

De acordo com a sua origem, os AGE podem ser divididos em dois grupos: (i) produtos finais de glicação avançada derivados de reações proteína-carbonila (AGE), que surgem da glicação não enzimática, auto-oxidação da glicose ou da via do sorbitol ou (ii) produtos finais de lipoxidação avançada (ALE), que são gerados por compostos reativos dicarbonílicos resultantes da LPO; frequentemente, ambos são denominados sob o termo AGE (OTT et al., 2014). Os AGE compreendem um grande número de estruturas químicas heterogêneas, alguns exemplos conhecidos são: N $\epsilon$ -(carboximetil) lisina (CML), pentosidina, argipirimidina, pirrolina, imidazolona, dímero de lisina derivado de glioxal (GOLD), dímero de lisina derivado do metilglioxal (MOLD), N $\epsilon$ -(carboxietil) lisina (CEL), frutose-lisina, entre outros (NOWOTNY et al., 2015; PASUPULATI et al., 2016).

Vários mecanismos têm sido propostos para explicar o envolvimento de AGE no estabelecimento das complicações diabéticas, tais como: acarretar a perda da função proteica, o que pode incluir a rigidez vascular; e interagir com os receptores de AGE (RAGE) (ENGELLEN; STEHOUWER; SCHALKWIJK, 2013).

Os AGE são capazes de interagirem com uma variedade de receptores de superfície celular, ocasionando ativação celular de eventos pró-oxidantes e pró-inflamatórios ou promovendo sua endocitose e degradação (OTT et al., 2014; PASUPULATI et al., 2016).

O receptor RAGE é um membro da superfamília de imunoglobulinas e está implicado no desenvolvimento da inflamação e estresse oxidativo (PASUPULATI et al. 2016). Esse receptor é encontrado em uma variedade de células, tais como células endoteliais, neuronais, fibroblastos, macrófagos, entre outras; no rim, os RAGE são encontrados em células epiteliais tubulares, glomerulares e mesangiais. Em condições fisiológicas normais, a expressão dos RAGE é baixa, mas pode ser regulada em resposta ao estresse e/ou inflamação (OTT et al., 2014; PASUPULATI et al., 2016).

A interação AGE-RAGE regula diversos eventos via ativação de várias cascatas de sinalização, resultando na disfunção celular. A interação AGE-RAGE ativa a NADPH oxidase, a qual leva ao aumento na geração de ERO. O aumento na geração de ERO ativa o fator nuclear kappa B (NF- $\kappa$ B), que induz a transcrição de genes inflamatórios da parede vascular (BASTA; SCHMIDT; DE CATERINA, 2004). A PKC também pode ativar a NADPH oxidase, favorecendo assim a exacerbação do estresse oxidativo (RAINS; JAIN, 2011). A ativação de RAGE também induz a apoptose celular por aumento na expressão de p53-Bax e promovendo a ativação da cascata de caspases dependente de cálcio (TANGVARASITTICHAJ, 2015).

A interação entre ligante e RAGE induz vários tipos de cascatas de sinalização, dependendo do tipo de célula e da condição fisiopatológica; dentre os componentes que participam da cascata de transdução de sinal dos RAGE podem ser citados os membros das seguintes famílias: proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK), janus quinase/transdutor de sinal e ativador de transcrição (JAK/STAT), NF- $\kappa$ B, quinase regulada por sinal extracelular (ERK), PKC e proteína de resposta de crescimento inicial 1 (Egr-1). Estas vias de sinalização associadas ao receptor RAGE culminam em estímulos para a transcrição de genes pró-inflamatórios e causam alterações fenotípicas celulares, incluindo estímulo à migração, invasão, proliferação e apoptose (OTT et al., 2014). O receptor RAGE quando ativado também estimula a cascata sinalizatória fosfatidilinositol-3-quinase (PI3K) – proteína quinase B (Akt) – quinase I $\kappa$ B (IKK), com ativação de NF- $\kappa$ B e sua translocação para o núcleo. O NF- $\kappa$ B, além de mediar a inflamação, também aumenta a expressão de RAGE e inibe a expressão de glioxalase I (GLO 1) (OTT et al., 2014; PASUPULATI et al., 2016; EMEL'YANOV, 2017).

O organismo possui sistemas endógenos para a detoxificação dos AGE e assim diminuir seus efeitos deletérios. Além do RAGE, existe a família de receptores de produtos finais de glicação avançada (AGE-R). O complexo AGE-R consiste em três receptores distintos: AGE-R1/OST-48, AGE-R2/80K-H e AGE-R3/galectin-3, e está envolvido na sinalização de AGE e na endocitose de proteínas modificadas. O receptor AGE-R1/OST-48 é encontrado nas células mesangiais, endoteliais, neuronais, fibroblastos, macrófagos, entre outras. No rim, sua expressão está diminuída em patologias, incluindo o DM. Este receptor, quando ativado, aumenta a velocidade de remoção dos AGE, uma vez que promove a endocitose e degradação de proteínas modificadas, e também possui um papel protetor contra agressões mediadas pelo estresse glico-oxidativo, e assim previne lesões celulares e teciduais (OTT et al., 2014; PASUPULATI et al., 2016). A captação de AGE por seus receptores e receptores *scavenger* promovem a endocitose e dentro dos endossomas recém-formados, os AGE são dissociados do receptor, devido ao maior pH no interior dos endossomas. Após a separação, o receptor pode ser reciclado e transferido de volta para a superfície das células. Os endossomas com AGE fundem-se com os lisossomas, seguindo para o processamento de AGE por proteases lisossomais. Pequenos peptídeos modificados por AGE são liberados das células, por mecanismos desconhecidos, e em seguida transportados para filtração pelos rins, assim prejuízos na função renal resultam em acúmulos de AGE (PASUPULATI et al., 2016).

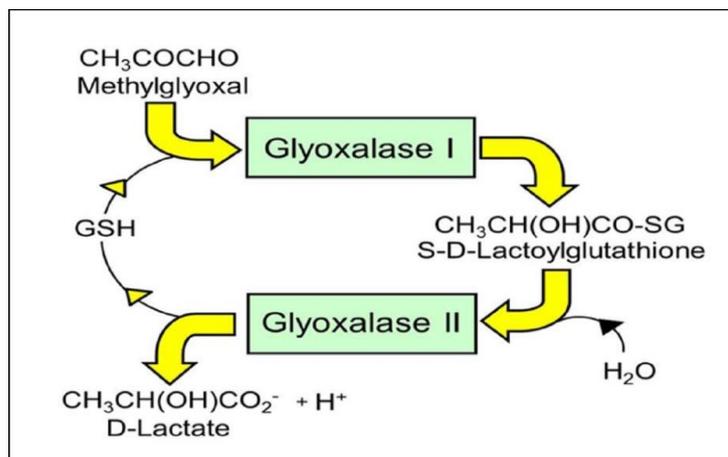
No DM os mecanismos de detoxificação dependentes de receptores de AGE encontram-se prejudicados, em especial com redução na atividade de AGE-R1, o que

contribui para o acúmulo de AGE e, portanto, para lesão tecidual (PINKAS; ASCHNER, 2016).

O receptor AGE-R1 se opõe ou intercepta os efeitos pró-inflamatórios dos receptores RAGE. O AGE-R1 inibe a atividade da NADPH oxidase e diminui geração de estresse oxidativo, bem como a sinalização mediada pelas ERO. Tem sido sugerido que AGE-R1 facilita a captação de AGE e impede a ativação da sinalização pró-inflamatória do eixo AGE-RAGE (ABATE et al., 2015). O mecanismo proposto para AGE-R1 na inibição da sinalização da inflamação e estresse oxidativo, se deve ao exercer suas funções através de sirtuína 1 (SIRT 1), na qual inibe NF-κB por desacetilação, resultando em menor inflamação e estresse oxidativo; a transcrição de genes relacionados ao estresse oxidativo e à inflamação é inibida por AGE-R1 e SIRT 1 (POULSEN et al., 2013). Os efeitos protetores do AGE-R1 podem se originar de sua longa cauda extracelular com alta aderência a AGE, que interfere competitivamente com as interações AGE-RAGE (VLASSARA; STRIKER, 2011).

Outro sistema de detoxificação de AGE é o sistema da glicoxalase. Esse sistema consiste de duas enzimas, GLO 1 e glicoxalase 2 (GLO 2), que catalisam reações sucessivas e dependentes de GSH. Estas enzimas catalisam a conversão de compostos carbonílicos, como o metilglicoxal, em ácido láctico. A GLO 1 catalisa a isomerização do hemitioacetil (formado não enzimaticamente a partir do metilglicoxal e GSH para S-D-lactoilglutathione, e a GLO 2 catalisa a hidrólise de S-D-lactoilglutathione em D lactato, regenerando GSH utilizada na reação catalisada por GLO 1 (FIGURA 4) (RABBANI; THORNALLEY, 2019).

Figura 4 – Sistema da glicoxalase.

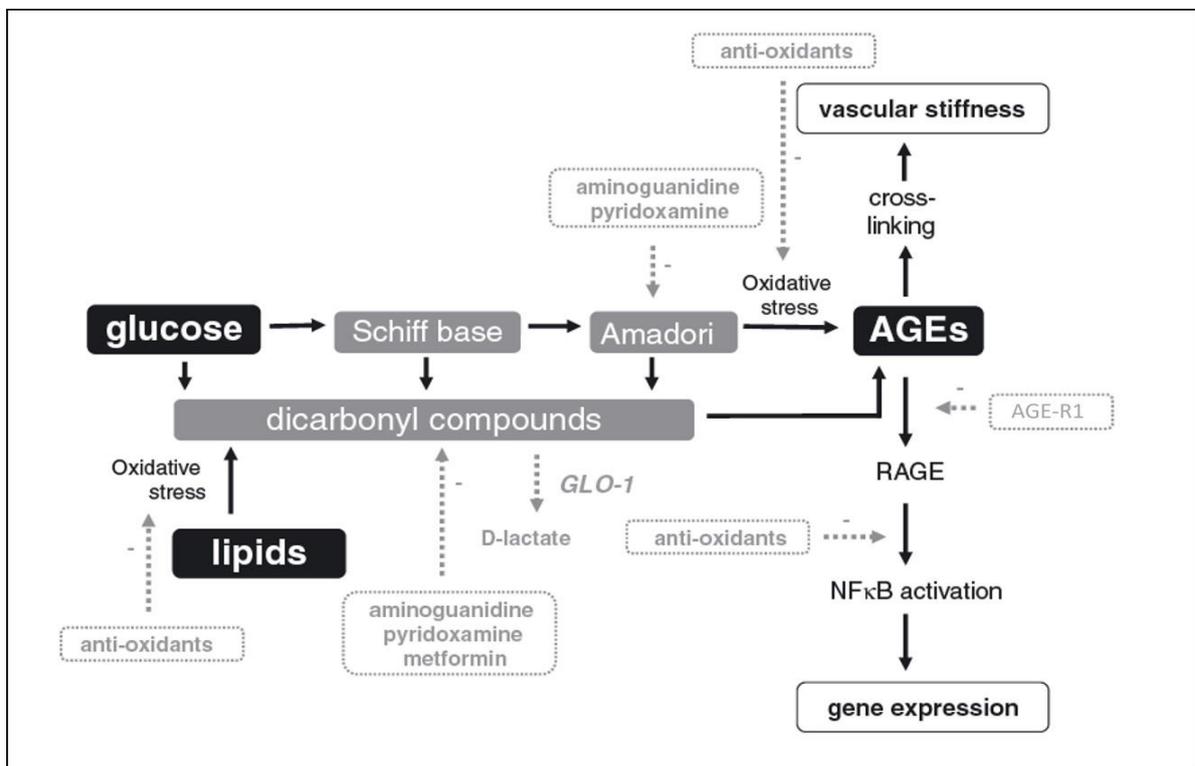


Metabolismo do metilglicoxal pelo sistema da glicoxalase.  
Fonte: RABBANI; THORNALLEY, 2019.

A expressão elevada de glioxalase reduz a formação intracelular de AGE, que por sua vez reduz o estresse oxidativo e apoptose celular. A indução de mecanismos de detoxificação de AGE, incluindo o sistema da glioxalase e o receptor AGE-R1, conferem proteção contra a glicação, impedindo o acúmulo de intermediários altamente reativos (HOLLENBACH, 2017). No entanto, o aumento do estresse glico-oxidativo pode ocasionar a saturação do sistema da glioxalase e ele não ser capaz de diminuir as concentrações de metilglioxal (XUE et al., 2012).

Na Figura 5 está representado resumidamente a geração de AGE e suas ações, assim como, alguns alvos de intervenção na via de glicação.

Figura 5 – Formação de AGE e alguns alvos de intervenção na via da glicação.



As diversas vias de formação de AGE e suas consequências deletérias estão mostradas de cinza e preto (linhas contínuas). Vias de detoxificação, como GLO 1 e AGE-R1, assim como potenciais locais de intervenção, tanto na formação quanto nas ações dos AGE, estão indicados com linhas pontilhadas. Fonte: ENGELEN; STEHOUWER; SCHALKWIJK, 2013, com modificações.

### 1.2.3 Função neutrofílica no diabetes mellitus

Os neutrófilos representam a primeira linha de defesa do organismo contra microrganismos invasores, células infectadas com vírus e células tumorais (AMULIC et al., 2012). O reconhecimento de componentes microbianos por neutrófilos desencadeia a

fagocitose, ativação do sistema NADPH oxidase fagocítico (NOX2), geração de ERO e liberação de proteínas granulares, tais como mieloperoxidase (MPO) e elastase. Essas ERO e enzimas agem como agentes microbicidas e participam dos processos inflamatórios (AMULIC et al., 2012; KABEYA et al., 2013).

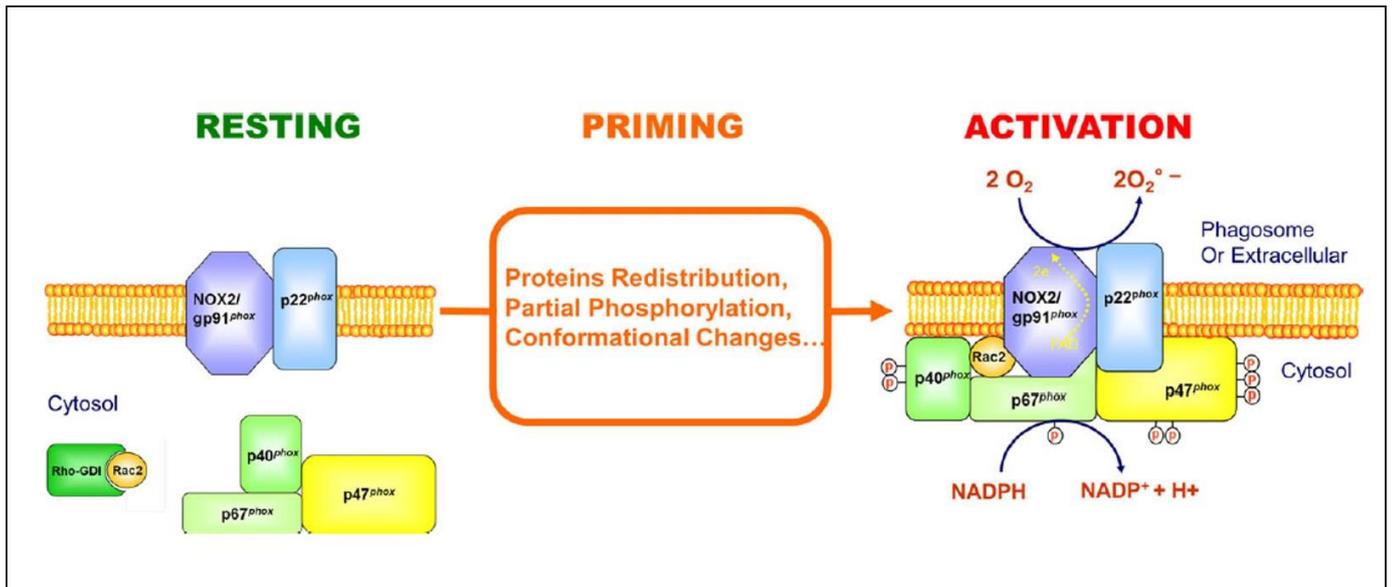
A geração de ERO pelos fagócitos foi referida primeiro como “explosão respiratória” (*burst* respiratório) ou “explosão oxidativa” (*burst* oxidativo) devido ao aumento rápido e insensível ao cianeto no consumo de O<sub>2</sub>, aumento no consumo de glicose e liberação imediata de ERO (HAMPTON; KETTLE; WINTERBOURN, 1998; EL-BENNA et al., 2016). O sistema enzimático responsável pela geração de O<sub>2</sub><sup>•-</sup> é o sistema NADPH oxidase fagocítico, um membro da família NOX, também conhecido como NOX2. O sistema NOX2 é composto por seis proteínas, duas proteínas transmembranas (p22phox e gp91phox) que formam o flavocitocromo b558 e quatro proteínas solúveis (p47phox, p67phox e p40phox) e as pequenas proteínas G (Rac1 / 2). Os componentes de membrana e citosólico da NOX2 estão dissociados na célula em repouso, mas se unem na membrana após a ativação (BABIOR, 1999; EL-BENNA et al., 2016).

Vários agentes não são capazes de ativar a NOX2 *per se*, mas potencializam a ativação induzida por um estímulo secundário, desta forma, indicando a presença de estados intermediários de ativação da NOX2 e não apenas o estado de repouso ou ativado (FIGURA 6). Essa etapa intermediária de “reforço” foi referida como estado “preparado” (*priming*) (HALLETT; LLOYDS, 1995; EL-BENNA; DANG; GOUGEROT-POCIDALO, 2008). O estado *priming* prepara a NOX2 para uma ativação mais forte, é um estado “pronto para ir”, em que ocorre o aumento na produção de ERO mais rapidamente e excessivamente após estímulo subsequente, como quimioatraentes e patógenos. O *priming* da NOX2 contribui para uma eliminação rápida e eficiente dos patógenos, entretanto, também pode promover a geração de grande quantidade de ERO tóxica por hiperativação da NOX2, o que pode causar danos aos tecidos e participar da inflamação. Portanto, o *priming* e ativação da NOX2 devem ser rigorosamente reguladas (EL-BENNA et al., 2016).

No DM ocorre o *priming* da NOX2 nos neutrófilos, o que pode ser devido a própria hiperglicemia (LAWSON et al., 2002), AGE (WONG et al., 2002) ou hiperlipidemia (MAZOR et al., 2008), aumentando o estresse oxidativo que é, em parte, responsável pelas complicações diabéticas (OMORI et al., 2008). Além disso, citocinas pró-inflamatórias também estão envolvidas no *priming* de neutrófilos, como fator de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ) e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos (GM-CSF) (EL-BENNA et al., 2016).

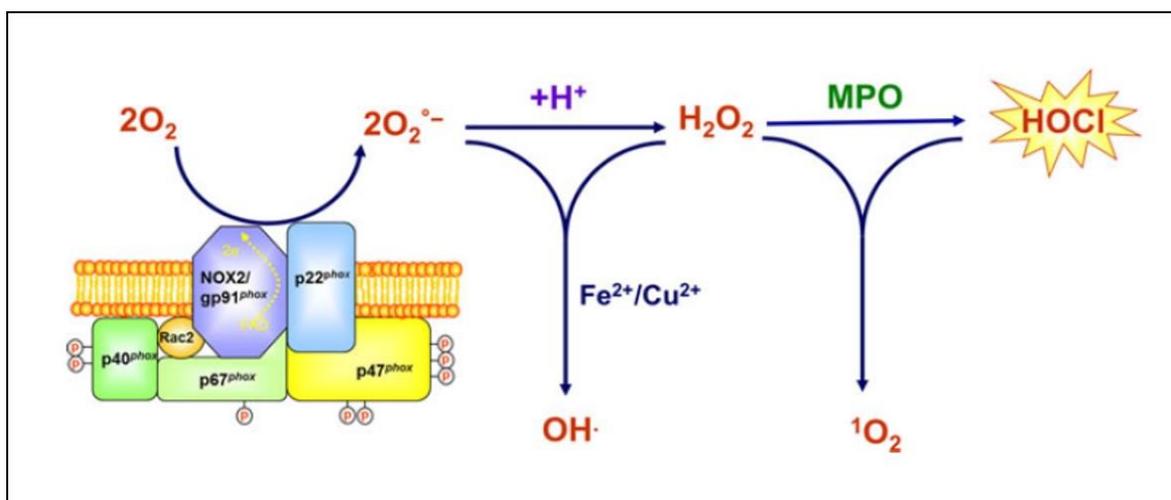
A ativação de NOX2 gera  $O_2^{\cdot-}$  e esse radical tem pouca atividade microbicida, entretanto, origina ERO mais potentes, como o  $H_2O_2$ , ácido hipocloroso (HOCl),  $OH^{\cdot}$  e oxigênio singlete ( $^1O_2$ ), que podem ser devastadoras para microrganismos invasores (FIGURA 7) (BOGDAN et al., 2000; BABIOR, 2002; BEDARD; KRAUSE, 2007).

Figura 6 – Sistema NOX2 de neutrófilos, em repouso, “preparado” e ativado.



No estado em repouso (*resting*), os componentes da NOX2 estão dissociados entre membrana (gp91phox e p22phox) e o citosol (p67phox, p47phox, p40phox, Rac2). O “preparo” (*priming*) induz várias alterações, como translocação dos componentes citosólicos, fosforilação parcial da p47phox e alterações conformacionais. A ativação (*activation*) induz a rápida montagem do complexo, com geração de  $O_2^{\cdot-}$ . Phox: oxidase fagocítica. Fonte: EL-BENNA et al., 2016.

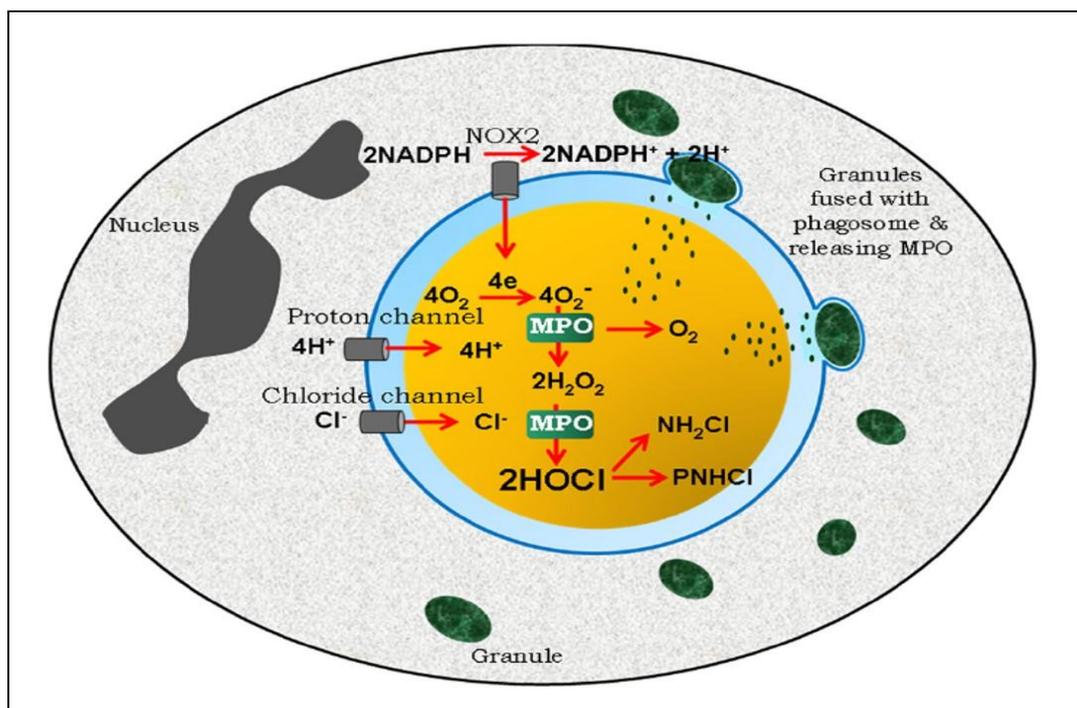
Figura 7 – *Burst* oxidativo.



A NOX2 ativada utiliza o NADPH citosólico para transferir elétrons via FAD para o  $O_2$  e gerar  $O_2^{\cdot-}$ . O  $O_2^{\cdot-}$  pode reagir com prótons e gerar  $H_2O_2$ , o qual é utilizado pela MPO para produzir HOCl/OCl $^-$ . O  $O_2^{\cdot-}$  pode reagir com  $H_2O_2$  e gerar  $OH^{\cdot}$ , essa reação pode ocorrer na presença de  $H_2O_2$  e metais tais como  $Fe^{2+}$  ou  $Cu^{2+}$ . A reação do  $H_2O_2$  com hipoclorito (OCl $^-$ ) pode originar o  $^1O_2$ . Fonte: EL-BENNA et al., 2016.

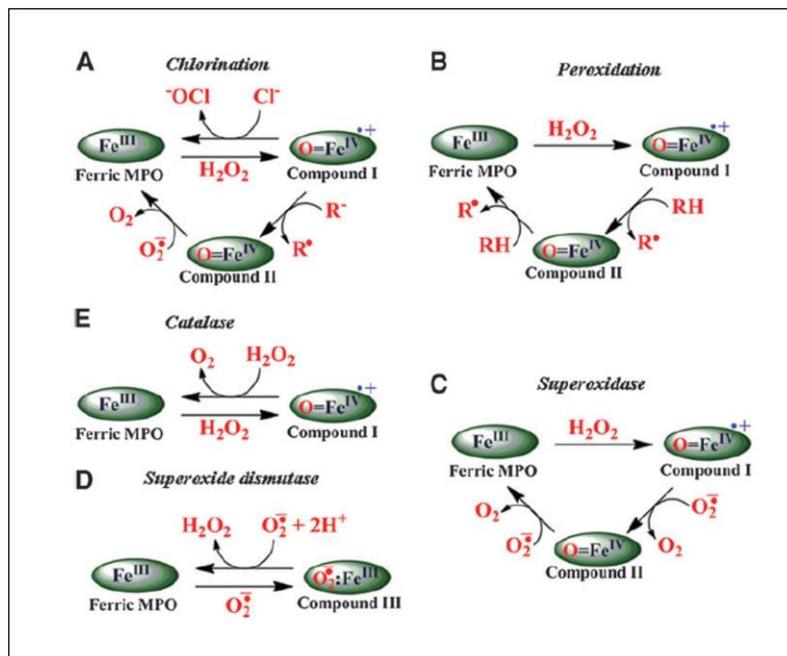
O HOCl/OCl<sup>-</sup> tem sido usualmente descrito como a espécie reativa responsável pela morte celular bacteriana mediada pelos neutrófilos (RAYNER; LOVE; HAWKINS, 2014). A dismutação do O<sub>2</sub><sup>-</sup>, espontaneamente ou pela catálise da SOD e/ou MPO (via MPO III), forma o H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. A MPO na presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> catalisa a oxidação do cloreto (Cl<sup>-</sup>) e gera HOCl/OCl<sup>-</sup>, o qual interage com microrganismos ou com as proteínas dos neutrófilos para produzir cloraminas citotóxicas (FIGURAS 7 e 8) (KLEBANOFF et al., 2013). A MPO é liberada nos compartimentos fagossomais e no meio extracelular por polimorfonucleares como neutrófilos, monócitos e alguns tipos de macrófagos teciduais (RAYNER; LOVE; HAWKINS, 2014). Além da atividade clorinante (geração de HOCl/OCl<sup>-</sup>) a MPO catalisa outras reações utilizando como substratos H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, O<sub>2</sub><sup>-</sup> e compostos orgânicos (FIGURA 9) (WINTERBOURN; KETTLE, 2013).

Figura 8 – Sistema antimicrobiano mediado pela MPO.



A ativação da NOX2 transfere elétrons do NADPH citoplasmático (cinza) ao oxigênio molecular dissolvido no fagossomo (azul). Um canal de prótons permite simultaneamente a transferência de H<sup>+</sup> para equilibrar a carga e fornecer prótons para as reações seguintes. Os grânulos (verde) contendo MPO fundem com o fagossomo e liberam seus conteúdos. A MPO reage com o O<sub>2</sub><sup>-</sup>, gerado pela NOX2, causando sua dismutação e formando H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. O cloreto está disponível para o fagossomo devido a uma combinação de pinocitose durante a fagocitose e o transporte por meio de um ou mais canais de cloro. A MPO então catalisa a oxidação para formar HOCl/OCl<sup>-</sup>, o qual reage com a bactéria (amarelo) ou com as proteínas de neutrófilos para produzir cloraminas citotóxicas. Fonte: KLEBANOFF et al., 2013.

Figura 9 – Ciclos catalíticos da MPO.



(A) Atividade de cloração (B) Atividade de peroxidação (C) Atividade de superóxido (D) Atividade de superóxido dismutase (E) Atividade de catalase. Fonte: WINTERBOURN; KETTLE, 2013.

No DM existem relatos conflitantes sobre a produção de ERO por neutrófilos, pois alguns estudos demonstram que a geração de ERO é prejudicada e/ou diminuída, resultando na atenuação da defesa do hospedeiro (ALBA-LOUREIRO et al., 2006; DAOUD et al., 2009; FERREIRA et al., 2012). Mas, outros estudos mostram que a hiperglicemia ocasiona o aumento da geração de ERO pelos neutrófilos, contribuindo para o estresse oxidativo e não necessariamente no *killing* de microrganismos (MARIN et al., 2011; RAYNER; LOVE; HAWKINS, 2014).

A infecção em indivíduos diabéticos é uma importante causa de morbidade e mortalidade. No DM, existem alterações das funções neutrofílicas que contribuem para a elevada incidência e gravidade de infecções (ALBA-LOUREIRO et al., 2006; HOTAMISLIGIL, 2006). As investigações clínicas em pacientes diabéticos e estudos em modelos experimentais com ratos e camundongos diabéticos demonstraram prejuízos consistentes na quimiotaxia de neutrófilos, atividade fagocítica e microbicida (ALBA-LOUREIRO et al., 2007; FERREIRA et al., 2012). Ferreira et al. (2012) evidenciaram que em ratos diabéticos as funções fagocíticas (candidida) de neutrófilos estão prejudicadas devido à hiperglicemia, com diminuição na atividade de MPO, e, portanto, com prejuízos na sua função microbicida. Além disso, os AGE podem levar a uma estimulação prolongada dos neutrófilos, reduzindo sua capacidade de responder a estímulos fisiológicos (COLLISON et

al., 2002). E ainda, os neutrófilos podem ser aprisionados na matriz glicada dos tecidos, no processo de glicação proteica, resultado em uma diminuição da capacidade de quimiotaxia (HU et al., 2015).

Embora não exista dúvida de que o HOCl/OCl<sup>-</sup> produzido pela MPO é essencial para a morte microbiana e inativação viral, esta espécie reativa também tem sido implicada na mediação de danos oxidativos dos tecidos e na disfunção celular (RAYNER; LOVE; HAWKINS, 2014). Os oxidantes gerados pela MPO são capazes de promover disfunção endotelial ocasionando vários danos vasculares, portanto, elevados níveis de MPO e HOCl/OCl<sup>-</sup> podem ser indicativos de aumento no risco de distúrbios cardiovasculares (PODREZ; ABU-SOUD; HAZEN, 2000; BRENNAN; HAZEN, 2003; STOCKER et al., 2017). Estudos demonstraram que os níveis plasmáticos de MPO estão associados à incidência de doença arterial coronariana em pacientes diabéticos e a hiperglicemia pode intensificar essa associação (WIERSMA et al., 2008; SONG et al., 2015).

Além disso, a hiperglicemia pode ocasionar a ativação dos neutrófilos pelo estímulo constante da PKC, resultando em um aumento da atividade de NOX2 e conseqüentemente maior produção de O<sub>2</sub><sup>-</sup>, que são liberados nos fagossomos e também no meio extracelular (KARIMA et al., 2005; YANO et al. 2012). A quantidade e a funcionalidade dos neutrófilos não é apenas destrutiva para os microrganismos invasores, mas também as células do hospedeiro. Assim, a migração dos neutrófilos deve ser rigorosamente controlada, embora alguns danos aos tecidos do hospedeiro sejam inevitáveis durante a infecção, os neutrófilos devem ser removidos antes que tenham efeitos sérios e prejudiciais nos tecidos inflamados (AMULIC et al., 2012).

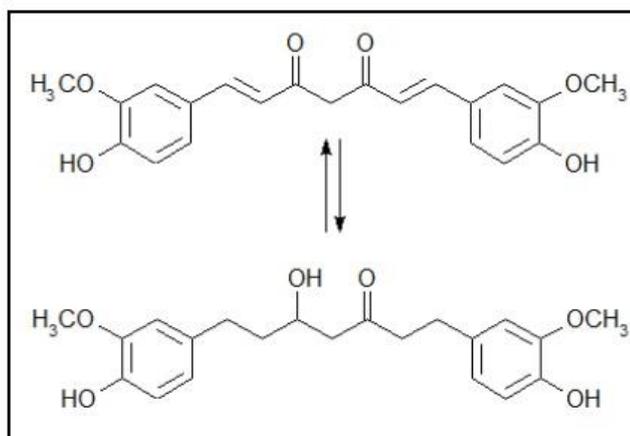
Diante do exposto, torna-se importante uma estratégia terapêutica direcionada para modular o estresse glico-oxidativo, bem como, os parâmetros da função neutrófilica, e que pode contribuir no auxílio da diminuição da morbidade e mortalidade do DM, o que aponta para associação da curcumina e um agente antiglicante uma estratégia em potencial.

#### **1.2.4 Curcumina**

A curcumina é um pigmento amarelo natural isolado do rizoma comestível do açafrão-da-terra (*Curcuma longa* L.), é um polifenol e o principal curcuminóide pertencente à cúrcuma. Quimicamente a curcumina é uma diferuloilmetano (1,7-bis (4-hidroxi-3-metoxifenil)-1,6-heptadieno-3,5-diona) (FIGURA 10), possui dois anéis aromáticos ligados por dois grupos carbonilas, conferindo características lipofílicas a molécula e

consequentemente baixa solubidade em água (GOWTHAMARAJAN et al., 2015; GHOSH; BANERJEE; SIL, 2015).

Figura 10 - Estruturas moleculares da curcumina em equilíbrio ceto-enólico



Fonte: ZHANG et al., 2013

Devido as suas inúmeras propriedades benéficas, tais como antioxidante, antidiabética, anticancerígena, anti-inflamatória e antibacteriana, ela tem sido estudada como uma opção promissora para o tratamento de diversas doenças (AGGARWAL; SUNG, 2008; GUTIERRES et al., 2012; LI et al., 2013; LIU et al., 2015; ASSIS et al., 2017). O desenvolvimento de terapias que empregam produtos naturais para prevenir ou melhorar complicações relacionadas às doenças tem recebido destaque, uma vez que esses produtos são amplamente consumidos pela população e em geral não apresentam efeitos adversos.

Em relação ao DM, o efeito da curcumina sobre a glicemia foi relatado pela primeira vez em 1972 (SRINIVASAN, 1972) e desde então seus efeitos e/ou mecanismos de ação têm sido amplamente estudados na fisiopatologia do DM, com diversos benefícios demonstrados na redução da hiperlipidemia, resistência à insulina, estresse glico-oxidativo, entre outros, e desta forma surge como uma opção promissora para prevenir as complicações da doença (ZHANG et al., 2013; MOHAMMED; ISLAM, 2018). A curcumina é capaz de reduzir a hiperglicemia por diversos mecanismos: aumento da secreção de insulina via estimulação direta da atividade elétrica das células beta pancreáticas (BEST; ELLIOT; BROWN, 2007) e via aumento da expressão e atividade da heme oxigenase 1 em ilhotas de Langerhans (ABDEL-AZIZ et al., 2010); aumento na ativação (fosforilação em serina-473) da Akt, um intermediário da sinalização da insulina, aumento na translocação dos transportadores de glicose do tipo 4 (GLUT 4) e diminuição da intolerância à glicose em músculos esqueléticos (GUTIERRES et al., 2015); aumento da captação de glicose pela musculatura esquelética, via

ativação das vias proteína quinase dependente adenosina monofosfato (AMPK) e MAPK p38 (KIM et al., 2010); inibição da produção hepática de glicose via gliconeogênese (FUJIWARA et al., 2008); e aumento na sensibilidade periférica ao hormônio (SHAO et al., 2012).

Apesar das várias atividades atribuídas a curcumina, quando administrada por via oral, ela apresenta baixa absorção, distribuição tecidual limitada, meia-vida curta e rápida velocidade de biotransformação no fígado e intestino, seguida de rápida excreção, sendo um fator limitante para aprovação clínica (PAN et al., 1999; VAREED; KAKARALA; RUFFIN, 2008; GHOSH; BANERJEE; SIL, 2015). Portanto, a baixa biodisponibilidade da curcumina é um dos principais obstáculos em alcançar níveis circulantes adequados às suas ações farmacodinâmicas, e conseqüentemente, atingir eficácia terapêutica. Em função disso, várias estratégias têm sido empregadas, como o uso de nanopartículas (SHAIK et al., 2009), lipossomas (CHEN C. et al., 2009), micelas (LETCHFORD; LIGGINS; BURT, 2007), complexos de fosfolípidos (MAITI et al., 2007) e associação com adjuvantes que possuem atividade de *bioenhancer*, tal como a piperina (SHOBA et al., 1998; MOORTHI; KATHIRESAN, 2013).

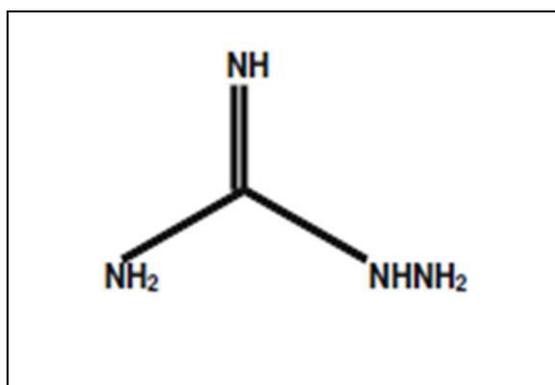
Trabalhos do laboratório tem demonstrado a associação do potencial antidiabético da curcumina e a possibilidade do uso do iogurte como veículo para a administração de fitoterápicos. Gutierrez et al. (2012) demonstraram que o tratamento de ratos diabéticos durante 31 dias com iogurte enriquecido com 90 mg/kg de curcumina foi capaz de promover redução na ingestão alimentar, ingestão hídrica e no volume urinário, redução da hiperglicemia, hipertrigliceridemia e das atividades das enzimas aspartato (AST) e alanina (ALT) aminotransferases, redução de glicosúria, ureia urinária e proteinúria, e aumento no conteúdo de glicogênio hepático. Um dos mecanismos pelos quais a curcumina possui efeito antihiper-glicêmico parece estar relacionado ao aumento na captação de glicose, uma vez que ratos diabéticos tratados com curcumina em iogurte e submetidos à sobrecarga oral de glicose apresentaram maior eficiência na redução da hiperglicemia e aumento na translocação de GLUT 4 para a membrana plasmática da musculatura esquelética, associado ao aumento na ativação (fosforilação em serina-473) de Akt (GUTIERRES et al., 2015). O tratamento de ratos diabéticos com iogurte enriquecido com 90 mg/kg de curcumina durante 45 ou 50 dias também diminuiu o estresse oxidativo hepático, com redução nos níveis de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS, marcador de LPO) e de PCO e aumento nas atividades das enzimas antioxidantes SOD, CAT e GSH-Px no fígado, em relação aos ratos diabéticos tratados somente com iogurte (ARCARO et al., 2014; ASSIS et al., 2017).

Também tem sido demonstrado que a curcumina tem a capacidade de diminuir o estresse glico-oxidativo por influenciar nas etapas de formação de AGE (sequestro de metilgloxal e eliminação de ERO), em modelos *in vivo* e *in vitro*, e também nos eventos desencadeados pelos AGE, tais como a regulação diferencial da expressão gênica de dois receptores de AGE, sendo o receptor RAGE inibido e o receptor AGE-R1 estimulado, em células estreladas hepáticas (TANG; CHEN, 2014; ALIZADEH; KHEIROURI, 2019). Tem sido também observada a prevenção do acúmulo de AGE no colágeno (WU et al., 2011; HU et al., 2012) e no coração (YU et al., 2012) de ratos diabéticos tratados com curcumina.

### 1.2.5 Aminoguanidina

Em modelos *in vivo* (LUO; FAN; XU, 2012; LV et al., 2018) e *in vitro* (JOGLEKAR; PANASKAR; ARVINDEKAR, 2014; LIU et al., 2018), um dos agentes mais eficientes utilizados para prevenir a formação dos AGE é a aminoguanidina (ou Pimagedina). A aminoguanidina possui dois grupos principais: o grupo hidrazina nucleofílico e o grupo guanidina (FIGURA 11), que conferem alta reatividade a molécula, e reduz a formação dos AGE, principalmente direcionada a compostos  $\alpha,\beta$ -dicarbonilas (THORNALLEY, 2003; BORG; FORBES, 2016).

Figura 11 - Estrutura molecular da aminoguanidina



Fonte: SLIMAN et al., 2010.

A aminoguanidina inibe a formação de AGE principalmente por capturar compostos reativos intermediários dicarbonílicos, tais como metilgloxal, glioal e 3-desoxiglicosona (FIGURA 5) (GIARDINO et al., 1998; THORNALLEY, 2003; ENGELEN; STEHOUWER; SCHALKWIJK, 2013), no entanto, esse efeito *in vivo* pode ser limitado, devido a sua rápida eliminação renal (THORNALLEY, 2003). Outra atividade conhecida da aminoguanidina é a

sua capacidade de inibir a enzima óxido nítrico sintase induzível (iNOS) (THORNALLEY, 2003; SONG et al., 2017).

Brownlee et al. (1986) demonstraram pela primeira vez o efeito preventivo da aminoguanidina na formação dos AGE em animais diabéticos, uma vez que atenuou a geração de AGE fluorescentes e a formação de ligações cruzadas das proteínas do tecido conjuntivo da parede arterial. Após esse relato, a aminoguanidina tem sido utilizada para prevenir a formação de AGE *in vivo* e *in vitro* e demonstra sua importância e envolvimento dos AGE em muitas doenças (THORNALLEY, 2003; EMEL'YANOV, 2017).

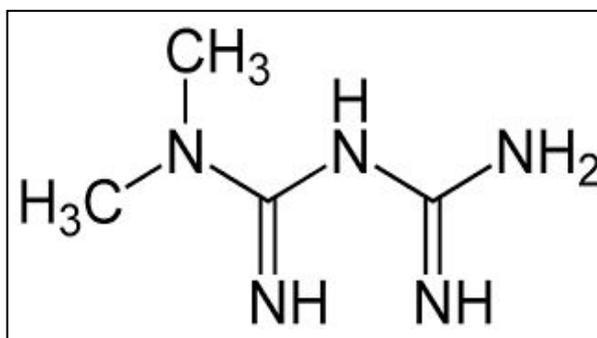
A administração de aminoguanidina limita as alterações estruturais e prejuízos funcionais nos tecidos (GOH; COOPER, 2008). Em sentido oposto aos estudos que mostraram efeito nefrotóxico da aminoguanidina (PHILIS-TSIMIKAS et al., 1995; SKAMURAUSKAS; MCKAY; HUNT, 1996), Soulis et al. (1997) demonstraram que ela foi capaz de impedir a formação de AGE fluorescentes no rim e o desenvolvimento de albuminúria em ratos diabéticos; Ferreira et al. (2016) mostraram que o tratamento de ratos diabéticos com aminoguanidina reduziu os danos renais, eles observaram redução nos níveis séricos de ureia e efeito protetor da aminoguanidina no dano glomerular, inflamação e espessamento da membrana basal (avaliado por análise histológica qualitativa); e ainda, Lv et al. (2018) demonstraram que o tratamento de ratos diabéticos com aminoguanidina e/ou *Panax notoginseng* reduziu as alterações patológicas renais observadas no grupo de animais diabéticos não tratados, bem como o volume glomerular, creatinina sérica e proteína urinária de 24 horas. Além disso, a aminoguanidina é capaz de atenuar o desenvolvimento de doenças cardiovasculares (THOMAS et al., 2005) e retinopatia (LUO; FAN; XU, 2012). Nico et al. (2013) observaram que a aminoguanidina não é hepatotóxica, quando utilizada em dose de 1 mg/mL para o tratamento de complicações decorrentes do DM, e confirmou que a associação da aminoguanidina com a prática de exercício físico moderado ameniza os danos causados pelo DM, mesmo sem a utilização de insulina.

A aminoguanidina também pode atuar como antioxidante, eliminando radicais OH<sup>\*</sup>, inibindo a LPO e aumentando a atividade de enzimas antioxidantes (SOD, CAT e GSH-Px) (SLIMAN et al., 2010; KARLI et al., 2012; ORMAN et al., 2015). Contudo, a aminoguanidina foi capaz de aumentar o *pool* de ERO e a capacidade microbicida de neutrófilos de ratos diabéticos e não diabéticos (FERREIRA et al., 2016).

A aminoguanidina é um potente inibidor da formação de AGE e é o mais frequentemente utilizado em experimentos como agente antiglicante padrão, no entanto, existem outros compostos, que também possuem a capacidade de inibir a formação de AGE,

como a metformina, vitaminas B e seus derivados sintéticos, compostos polifenóis vegetais (resveratrol, curcumina, ácido gálico, etc), entre outros (ENGELEN; STEHOUWER; SCHALKWIJK, 2013; EMEL'YANOV, 2017). A metformina (dimetilbiguanida) (FIGURA 12) é um derivado da guanidina e devido sua semelhança estrutural com a aminoguanidina, foi proposto que a metformina detoxifica os intermediários dicarbonílos de maneira semelhante à aminoguanidina, consequentemente impedindo a formação de AGE (BONNEFONT-ROUSSELOT et al.; 2003; ENGELEN; STEHOUWER; SCHALKWIJK, 2013).

Figura 12 - Estrutura molecular da metformina.



Fonte: BEISSWEIGER et al., 2003.

Dentre as alternativas para terapia combinada aplicáveis ao DM e como exposto acima a curcumina e a aminoguanidina (ou metformina) são interessantes nessa prospecção.



## 2 CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou que os tratamentos com curcumina e aminoguanidina incorporadas no iogurte, isoladas ou co-administradas, promoveram diversos efeitos benéficos nos biomarcadores metabólicos e do estresse glico-oxidativo analisados no plasma, fígado e rim. Os tratamentos com curcumina e aminoguanidina, administrados isoladamente, apresentaram melhoria na maioria dos parâmetros investigados e os tratamentos com as associações também foram benéficos frente a esses biomarcadores. O tratamento que apresentou maior benefício foi a associação de curcumina e 50 mg/kg de aminoguanidina, que além de preservar os efeitos dos respectivos compostos isolados sobre alguns parâmetros, também promoveu respostas combinadas e sinérgicas, em relação aos tratamentos isolados. A associação de curcumina e 50 mg/kg de aminoguanidina foi promissora no controle glicêmico, na redução do estresse glico-oxidativo (plasma, fígado e rim) e na melhoria da função neutrofílica, portanto, demonstrando potencial na atenuação e/ou prevenção das complicações do DM.

## REFERÊNCIAS

ABATE, G.; DELBARBA, A.; MARZIANO, M.; MEMO, M.; UBERTI, D. Advanced glycation end products (AGES) in food: focusing on Mediterranean pasta. **Journal of Nutrition & Food Sciences**, v. 5, n. 6, p. 1-8, 2015.

ABDEL-AZIZ, M. T.; EL-ASMAR, M. F.; EL-NADI, E. G.; RASHED, L. A.; AHMED, L. A.; OBAIA, E. M.; SABRY, D.; HASSOUNA, A. A.; ABDEL-AZIZ, A. T. The effect of curcumin on insulin release in rat-isolated pancreatic islets. **Angiology**, v. 61, p. 557-66, 2010.

ABRAHAM, P.; RABI, S. Protective effect of aminoguanidine against cyclophosphamide-induced oxidative stress and renal damage in rats. **Redox Report**, v. 16, n.1, p. 8-14, 2011.

AGGARWAL, B. B.; SUNG, B. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: na age-old spice with modern targets. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.30, n. 2, 2008.

AHMED, A. F.; MAHMOUD, M. F.; OUF, M. A.; EL-FATHAAH, E. A. Aminoguanidine potentiates the hepatoprotective effect of silymarin in CCL4 treated rats. **Annals of Hepatology**, v. 10, n. 2, p. 207-15, 2011.

AK, T.; GÜLÇİN, I. Antioxidant and radical scavenging properties of curcumin. **Chemico-Biological Interactions**, v.174, p.27-37, 2008.

ALBA-LOUREIRO, T. C. HIRABARA, S. M.; MENDONÇA, J. R.; CURI, R.; PITHON-CURI, T. C. Diabetes causes marked changes in function and metabolism of rat neutrophils. **Journal of Endocrinology**, v.188, p. 295–303, 2006.

ALDINI, G.; DALLE-DONNE, I.; FACINO, R. M.; MILZANI, A.; CARINI, M. Intervention strategies to inhibit protein carbonylation by lipoxidation-derived reactive carbonyls. **Medicinal research reviews**, v. 27, n. 6, p. 817-868, 2007.

Aldridge, W. N. Serum esterases 2- An enzyme hydrolysing diethyl p-nitrophenylphosphate (E600) and its identity with the A-esterase of mammalian sera. **Biochemical Journal**, v. 53, p. 117–124, 1953.

ALIZADEH, M.; KHEIROURI, S. Curcumin against advanced glycation end products (AGEs) and AGEs-induced detrimental agentes. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, v. 59, n. 7, p. 1169 – 1177, 2019.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Classification and Diagnosis of Diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes - 2018. **Diabetes Care**, Alexandria, US, v. 41, Suppl 1, p. S13-S27, 2018.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, Alexandria, US, v. 37, Suppl 1, p. 581-590, 2014.

AMULIC, B. et al. Neutrophil function: from mechanisms to disease. **Annual Review of Immunology**, v. 30, p. 459-489, 2012.

ARCARO, C.A.; GUTIERRES, V.O.; ASSIS, R.P.; MOREIRA, T.F.; COSTA, P.I.; BAVIERA, A.M.; BRUNETTI, I.L. Piperine, a natural bioenhancer, nullifies the antidiabetic and antioxidant activities of curcumin in streptozotocin-diabetic rats. **PloS one**, v.9, p.e113993, 2014.

ARMBRUSTER, D. A. Fructosamine: structure, analysis, and clinical usefulness. **Clinical Chemistry**, v. 33, n. 12, p. 2153-2163, 1987.

ARUN, N.; NALINI, N. Efficacy of turmeric on blood sugar and polyol pathway in diabetic albino rats. **Plant Foods for Human Nutrition**, v. 57, p. 41–52, 2002.

ASSIS, R. P; ARCARO, C.A.; GUTIERRES, V.O; OLIVEIRA, J. O.; COSTA, P. I.; BAVIERA, A. M.; BRUNETTI, I. L. Combined effects of curcumin and lycopene or bixin in yoghurt on inhibition of ldl oxidation and increases in hdl and paraoxonase levels in streptozotocin-diabetic rats. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 18, n.4, 2017.

AYALA, A.; MUÑOZ, M. F.; ARGÜELLES, S. Lipid Peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2014, p. 1 – 31, 2014.

BABIOR, B. M. NADPH Oxidase: an update. **Blood**, v. 93, p. 1464–1476, 1999.

BABIOR, B. M. Phagocytes and oxidative stress. **The American Journal of Medicine**, v. 109, p. 33–44, 2000.

BABIOR, B. M. The leukocyte NADPH oxidase. **Israel Medical Association Journal**, v. 4 pt. 11, p. 1023-1024, 2002.

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

BANSAL, S.; SIDDARTH, M.; CHAWLA, D.; BANERJEE, B. D.; MADHU, S. V.; TRIPATHI, A. K. Advanced glycation end products enhance reactive oxygen and nitrogen species generation in neutrophils in vitro. **Molecular and Cellular Biochemistry**, v. 361, n. 1-2, p. 289-96, 2012.

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

BASTA, G.; SCHMIDT, A. M.; DE CATERINA, R. Advanced glycation end products and vascular inflammation: implications for accelerated atherosclerosis in diabetes. **Cardiovascular research**, v. 63, n. 4, p. 582-592, 2004.

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

BEDARD, K.; KRAUSE, K. H. The NOX family of ROS-generating NADPH oxidases: physiology and pathophysiology. **Physiological Reviews**, Bethesda, v. 87, pt.1, p. 245-313, Jan. 2007.

BEERS, R.F.J.R.; SIZER, I.W. A spectrophotometric method of measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. **The Journal of Biological Chemistry**, v.195, p.133-40, 1952.

BEISSWENGER, P. J.; HOWELL, S. K.; O'DELL, R. M.; WOOD, M. E.; TOUCHETTE, A. D.; SZWERGOLD, B. S.  $\alpha$ -Dicarbonyls increase in the postprandial period and reflect the degree of hyperglycemia. **Diabetes care**, v. 4, n. 4, p. 726-732, 2001.

BEST, L.; ELLIOTT, A. C.; BROWN, P. D. Curcumin induces electrical activity in rat pancreatic beta-cells by activating the volume-regulated anion channel. **Biochem Pharmacol**, v. 73, n. 11, p. 1768-1775, 2007.

BHAT, S.; JAGADEESHAPRASAD, M. G.; PATIL, Y. R.; SHAIKH, M. L.; REGIN, B. S.; MOHAN, V.; GIRI, A. P.; BALASUBRAMANYAM, M.; BOPANA, R.; KULKARNI, M. J. Proteomic insight reveals elevated levels of albumin in circulating immune complexes in diabetic plasma. **Molecular & Cellular Proteomics**, v. 15, n. 6, p. 2011-2020, 2016.

BOGDAN, C.; RÖLLINGHOFF, M.; DIEFENBACH, A. Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. **Current Opinion in Immunology**, Philadelphia, v. 12, pt.1, p. 64-76, 2000.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; RAJI, B.; WALRAND, S.; GARDÈS-ALBERT, M.; JORE, D.; LEGRAND, A.; PEYNET, J.; VASSON, M. P. An intracellular modulation of free radical production could contribute to the beneficial effects of metformin towards oxidative stress. **Metabolism**, v. 52, n. 5, p. 586-589, 2003.

BONNEFONT-ROUSSELOT, D.; THÉRON, P.; BEAUDEUX, J. L.; PEYNET, J.; LEGRAND, A.; DELATTRE, J. Aging and oxidative stress. Which potential markers? **Annales de biologie clinique**, v. 59, n. 4, p. 453-9. 2001

BORG, D. J.; FORBES, J. M. Targeting advanced glycation with pharmaceutical agents: where are we now? **Glycoconj J**, v. 33, p. 653–670, 2016.

BRENNAN, M. L.; HAZEN, S. L. Emerging role of myeloperoxidase and oxidant stress markers in cardiovascular risk assessment. **Current Opinion in Lipidology**, v. 14, 353–359, 2003.

BROWNLEE, M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. **Nature**, London, v. 414, pt. 6865, p. 813-820, 2001.

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, v. 54, p. 1615-1625, 2005.

BROWNLEE, M.; VLASSARA, H.; KOONEY, A.; ULRICH, P.; CERAMI, A. Aminoguanidine prevents diabetes-induced arterial wall protein cross-linking. **Science**, v. 232, p. 1629–1632, 1986.

BUCALA, R.; MAKITA, Z.; VEGA, G.; GRUNDY, S.; KOSCHINSKY, T.; CERAMI, A.; VLASSARA, H. Modification of low density lipoprotein by advanced glycation end products

contributes to the dyslipidemia of diabetes and renal insufficiency. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 91, p. 9441-9445, 1994.

CARLBERG, I.; MANNERVIK, B. Glutathione reductase. In: *Methods in enzymology*. Academic press, 484-490. 1985.

CARR, B. C.; EMIGH, C. E.; BENNETT, L. D.; PANSICK, A. D.; BIRCH, D. G.; NGUYEN, C. Towards a treatment for diabetic retinopathy: Intravitreal toxicity and preclinical safety evaluation of inducible nitric oxide synthase inhibitors. **Retina**, v. 37, n. 1, p. 22–31, 2017.

CERCHIARO, G. A.; SCAVONE, C.; TEXEIRA, S.; SANNOMIYA, P. Inducible nitric oxide synthase in rat neutrophils: role of insulin. **Biochemical Pharmacology**, v. 62, n. 3, p. 357-362, 2001.

CHANDRAKALA, M. P.; TEKULAPALLY, K. An evaluation of Hypolipidemic effect of Curcumin: A double blind, placebo controlled, randomized trial. **International Journal of Phytotherapy Research**, v.4, p. 20–26, 2014.

CHANG, K. C. et al. Aminoguanidine prevents arterial stiffening and cardiac hypertrophy in streptozotocin-induced diabetes in rats. **British Journal of Pharmacology**, v. 147, n. 8, p. 944–950, 2006.

CHEN, C.; JOHNSTON, T.D.; JEON, H.; GEDALY, R.; MCHUGH, P.P.; BURKE, T.G.; RANJAN, D. An *in vitro* study of liposomal curcumin: Stability, toxicity and biological activity in human lymphocytes and Epstein-Barr virus-transformed human B-cells. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 366, p. 133-139, 2009.

CHEN, X.; LIN, W.; LU, S.; SHI, Y.; ZOU, J.; LIU, Z.; LIAO, W. Insulin prevents latent skin lesions by inhibiting the generation of advanced glycation end products in streptozotocin-induced diabetic rats. **Endocrine Pathology**, v. 20, 163–169, 2009.

CHILELLI, N.C.; BURLINA, S.; LAPOLLA, A. AGEs, rather than hyperglycemia, are responsible for microvascular complications in diabetes: A “glycooxidation-centric” point of view. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v. 23, p. 913-919, 2013.

CHISTIYAKOV, D. A.; MELNICHENKO, A. A.; OREKHOV, A. N.; BOBRY SHEV, Y. V. Paraoxonase and atherosclerosis-related cardiovascular diseases. **Biochimie**, v. 132, p. 19-27, 2017.

COLLISON, K. S.; PARHAR, R. S.; SALEH, S. S.; MEYER, B. F.; KWAASI, A. A.; HAMMAMI, M. M.; SCHMIDT, A. M.; STERN, D. M.; AL-MOHANNA, F. A. RAGE-mediated neutrophil dysfunction is evoked by advanced glycation end products (AGEs). **Journal of Leukocyte Biology**, v. 71, p. 433-444, 2002.

CORBETTA, J. A.; MCDANIEL, M. L. The Use of Aminoguanidine, a Selective iNOS Inhibitor, to Evaluate the Role of Nitric Oxide in the Development of Autoimmune Diabetes. **Methods**, v. 10, n. 1, p. 21-30, 1996.

COSTA, L. G.; MCDONALD, B. E.; MURPHY, S. D.; OMENN, G. S.; RICHTER, R. J.; MOTULSKY, A. G.; FURLONG, C. E. Serum Paraoxonase and its influence on paraoxon and chlorpyrifos-oxon toxicity in rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 103, p. 66-76, 1990.

DALLE-DONNE, I.; ALDINI, G.; CARINI, M.; COLOMBO, R.; ROSSI, R.; MILZANI, A. Protein carbonylation, cellular dysfunction, and disease progression. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 10, n. 2, p. 389-406, 2006.

DALLE-DONNE, I.; GIUSTARINI, D.; COLOMBO, R.; ROSSI, R.; MILZANI, A. Protein carbonylation in human diseases. **Trends in Molecular Medicine**, v. 9, n. 4, P. 169 - 176, 2003.

DAOUD, A. K.; TAYYAR, M. A.; FOUHA, I. M., HARFEIL, N. A. Effects of diabetes versus *in vitro* hyperglycemia on select immune cell functions. **Journal of Immunotoxicology**, v. 6, p. 36–41, 2009.

DAVÌ, G.; FALCO, A.; PATRONO, C. Lipid Peroxidation in Diabetes Mellitus. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 7, n. 1 & 2, p. 256 – 268, 2005.

DAVIES, M. J.; DAVIES, M. J.; GAGLIARDINO, J. J.; GRAY, L. J.; KHUNTI, K.; MOHAN, V.; HUGHES, R. Real-world factors affecting adherence to insulin therapy in patients with Type 1 or Type 2 diabetes mellitus: a systematic review. **Diabetic Medicine**, v. 30, p. 512–524, 2013.

DEGENHARDT, T. P.; ALDERSON, N. L; ARRINGTON, D. D.; BEATTIE, R. J.; BASGEN, J. M; STEFFES, M. W.; THORPE, S. R.; BAYNES, J. W. Pyridoxamine inhibits early renal disease and dyslipidemia in the streptozotocin-diabetic rat. **Kidney International**, v. 61, p. 939–950, 2002.

DENEKE, S. M.; FANBURG, B. L. Regulation of cellular glutathione. **American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology**, v. 257, n. 4, p. 163-173, 1989.

DORCELY, B.; KATZ, K.; JAGANNATHAN, R.; CHIANG, S. S.; OLUWADARE, B.; GOLDBERG, I. J.; BERGMAN, M. Novel biomarkers for prediabetes, diabetes, and associated complications. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, v. 10, p. 345–361, 2017.

DU, Y.; SMITH, M. A.; MILLER, C. M.; KERN, T. S. Diabetes-induced nitrate stress in the retina, and correction by aminoguanidine. **Journal of Neurochemistry**, v. 80, p. 771 – 779, 2002.

DUDHGAONKAR, S. P.; TANDAN, S. K.; KUMAR, D.; NAIK, A. K.; RAVIPRAKASH, V. Ameliorative effect of combined administration of inducible nitric oxide synthase inhibitor with cyclooxygenase-2 inhibitors in neuropathic pain in rats. **European Journal of Pain**, v. 11, p. 528–534, 2007.

EDASHIGE, K., WATANABE, Y., SATO, E. F., TAKEHARA, Y., UTSUMI, K. Reversible priming and protein-tyrosyl phosphorylation in human peripheral neutrophils under hypotonic conditions. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 302, p. 343–347, 1993.

EKICI, K.; TEMELLI, O.; PARLAKPINAR, H.; SAMDANCI, E.; POLAT, A.; BEYTUR, A.; TANBEK, K.; EKICI, C.; DURSUN, I. H. Beneficial effects of aminoguanidine on radiotherapy-induced kidney and testis injury. **First International Journal of Andrology**, 2015.

EL-BENNA J; DANG P. M.; GOUGEROT-POCIDALO M. A. Priming of the neutrophil NADPH oxidase activation: role of p47phox phosphorylation and NOX2 mobilization to the plasma membrane. **Semin Immunopathol**, v. 30, p. 279–289, 2008.

EL-BENNA, J.; HURTADO-NEDELEC, M.; MARZAIOLI, V.; MARIE, J-C.; GOUGEROT-POCIDALO, M. A.; DANG, P. M. Priming of the neutrophil respiratory burst: role in host defense and inflammation. **Immunological Reviews**, v. 273, n.1, p. 180-193, 2016.

EMEL'YANOV, V. V. Glycation, antiglycation, and deglycation: their role in aging mechanisms and geroprotective effects (literature review). **Advances in Gerontology**, v. 7, n. 1, p. 1–9, 2017.

ENGELLEN, L.; STEHOUWER, C. D. A.; SCHALKWIJK, C. G. Current therapeutic interventions in the glycation pathway: evidence from clinical studies. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 15, n. 8, p. 677-689, 2013.

ESWORTHY, R. S.; CHU, F. F.; GEIGER, P.; GIROTTI, A. W.; DOROSHOW, J. H. Reactivity of plasma glutathione peroxidase with hydroperoxide substrates and glutathione. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 307, n. 1, p. 29-34, 1993.

FAN, C.; WO, X.; DOU, X.; XU, L.; QIAN, Y.; LUO, Y.; YAN, J. Regulation of LDL receptor expression by the effect of curcumin on sterol regulatory element pathway. **Pharmacological Reports**, v. 58, n. 577, 2006.

FARIA, A.; PERSAUD, S. J. Cardiac oxidative stress in diabetes: Mechanisms and therapeutic potential. **Pharmacology & Therapeutics**, v. 172, p. 50-62, 2017.

FELIG, P.; BERGMAN, M. The endocrine Pancreas: diabetes mellitus. **Endocrinology and Metabolism**, 3 ed. New York: McGraw-Hill. cap 19, p. 1107-1250, 1995.

FERREIRA, A. L. A.; MATSUBARA, L. S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. **Revista da associação médica brasileira**, v.43, n.1, p. 61-68, 1997.

FERREIRA, C. S.; ARAÚJO, T. H.; ÂNGELO, M. L.; PENNACCHI, P. C., OKADA, S. S.; PAULA, F. B. A; MIGLIORINI, S.; RODRIGUES, M. R. Neutrophil dysfunction induced by hyperglycemia: modulation of myeloperoxidase activity. **Cell biochemistry and function**, 2012.

FERREIRA, C. S.; PENNACCHI, P. C.; ARAÚJO, T. H.; TANIWAKI, N. N.; PAULA, F. B. A.; DUARTE, S. M. S.; RODRIGUES, M. R. Aminoguanidine treatment increased NOX2 response in diabetic rats: Improved phagocytosis and killing of *Candida albicans* by neutrophils. **European Journal of Pharmacology**, v. 772, p. 83–91, 2016.

FERRETTI, G.; BACCHETTI, T.; MARCHIONNI, C.; CALDARELLI, L.; CURATOLA, G. Effect of glycation of high density lipoproteins on their physicochemical properties and on paraoxonase activity. **Acta Diabetologica**, v. 38, n. 4, p. 163–169, 2001.

FOOTE, E. F.; LOOK, Z. M.; GILES, P.; KEANE, W. F.; HALSTENSON, C. E. The Pharmacokinetics of Aminoguanidine in End-Stage Renal Disease Patients on Hemodialysis. **American Journal of Kidney Diseases**, v. 25, n. 3, p. 420-425, 1995.

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

FORBES, J. M.; COUGHLAN, M. T.; COOPER, M. E. Oxidative Stress as a Major Culprit in Kidney Disease in Diabetes. **Diabetes**, v. 57, p. 1446 – 1454, 2008.

FORBES, J. M.; FOTHERINGHAM, A. K. Vascular complications in diabetes: old messages, new thoughts. **Diabetologia**, 2017.

FREEDMAN, B. I.; WUERTH, J. P.; CARTWRIGHT, K.; BAIN, R. P.; DIPPE, S.; HERSHON, K.; MOORADIAN, A. D.; SPINOWITZ, B. S. Design and Baseline Characteristics for the Aminoguanidine Clinical Trial in Overt Type 2 Diabetic Nephropathy (ACTION II). **Controlled Clinical Trials**, v. 20, p. 493–510, 1999.

FUJIMOTO, M.; SHIMIZU, N.; KUNII, K.; MARTYN, J. A.; UEKI, K.; KANEKI, M. A role for iNOS in fasting hyperglycemia and impaired insulin signaling in the liver of obese diabetic mice. **Diabetes**, v. 54, p. 1340-8, 2005.

FUJIWARA, H.; HOSOKAWA, M.; ZHOU, X.; FUJIMOTO, S.; FUKUDA, K.; TOYODA, K.; NISHI, Y.; FUJITA, Y.; YAMADA, K.; YAMADA, Y.; SEINO, Y.; INAGAKIA, N. Curcumin inhibits glucose production in isolated mice hepatocytes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, v. 80, n. 2, p. 185-91, 2008.

GAHRUIE, H. H, Eskandari MH, Mesbahi G, Hanifpour MA. Scientific and technical aspects of yogurt fortification: A review. **Food Sci Human Wellness**, v. 4, p. 1-8, 2015.

GAO, L.; HU, Y.; LI, J. Pigment epithelium-derived factor protects human glomerular mesangial cells from diabetes via NOXO1-iNOS suppression. **Molecular Medicine Reports**, v. 16, n. 5, p. 7855-7863, 2017.

GHOSH, S.; BANERJEE, S.; SIL, P. C. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. **Food and Chemical Toxicology**, v. 83, p. 111 - 124, 2015.

GHOSH, S.; BHATTACHARYYA, S.; RASHID, K.; SIL, P. C. Curcumin protects rat liver from streptozotocin-induced diabetic pathophysiology by counteracting reactive oxygen species and inhibiting the activation of p53 and MAPKs mediated stress response pathways. **Toxicology Reports**, v. 2, p. 365–376, 2015.

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

GIUSTARINI, D.; ROSSI, R.; MILZANI, A.; DALLE-DONNE, I. Nitrite and Nitrate Measurement by Griess Reagent in Human Plasma: Evaluation of Interferences and Standardization. **Methods in Enzymology**, v. 440, p. 361-380, 2008.

GIARDINO, I.; FARD, A. K.; HATCHELL, D. L.; BROWNLEE, M. et al. Aminoguanidine inhibits reactive oxygen species formation, lipid peroxidation, and oxidant-induced apoptosis. **Diabetes**, New York, v. 47, pt. 7, p. 1114-1120, 1998.

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

GOLDBERG, I. J. Clinical review 124: Diabetic dyslipidemia: causes and consequences. **The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 86, p. 965-971, 2001.

GONZALEZ, A. M. N.; GUTIERREZ, R. M. P.; COTERA, L. B. F. Antidiabetic activity of piper *Auratum* leaves in streptozotocin-induced diabetic rat, beneficial effect on advanced glycation endproduct. **Chinese Journal of Integrative Medicine**, 2014

GOWTHAMARAJAN, K.; KARRI, V. V. S. R.; MN, S. K.; MALAYANDI, R. Multiple Biological Actions of Curcumin in the Management of Diabetic Foot Ulcer Complications: A Systematic Review. **Tropical Medicine and Surgery**, v. 3, p. 1 – 6, 2015.

GUGLIUCCI, A. “Blinding” of AMP-dependent kinase by methylglyoxal: A mechanism that allows perpetuation of hepatic insulin resistance? **Medical Hypotheses**, v. 73, p. 921–924, 2009.

GUGLIUCCI, A. Fructose surges damage hepatic adenosyl-monophosphate-dependent kinase and lead to increased lipogenesis and hepatic insulin resistance. **Medical Hypotheses**, v. 93, p. 87–92, 2016.

GÜL, M.; EMRE, S.; ESXREFO, M.; VARD, N. Protective effects of melatonin and aminoguanidine on the cornea in streptozotocin-induced diabetic rats. **Cornea**, v. 27, n. 7, 2008.

GUNTON, J. E.; DELHANTY, P. J., TAKAHASHI, S., BAXTER, R. C. Metformin rapidly increases insulin receptor activation in human liver and signals preferentially through insulin-receptor substrate-2. **The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism**, v. 88, n.3, p. 1323-1332, 2003.

GUSTKE, C. J.; Stein, S. H.; Hart, T. C. et al. HLA-DR alleles are associated with IDDM, but not with impaired neutrophil chemotaxis in IDDM. **Journal of Dental Research**, v. 77, n. 7, p. 1497–1503, 1998.

GUTIERRES, V. O.; ASSIS, R. P.; ARCARO, C. A.; OLIVEIRA, J. O.; LIMA, T. F. O.; BERETTA, A. L. R. Z.; COSTA, P. I.; BAVIERA, A. M; BRUNETTI, I. L. Curcumin improves the effect of a reduced insulin dose on glycemic control and oxidative stress in streptozotocin-diabetic rats. **Phytotherapy Research**, v. 33, n.4, p. 976-988, 2019.

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

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

HAFEZ, H. M.; IBRAHIM, M. A.; IBRAHIM, S. A.; AMIN, E. F.; GOMA, W.; ABDELRAHMAN, A. M. Potential protective effect of etanercept and aminoguanidine in methotrexate-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity in rats. **European Journal of Pharmacology**, 2015.

HAFIZUR, R. M.; MOMIN, S.; FATIMA, N. Prevention of advanced glycation endproducts formation in diabetic rats through beta-cell modulation by *Aegle marmelos*. **BMC Complementary and Alternative Medicine**, v.17, n. 227, p. 1-15, 2017.

HALLETT, M. B.; LLOYDS, D. L. Neutrophil priming: the cellular signals that say 'amber' but not 'green'. **Immunol Today**, v. 16, p. 264–268, 1995.

HAMPTON, M. B.; KETTLE, A. J.; WINTERBOURN, C. C. Inside the neutrophil phagosome: oxidants, myeloperoxidase, and bacterial killing. **Blood**, v. 92, p. 3007–3017, 1998.

HARISA, G. E. D. Effects of aminoguanidine on some biochemical changes associated with acetic acid -induced ulcerative colitis in rats. **Journal of Pharmaceutical Science and Technology**, v. 2, n. 2, p. 139-147, 2010.

HATANAKA, E.; MONTEAGUDO, P. T.; MARROCOS, M. S. M.; CAMPA, A. Neutrophils and monocytes as potentially important sources of proinflammatory cytokines in diabetes. **Clinical and Experimental Immunology**, v. 146, p. 443–447, 2006.

HEDRICK, C. C.; THORPE, S. R.; FU, M. X.; HARPER, C. M.; YOO, J.; KIM, S. M.; WONG, H.; PETERS, A. J. Glycation impairs high-density lipoprotein function. **Diabetologia**, v. 43, p. 312 – 320, 2000.

HOLLENBACH, M. The role of glyoxalase-I (Glo-I), advanced glycation endproducts (AGEs), and their receptor (RAGE) in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma (HCC). **International journal of molecular sciences**, v. 18, n. 11, p. 2466, 2017.

HOTAMISLIGIL, G. S. Foundations of Immunometabolism and Implications for Metabolic Health and Disease. **Immunity**, v. 47, p. 406-420, 2017.

HOTAMISLIGIL, G. S. Inflammation and metabolic disorders. **Nature**, London, v. 444, pt. 7121, p. 860-867, 2006.

HU, H.; JIANG, H.; REN, H.; HU, X.; WANG, X.; HAN, C. AGEs and chronic subclinical inflammation in diabetes: disorders of immune system. **Diabetes/Metabolism Research and Reviews**, v. 31, p. 127–137, 2015.

HU, T. Y. Trapping of Methylglyoxal by Curcumin in Cell-Free Systems and in Human Umbilical Vein Endothelial Cells. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 60, p. 8190–8196, 2012.

HUANG, Y.; LIN, S.; ZHOU, J. Gene expression of receptor for advanced glycosylation end products and its modulation by aminoguanidine in diabetic kidney tissue. **Chinese Medical Journal**, v. 111, n.8, p.698-704, 1998.

HUSSEIN, H. K.; ABU-ZINADAH, O. A. Antioxidant effect of curcumin extract in induced diabetic wister rats. **International Journal of Zoological Research**, p. 1 -11, 2010.

IHM S.; YOO, H. J.; PARK, S. W.; IHM, J. Effect of aminoguanidine on lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats. **Metabolism**, v. 48, n. 9, p. 1141-1145, 1999.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF Diabetes Atlas**. 9ª edição, 2019. Disponível em: <<http://www.diabetesatlas.org>>. Acesso em 09 de novembro de 2019.

ITAKURA, M.; YOSHIKAWA, H.; BANNAI, C.; KATO, M.; KUNIKA, K.; KAWAKAMI, Y.; YAMAOKA, T.; YAMASHITA, K. Aminoguanidine decreases urinary albumin and high-molecular-weight proteins in diabetic rats. **Life Sciences**, v. 49; n. 12; p. 889-897, 1991.

JAGDALE, A. D.; BAVKAR, L. N.; MORE, T. A.; JOGLEKAR, M. M.; ARVINDEKAR, A. U. Strong inhibition of the polyol pathway diverts glucose flux to protein glycation leading to rapid establishment of secondary complications in diabetes mellitus. **Journal of Diabetes and its Complications**, v. 30, n. 3, p. 398-405, 2016.

JAIN, S. K. Elevated Lipid Peroxidation Levels in Red Blood Cells of Streptozotocin-Treated Diabetic Rats. **Metabolism**, v. 39, n. 9, p. 971-975, 1990.

JANČINOVÁ, V.; PEREČKO, T.; NOSÁL, R.; KOŠTÁLOVÁ, D.; BAUEROVÁ, K.; DRÁBIKOVÁ, K. Decreased activity of neutrophils in the presence of diferuloylmethane (curcumin) involves protein kinase C inhibition. **European Journal of Pharmacology**, v. 612, p. 161–166, 2009.

JANG, E. M.; CHOI, M. S.; JUNG, U. J.; KIM, M. J.; KIM, H. J.; JEON, S. M. Beneficial effects of curcumin on hyperlipidemia and insulin resistance in high-fat-fed hamsters. **Metabolism**, v. 57, p. 1576-1583, 2008.

JENKINS, A. J.; KLEIN, R. L.; ZHENG, D. Paraoxonase genotype (192 Gln-Arg) and serum paraoxonase-arylesterase activity: relationship with Type I diabetes and nephropathy. **Diabete**, p. 643, 2000.

JEENGER, M. K.; SHRIVASTAVA, S.; YERRA, V. G.; NAIDU, V. G. M.; RAMAKRISHNA, S.; KUMAR, A. Curcumin: A pleiotropic phytonutrient in diabetic complications. **Nutrition**, v. 31, n. 2, p. 276-282, 2015.

JHA, J. C.; BANAL, C.; CHOW, B. S. M.; COOPER, M. E.; JANDELEIT-DAHM, K. Diabetes and Kidney Disease: Role of Oxidative Stress. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 25, n. 12, 2016.

JOGLEKAR, M. M.; PANASKAR, S. N.; ARVINDEKAR, A. U. Inhibition of advanced glycation end product formation by cymene – A common food constituent. **Journal of Functional Foods**, v. 6, p. 107–115, 2014.

JOGLEKARA, M. M.; BAVKARA, L. N.; SISTLAB, S.; ARVINDEKARA, A. U. Effective inhibition of protein glycation by combinatorial usage of limonene and aminoguanidine through differential and synergistic mechanisms. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 563–569, 2017.

JONES, O. T.; HANCOCK J. T. Assays of plasma membrane NADPH oxidase. **Methods in Enzymology**, New York, v. 233, p. 222-229, 1994.

KABEYA, L. M. et al. 7-Hydroxycoumarin modulates the oxidative metabolism, degranulation and microbial killing of human neutrophils. **Chemico-Biological Interactions**, v. 206, p. 63-75, 2013.

KARALLIEDDE, J.; GNUDI, L. Future strategies to prevent renal microvascular disease complications in diabetes. **Future Cardiology**, v. 4, n. 1, p. 77-83, 2008.

KARIMA, M.; KANTARCI, A.; OHIRA, T.; HASTURK, H.; JONES, V. L.; NAM, B-H.; MALABANAN A.; TRACKMAN, P. C.; BADWEY, J. A.; VAN DYKE, T. E. Enhanced superoxide release and elevated protein kinase C activity in neutrophils from diabetic patients: association with periodontitis. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 78, n. 4, p. 862–870, 2005.

KARLI, R.; ALACAM, H.; DURAN, L.; ALICI, O.; KATI, C.; KARLI, A.; GUZEL, A. Analysis of the protective biochemical and pathologic effects of aminoguanidine on an experimental aspiration pneumonitis model induced by bile acids. **Current Therapeutic Research**, v. 73, n. 6, p. 208-219, 2012.

KAUL, K.; APOSTOLOPOULOU, M.; RODEN, M. Insulin resistance in type 1 diabetes mellitus. **Metabolism clinical and experimental**, v. 64, p. 1629 – 1639, 2015.

KAUSHIK, S.; KAUR, J. Chronic cold exposure affects the antioxidant defense system in various rat tissues. **Clinica Chimica Acta**, v. 333, p. 69–77, 2003.

KETTLE, A. J.; GEDYE, C. A.; HAMPTON, M. B.; WINTERBOURN, C. C. Inhibition of myeloperoxidase by benzoic acid hydrazides. **Biochemical Journal**, v. 308, p. 559-563, 1995.

KETTLE, A. J.; WINTERBOURN, C. C. Assays for the chlorination activity of myeloperoxidase **Methods in Enzymology**, v. 233, p. 502-512, 1994.

KIERDORF, K.; FRITZ, G. RAGE regulation and signaling in inflammation and beyond. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 94, p. 55-68, 2013.

KIM, J. H.; PARK, J. M.; KIM, E.; LEE, J. O.; LEE, S. K.; JUNG, J. H.; YOU, G. Y.; PARK, S. H.; SUH, P.; KIM, H. S. Curcumin stimulates glucose uptake through AMPK-p38 MAPK pathways in L6 myotube cells. **Journal of Cellular Physiology**, v. 223, n. 3, p. 771-8, 2010.

KISIC, B.; MIRIC, D.; DRAGOJEVIC, I.; RASIC, J.; POPOVIC, L. Role of Myeloperoxidase in Patients with Chronic Kidney Disease. **Oxidative Medicine and Cellular Longevity**, v. 2016, p. 1-10, 2016.

KLEBANOFF, S. J.; KETTLE, A. J.; ROSEN, H.; WINTERBOURN, C. C.; NAUSEEF, W. M. Myeloperoxidase: a front-line defender against phagocytosed microorganisms. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 93, p. 185-198, 2013.

KOHN, H. I.; LIVERSEDGE, M. On a new aerobic metabolite whose production by brain is inhibited by apomorphine, emetine, ergotamine, epinephrine, and menadione. **Journal Pharmacology Experiment Ther**, v.82, p.292-300, 1944.

KOMERS, R.; ANDERSON, S. Paradoxes of nitric oxide in the diabetic kidney. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 284, p. F1121–F1137, 2003.

KORDONOURI, O.; JAMES, R. W.; BENNETTS, B. Modulation by blood glucose levels of activity and concentration of paraoxonase in young patients with type 1 diabetes mellitus. **Metabolism**, p. 657–660, 2001.

KORUK, M.; TAYSI, S.; SAVAS, M. C.; YILMAZ, O.; AKCAY, F.; KARAKOK, M. Oxidative stress and enzymatic antioxidante status in patients with nonalcoholic steatohepatitis. **Annals of Clinical & Laboratory Science**, v. 34, n.1, p. 57-62, 2004

KOYE, D. N.; SHAW, J. E.; REID, C. M.; ATKINS, R. C.; REUTENS, A. T.; MAGLIANO, D. J. Systematic Review or Meta-analysis Incidence of chronic kidney disease among people with diabetes: systematic review of observational studies. **Systematic Review or Meta-analysis**, p. 388 – 901, 2017.

KUWABARA, W. M. T.; CURI, R.; ALBA-LOUREIRO, T. C. Autophagy is impaired in neutrophils from streptozotocin-induced diabetic rats. **Frontiers in Immunology**, v. 8, 2017.

LAAKSO, M.; KUUSISTO, J. Insulin resistance and hyperglycaemia in cardiovascular disease development. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 10, p. 293–302, 2014.

LAWSON, S.; WARD, D. T.; CONNER, C.; GALLAGHER, C.; TSOKOS, G.; SHEA-DONOHUE, T. Diabetic hyperglycemia: a facilitating factor in systemic capillary leak. **Journal of Surgical Research**, v. 105, p. 95–101, 2002.

LETCHFORD, K.; LIGGINS, R.; BURT, H. Solubilization of hydrophobic drugs by methoxy poly (ethylene glycol)-block-polycaprolactone diblock copolymer micelles: Theoretical and experimental data and correlations. **Journal Pharmaceutical Science**, v. 97, p. 1179-90, 2007.

LEVINE, R.L.; WILLIAMS, J.A.; STADTMAN, E.R.; SHACTER, E. Carbonyl assays for determination of oxidatively modified proteins. **Methods in Enzymology**, v.233, p.346-357, 1994.

LEVITAN, I.; VOLKOV, S.; SUBBAIAH, P. V. Oxidized LDL: Diversity, patterns of recognition, and pathophysiology. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 13, p. 39–75, 2010.

LEVY, D.; REICHERT, C. O.; BYDLOWSKI, S. P. Paraoxonases Activities and Polymorphisms in Elderly and Old-Age Diseases: An Overview. **Antioxidants**, v. 8, n. 118, p. 1-24, 2019.

LI, S.; TAN, H.; WANG, N.; ZHANG, Z.; LAO, L.; WONG, C.; FENG, Y. The role of oxidative stress and antioxidants in liver diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 16, p. 26087–26124, 2015.

LI, Y.; ZHANG, S.; GENG, J. X.; HU, X. Y. Curcumin inhibits human non-small cell lung cancer A549 cell proliferation through regulation of Bcl-2/Bax and cytochrome C. **Asian Pacific Journal of Cancer Prevention**, v. 14, p. 4599 – 4602, 2013.

LIN, J.; TANG, Y.; KANG, O.; FENG, Y.; CHEN, A. Curcumin eliminates the inhibitory effect of advanced glycation end-products (AGEs) on gene expression of AGE receptor-1 in hepatic stellate cells in vitro. **Laboratory Investigation**, v. 92, p. 827–841, 2012b.

LIN, J.; TANG, Y.; KANG, O.; FENG, Y.; CHEN, A. Curcumin inhibits gene expression of receptor for advanced glycation endproducts (RAGE) in hepatic stellate cells in vitro by elevating PPAR $\gamma$  activity and attenuating oxidative stress. **British Journal of Pharmacology**, v. 166, p. 2212–2227, 2012a.

LIU, H.; WANG, C.; QI, X.; ZOU, J.; SUN, Z. Antiglycation and antioxidant activities of mogroside extract from *Siraitia grosvenorii* (Swingle) fruits. **Journal of Food Science and Technology**, v. 55, n. 5, p. 1880–1888, 2018.

LIU, L.; SHANG, Y.; LI, M.; HAN, X.; WANG, J.; WANG, J. Curcumin ameliorates asthmatic airway inflammation by activating nuclear factor-E2-related factor 2/haem oxygenase (HO)-1 signalling pathway. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 42, n. 5, p. 520 – 529, 2015.

LIU, W.; ZHAI, Y.; HENG, X.; CHE, F. Y.; CHEN, W.; SUN, D.; ZHAI, G. Oral Bioavailability of Curcumin: Problems and Advancements. **Journal of Drug Targeting**, v. 24, n. 8, p.694-702, 2016.

LOWRY, O. H.; ROSEBROUGH, N.J.; FARR, A.L.; RANDALL, R.J. Protein measurement with the Folin phenol reagent. **The Journal of Biological Chemistry**, v.193, p.265-275, 1951.

LUO, D.; FAN, Y.; XU, X. The effects of aminoguanidine on retinopathy in STZ-induced diabetic rats. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, p. 4386–4390, 2012.

LV, G.; QIU, Z.; YE, H.; MA, C.; CHANG, S.; LIN, Z. The Protective Effect and MoA of Panax notoginseng Saponins Combined with Aminoguanidine on Kidney in Diabetic Nephropathy Rats. **Records of Natural Products**, p. 202 – 210, 2018.

MACHADO, A. P.; PINTO, R. S.; MOYSÉS, Z. P.; NAKANDAKARE, E. R., QUINTÃO, E. C. R., PASSARELLI, M. Aminoguanidine and metformin prevent the reduced rate of HDL-mediated cell cholesterol efflux induced by formation of advanced glycation end products. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, v. 38, p. 392–403, 2006.

MACKNESS, B.; DURRINGTON, P. N.; MACKNESS, M. I. The paraoxonase gene family and coronary heart disease. **Current Opinion in Lipidology**, p. 357–362, 2002.

MACKNESS, M. I.; MACKNESS, B.; DURRINGTON, P. N.; CONNELLY, P. W.; HEGELE, R. A. Paraoxonase: biochemistry, genetics and relationship to plasma lipoproteins. **Current Opinion in Lipidology**, v. 7, p. 69-76, 1996.

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

MAGDALENO, F.; BLAJSZCZAK, C. C.; CHARLES-NIÑO, C. L.; GUADRÓN-LLANOS, A. M.; VÁZQUEZ-ÁLVAREZ, A. O.; MIRANDA-DÍAZ, A. G.; NIETO, N.; ISLAS-CARBAJAL, M. C.; RINCÓN-SÁNCHEZ, A. R. Aminoguanidine reduces diabetes-associated cardiac fibrosis. **Experimental and Therapeutic Medicine**, v. 18, p. 3125-3138, 2019.

MAITI, K.; MUKHERJEE, K.; GANTAIT, A.; SAHA, B. P.; MUKHERJEE, P. K. Curcumin–phospholipid complex: Preparation, therapeutic evaluation and pharmacokinetic study in rats. **International Journal Pharmaceutics**, v. 330, n. 1-2, p. 155-163, 2007.

MARIN, D. P.; BOLIN, A. P.; MACEDO, R. C. S.; SAMPAIO, S. C.; OTTON, R. ROS production in neutrophils from alloxan-induced diabetic rats treated in vivo with astaxanthin. **International Immunopharmacology**, v. 11, p. 103–109, 2011.

MARNETT, L. J. Lipid peroxidation—DNA damage by malondialdehyde. **Mutation Research**, v. 424, p. 83–95, 1999.

MASTORIKOU, M.; MACKNESS, B.; LIU, Y.; MACKNESS, M. Glycation of paraoxonase-1 inhibits its activity and impairs the ability of high-density lipoprotein to metabolize membrane lipid hydroperoxides. **Diabetic Medicine**, v. 25, p. 1049–1055, 2008.

MAZOR, R.; SHURTZ-SWIRSKI, R.; FARAH, R.; KRISTAL, B.; SHAPIRO, G.; DORLECHTER, F.; COHEN-MAZOR, M.; MEILIN, E.; TAMARA, S.; SELA, S. Primed polymorphonuclear leukocytes constitute a possible link between inflammation and oxidative stress in hyperlipidemic patients. **Atherosclerosis**, v.197, p. 937–943, 2008.

MAZUR A. An enzyme in animal tissues capable of hydrolysing the phosphorus-fluorine bond of alkyl fluorophosphates. **Journal of Biological Chemistry**, v.164, p. 271–289, 1946.

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

MEISTER, A.; ANDERSON, M. E. Glutathione. **Annual review of biochemistry**, v. 52, n. 1, p. 711-760, 1983.

METZLER, M.; PFEIFFER, E.; SCHULZ, S. I.; DEMPE, J. S. Curcumin Uptake and Metabolism. **BioFactors**, v. 39, n. 1, p.14–20, 2013.

MIRANDA, K. M.; ESPEY, M. G.; WINK, D. O. A Rapid, Simple Spectrophotometric Method for Simultaneous Detection of Nitrate and Nitrite. **NITRIC OXIDE: Biology and Chemistry**, v. 5, n. 1, p. 62-71, 2001.

MIRZAEIA, H.; SHAKERIB, A.; RASHIDIE, B.; JALILIA, A.; BANIKAZEMIC, Z.; SAHEBKARD, A. Phytosomal curcumin: A review of pharmacokinetic, experimental and clinical studies. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 85, 102–112, 2017.

MOORTHI, C; KATHIRESAN, K. Curcumin–Piperine/Curcumin–Quercetin/Curcumin–Silibinin dual drug-loaded nanoparticulate combination therapy: A novel approach to target and treat multidrug-resistant cancers. **Journal of Medical Hypotheses and Ideas**, v.7, p. 15-20, 2013.

MOHAMED, A. M.; EL-SHARKAWY, F. Z.; AHMED, S. A. A.; AZIZ, W. M.; BADARY, O. A. Glycemic control and therapeutic effect of *Nigella sativa* and *Curcuma longa* on rats with streptozotocin-induced diabetic hepatopathy. **Journal of Pharmacology and Toxicology**, v. 4, n. 2, p. 45-57, 2009.

MOHAMED, J.; NAFIZAH, N. A. H.; ZARIYANTEY A. H.; BUDIN S. B.; Mechanisms of Diabetes-Induced Liver Damage The role of oxidative stress and inflammation. **Sultan Qaboos University Med**, v. 16, p. 132 – 141, 2016.

MOHAMMED, A.; ISLAM, M. S. Spice-Derived Bioactive Ingredients: Potential Agents or Food Adjuvant in the Management of Diabetes Mellitus. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, 2018.

MORI, D. M.; BAVIERA, A. M.; RAMALHO, L. T. O; VENDRAMINI, R. C.; BRUNETTI, I. L.; PEPATO, M. T. Temporal response pattern of biochemical analytes in experimental Diabetes. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 38, p. 183-191, 2003.

MORRIS, S.M. JR; BILLIAR, T. R. New insights into the regulation of inducible nitric oxide synthesis. **American Journal of Physiology**, v. 266, n. 6, p. 29-39, 1994.

MORSY, M. A., IBRAHIM, S. A., AMIN, E. F., KAMEL, M. Y., RIFAAI, R. A., HASSAN, M. K. Curcumin ameliorates methotrexate-induced nephrotoxicity in rats. **Advances in Pharmacological Sciences**. v. 9, 2013.

NA, L. X.; ZHANG, Y. L.; LI, Y; LIU, L. Y.; LI, R.; KONG, T.; SUN, C. H. Curcumin improves insulin resistance in skeletal muscle of rats. **Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases**, v. 21, n. 7, p. 526-533, 2011.

NAGAREDDY, P. R.; SOLIMAN, H.; LIN, G.; RAJPUT, P. S.; KUMAR, U.; MCNEILL, J. H.; MACLEOD, K. M. Selective inhibition of protein kinase C beta(2) attenuates inducible

nitric oxide synthasemediated cardiovascular abnormalities in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes**, v.58, p. 2355-64, 2009.

NAJAFIAN, M. Effect of Curcumin on Metabolism of Lipids in Streptozotocin induced Diabetic and normal Rats. **Advances in Environmental Biology**, v. 8, n. 12, p. 170-177, 2014.

NANNIPIERI, M.; GONZALES, C.; BALDI, S.; POSADAS, R.; WILLIAMS, K.; HAFFNER, S. M. Liver enzymes, the metabolic syndrome, and incident diabetes: The Mexico City diabetes study. **Diabetes Care**, v. 28, p. 1757–162, 2005.

NASRI, H.; ABEDI-GHESHLAGHI. Z.; RAFIEIAN-KOPAEI. M. Curcumin and kidney protection; current findings and new Concepts. **Acta Persica Pathophysiologicala**, v. 1, p. 1 – 5, 2016.

NATHAN, D. M.; BUSE, J. B.; DAVIDSON, M. B.; FERRANNINI, E.; HOLMAN, R. R.; SHERWIN, R.; ZINMAN, B.; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION; EUROPEAN ASSOCIATION FOR STUDY OF DIABETES. Medical management of hyperglycemia in type 2 diabetes: a consensus algorithm for the initiation and adjustment of therapy: a consensus statement of the American Diabetes Association and the European Association for the Study of Diabetes. **Diabetes care**, v. 32, n. 1, p. 193-203, 2009.

NIEDOWICZ, D. M.; DALEKE, D. L. The role of oxidative stress in diabetic complications. **Cell biochemistry and biophysics**, v. 43, n. 2, p. 289-330, 2005.

NOWOTNY, K.; JUNG, T.; HÖHN, A.; WEBER, D.; GRUNE, T. Advanced glycation end products and oxidative stress in type 2 diabetes mellitus. **Biomolecules**, v. 5, n. 1, p. 194-222, 2015.

OAK, J.; YOUN, J.; CAI, H. Aminoguanidine inhibits aortic hydrogen peroxide production, VSMC NOX activity and hypercontractility in diabetic mice. **Cardiovascular Diabetology**, v. 8, n. 65, 2009.

OMORI, K.; OHIRA, T.; UCHIDA, Y.; AYILAVARAPU, S.; BATISTA, E. L., JR.; YAGI, M.; IWATA, T.; LIU, H.; HASTURK, H.; KANTARCI, A.; VAN DYKE, T. E. Priming of neutrophil oxidative burst in diabetes requires preassembly of the NADPH oxidase. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 84, p. 292–301, 2008.

ORMAN, D.; VARDI, N.; ATES, B.; TASLIDERE, E.; ELBEC, H. Aminoguanidine mitigates apoptosis, testicular seminiferous tubulesdamage, and oxidative stress in streptozotocin-induced diabetic rats. **Tissue and Cell**, v. 47, p. 284–290, 2015.

OTT, C.; JACOBS, K.; HAUCKE, E.; SANTOS, A. N.; GRUNE, T.; SIMM, A. Role of advanced glycation end products in cellular signaling. **Redox Biology**, v. 2, p. 411–429, 2014.

PAN, M. H.; HUANG, T. M.; LIN, J. K. Biotransformation of curcumin through reduction and glucuronidation in mice. **Drug Metabolism and Disposition**, v. 27, n. 4, p. 486–494, 1999.

PANAGIOTOPOULOS, S.; O'BRIEN, R. C.; BUCALA, R.; COOPER, M. E.; JERUMS, G. Aminoguanidine has an anti-atherogenic effect in the cholesterol-fed rabbit. **Atherosclerosis**, v. 136, 125–131, 1998.

PANAHI, Y.; AHMADI, Y.; TEYMOURI, M.; JOHNSTON, T. P.; SAHEBKAR, A. Curcumin as a potential candidate for treating hyperlipidemia: a review of cellular and metabolic mechanisms. **Journal of Cellular Physiology**, v. 233, p. 141-152, 2018.

PARK, D. W.; JIANG, S.; TADIE, J. M.; STIGLER, W. S.; GAO, Y.; DESHANE, J.; ABRAHAM, E.; ZMIJEWSKI, J. W. Activation of AMPK Enhances Neutrophil Chemotaxis and Bacterial Killing. **Molecular Medicine**, v. 19, p. 387-98, 2013.

PASSARELLI, M.; TANG, C.; MCDONALD, T. O.; O'BRIEN, K. D.; GERRITY, R. G.; HEINECKE, J. W.; ORAM, J. F. Advanced glycation end product precursors impair abca1-dependent cholesterol removal from cells. **Diabetes**, v. 54, 2005.

PASUPULATI, A. K.; CHITRA P. S.; REDDY, G. B. Advanced glycation end products mediated cellular and molecular events in the pathology of diabetic nephropathy. **Biomolecular Concepts**, 2016.

PAUTZ, A; ART, J.; HAHN, S.; NOWAG, S.; VOSS, C.; KLEINERT, H. Regulation of the expression of inducible nitric oxide synthase. **Nitric Oxide**, v. 23, n. 2, p. 75-93, 2010.

PETERSON, K.P. et al. What is hemoglobin A1c? An analysis of glycated hemoglobins by electrospray ionization mass spectrometry. **Clinical Chemistry**, v. 44, pt. 9, p. 1951-1958, 1998.

PHILIS-TSIMIKAS, A.; PARTHASARATHY, S.; PICARD, S.; PALINSKI, W.; WITZTUM, J. L. Aminoguanidine has both pro-oxidant and antioxidant activity toward LDL. **Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology**, Dallas, v. 15, pt. 3, p. 367-376, 1995.

PILZ, J.; MEINEKE, I.; GLEITER, C. Measurement of free and bound malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography as the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivative. **Journal of Chromatography**, v. 742, p. 315-325, 2000.

PINKAS, A.; ASCHNER, M. Advanced glycation end-products and their receptors: Related pathologies, recent therapeutic strategies, and a potential model for future neurodegeneration studies. **Chemical research in toxicology**, v. 29, n. 5, p. 707-714, 2016.

PITOCCO, D.; ZACCARDI, F.; STASIO, E. D.; ROMITELLI, F.; SANTINI, S. A.; ZUPPI, C.; GHIRLANDA, G. Oxidative Stress, Nitric Oxide, and Diabetes. **The Review of DIABETIC STUDIES**, v. 7, n. 7, p. 15-25, 2010.

PODREZ, E. A.; ABU-SOUD, H. M.; HAZEN, S. L. Myeloperoxidase-generated oxidants and atherosclerosis, **Free Radical Biology & Medicine**, v. 28, p. 1717–1725, 2000.

POKUPEC, R.; KALAUZ, M.; TURK, N.; TURK, Z. Advanced glycation endproducts in human diabetic and non-diabetic cataractous lenses. **Graefe's Archive for Clinical and Experimental Ophthalmology**, v. 241, p. 378–384, 2003.

POULSEN, M. W.; HEDEGAARD, R. V.; ANDERSEN, J. M.; DE COURTEN, B.; BÜGEL, S.; NIELSEN, J.; SKIBSTED, L. H.; DRAGSTED, L. O. Advanced glycation endproducts in food and their effects on health. **Food and Chemical Toxicology**, v. 60, p. 10-37, 2013.

PRASAD, S.; TYAGI, A. K.; AGGARWAL, B. B. Recent Developments in Delivery, Bioavailability, Absorption and Metabolism of Curcumin: the Golden Pigment from Golden Spice. **Cancer Research and Treatment**, v. 46, n.1, p. 2-18, 2014.

PUNCHARD, N. A. K. E. D. Free Radicals - A Practical Approach. **Oxford University Press**, New York, 1996.

RABBANI, N.; THORNALLEY, P. J. Glyoxalase 1 modulation in obesity and diabetes. **Antioxidants & redox signaling**, v. 30, n. 3, p. 354-374, 2019.

RADENKOVIĆ, M.; STOJANOVIĆ, M.; PROSTRAN, M. Experimental diabetes induced by alloxan and streptozotocin: The current state of the art. **Journal of Pharmacological and Toxicological Methods**, v. 78, p. 13–31, 2016.

RAHBAR, S; NATARAJAN, R.; YERNENI, K.; SCOTT, S.; GONZALES, N.; NADLER, J. L. Evidence that pioglitazone, metformin and pentoxifylline are inhibitors of glycation. **Clinica chimica acta**, v. 301, p. 65-77, 2000.

RAIA, A. K.; JAISWALA, N.; MAURYAA, C. K.; SHARMAA, A.; AHMADA, I.; AHMADA, S.; GUPTAB, A. P.; GAYENB, J. R.; TAMRAKARA, A. K. Fructose-induced AGEs-RAGE signaling in skeletal muscle contributes to impairment of glucose homeostasis. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 71, p. 35–44, 2019.

RAINS, J. L.; JAIN, S. K. Oxidative stress, insulin signaling, and diabetes. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 50, p. 567–575, 2011.

RAJENDRAN, P.; NANDAKUMAR, N.; RENGARAJAN, T.; PALANISWAMI, R.; GNANADHAS, E. N.; LAKSHMINARASIAH, U.; GOPAS, J.; NISHIGAKI, I. Antioxidants and human diseases. **Clinica Chimica Acta**, v. 436, p. 332–347, 2014.

RASHID, K.; SIL, P. C. Curcumin enhances recovery of pancreatic islets from cellular stress induced inflammation and apoptosis in diabetic rats. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 282, p. 297–310, 2015.

RAYNER, B.S.; LOVE, D. T.; HAWKINS, C. L. Comparative reactivity of myeloperoxidase-derived oxidants with mammalian cells. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 71, p. 240-255, 2014.

RAZA, M; AHMAD, M.; GADO, A.; AL-SHABANAH, O. A. A comparison of hepatoprotective activities of aminoguanidine and N-acetylcysteine in rat against the toxic damage induced by azathioprine. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 134, n. 4, p. 451-456, 2003.

REGNELL, S. E.; LERNMARK, Å. Hepatic steatosis in type 1 diabetes. **The Review of Diabetic Studies**, v. 8, p. 454–467, 2011.

RICHTER, R. J.; JARVIK, G. P.; FURLONG, C. E. Determination of paraoxonase 1 status without the use of toxic organophosphate substrates. **Circulation: Genomic and Precision Medicine**, v. 1, n. 2, p. 147-152, 2008.

ROCHETTE, L.; ZELLER, M.; COTTIN, Y.; VERGELY, C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. **Biochimica et Biophysica ACTA**, v. 1840, p. 2709–2729, 2014.

ROSENFELD, G. Método rápido de coloração de esfregaços de sangue: noções práticas sobre corantes pancreáticos e estudo de diversos fatores. **Memórias do Instituto Butantan**, São Paulo, v. 20, p. 315-328, 1947.

ROXO, D. F.; ARCARO, C. A.; GUTIERRES, V. O.; COSTA, M. C.; OLIVEIRA, J. O.; LIMA, T. F. O.; ASSIS, R. P.; BRUNETTI, I. L.; BAVIERA, A. M. Curcumin combined with metformin decreases glycemia and dyslipidemia, and increases paraoxonase activity in diabetic rats. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 11, n. 1, p. 33, 2019.

RUSH, J. W.E; SANDIFORD, S. D. Plasma glutathione peroxidase in healthy young adults: influence of gender and physical activity. **Clinical biochemistry**, v. 36, n. 5, p. 345-351, 2003.

SAINI, R.; SINGH, S. Inducible nitric oxide synthase: An asset to neutrophils. **Journal of Leukocyte Biology**, v.105, p. 49–61, 2019.

SANTEL, T.; PFLUG, G; HEMDAN, N. Y. A.; SCHAFER, A.; HOLLENBACH, M. et al. Curcumin Inhibits Glyoxalase 1—A Possible Link to Its Anti-Inflammatory and Anti-Tumor Activity. **PLOS ONE**, v. 3, n. 10, 2008.

SCHAUR, R. J.; SIEMS, W.; BRESGEN, N.; ECKL, P. M. 4-Hydroxy-nonenal—A Bioactive Lipid Peroxidation Product. **Biomolecules**, v. 5, p. 2247-2337, 2015.

SEBEKOVÁ, K.; KUPCOVÁ, V.; SCHINZEL, R.; HEIDLAND A. Markedly elevated levels of plasma advanced glycation end products in patients with liver cirrhosis: Amelioration by liver transplantation. **Journal of Hepatology**, v. 36, p. 66–71, 2002.

SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H. Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical biochemistry**, v. 25, p. 192-205, 1968.

SELVIN, E.; RAWLINGS, A. M.; LUTSEY, P. L.; MARUTHUR, N.; PANKOW, J. S.; STEFFES, M., CORESH, J. Fructosamine and glycated albumin and the risk of cardiovascular outcomes and death. **Circulation**, 2015.

SHAIKH, J.; ANKOLA, D. D.; BENIWAL, V.; SINGH, D.; KUMAR, M. N. Nanoparticle encapsulation improves oral bioavailability of curcumin by at least 9-fold when compared to curcumin administered with piperine as absorption enhancer. **European Journal Pharmaceutical Science**, v. 37, n. 3-4, p. 223-230, 2009.

SHAMSALDEENA, Y. A; MACKENZIE, L. S.; LIONE, L. A.; BENHAM, C. D. Methylglyoxal, a metabolite increased in diabetes is associated with insulin resistance, vascular dysfunction and neuropathies. **Current Drug Metabolism**, v. 17, p. 359-367, 2016.

SHAO, W.; YU, Z.; CHIANG, Y.; YANG, Y.; CHAI, T.; FOLTZ, W.; LU, H.; FANTUS, G.; JIN, T. Curcumin prevents high fat diet induced insulin resistance and obesity via attenuating lipogenesis in liver and inflammatory pathway in adipocytes. **PLoS One**, v. 7, n. 1, p. e28784, 2012.

SHARMA, S.; KULKARNI, S. K.; CHOPRA, K. Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma Longa*), ameliorates diabetic nephropathy in rats. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, v. 33, p. 940–945, 2006.

SHOBA, G.; JOY, D.; JOSEPH, T.; MAJEED, M.; RAJENDRAN, R.; SRINIVAS, P. S. Influence of piperine on the pharmacokinetics of curcumin in animals and human volunteers. **Planta Medica**, v. 64, n. 4, p. 353–356, 1998.

SHUNMOOGAM, N.; NAIDOO, P.; CHILTON, R. Paraoxonase (PON)-1: a brief overview on genetics, structure, polymorphisms and clinical relevance. **Vascular Health and Risk Management**, v. 14, p. 137–143, 2018.

SINDHU, R. K.; KOO, J. R.; ROBERTS, C. K.; VAZIRI, N. D. Dysregulation of hepatic superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase in diabetes: response to insulin and antioxidant therapies. **Clinical and Experimental Hypertension**, v. 26, p. 43-53, 2004.

SKAMURAUSKAS, J. T.; MCKAY, A. G.; HUNT, J. V. Aminoguanidine and its pro-oxidant effects on an experimental model of protein glycation. **Free Radical Biology and Medicine**, v. 21, n. 6, p. 801-812, 1996.

SLIMAN, S.; EUBANK, T. D.; KOTHA, S. R.; KUPPUSAMY, M. L.; SHERWANI, S. I.; BUTLER, E. S. O. C.; KUPPUSAMY, P.; ROY, S.; MARSH, C. B.; STERN, D. M.; PARINANDI, N. L. et al. Hyperglycemic oxoaldehyde, glyoxal, causes barrier dysfunction, cytoskeletal alterations, and inhibition of angiogenesis in vascular endothelial cells: aminoguanidine protection. **Molecular and Cellular Biochemistry**, The Hague, v. 333, n.1, p. 9-26, 2010.

SOETIKNO, V.; SARI, F. R.; SUKUMARAN, V.; LAKSHMANAN, A. P.; MITO, S.; HARIMA, M.; THANDAVARAYAN, R. A.; SUZUKI, R.; NEGATA, M.; TAKAGI, R.; WATANABE, K. Curcumin prevents diabetic cardiomyopathy in streptozotocin-induced diabetic rats: possible involvement of PKC-MAPK signaling pathway. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47, n. 3, p. 604–614, 2012.

SONG, J. X.; SONG Y.; JIANG S.; YUAN H.; ZHANG X. Association of plasma myeloperoxidase level with risk of coronary artery disease in patients with type 2 diabetes, **Disease Markers**, v. 5, 2015.

SONG, Y.; ZHANG, F.; YING, C.; KUMAR, K. A.; ZHOU, X. Inhibition of NF-κB activity by aminoguanidine alleviates neuroinflammation induced by hyperglycemia. **Metabolic Brain Disease**, v. 32, p. 1627 – 1937, 2017.

SOSKIC, S. S.; DOBUTOVI, B. D.; SUDAR, E. M.; OBRADOVI, M. M.; NIKOLI, D. M.; DJORDJEVIC, J. D.; RADAK, D. J.; MIKHAILIDIS, D. P.; ISENOVI, E. R. Regulation of Inducible Nitric Oxide Synthase (iNOS) and its Potential Role in Insulin Resistance, Diabetes and Heart Failure. **The Open Cardiovascular Medicine Journal**, v. 5, p. 153-163, 2011.

SOULIS, T.; COOPER, E. M.; SASTRA, S.; THALLAS, V.; PANAGIOTOPOULOS, S.; BJERRUM, J. O. et al. Relative contributions of advanced glycation and nitric oxide synthase inhibition to aminoguanidine-mediated renoprotection in diabetic rats. **Diabetologia**, v. 40, p. 1141–1151, 1997.

SOULIS-LIPAROTA, T.; COOPER, M.; PAPAZOGLU, D.; CLARKE, B.; JERUMS, G. Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion, and tissue fluorescence in streptozocin-induced diabetic rat. **Diabetes**, v. 40, p. 1328-1334, 1991.

SRINIVASAN, M. Effect of curcumin on blood sugar as seen in a diabetic subject. **Indian Journal of Medical Sciences**, v. 26, n. 4, p. 269 – 270, 1972.

SRIVASTAVA, R. Inhibition of neutrophil response by curcumin. **Agents and Actions**, v. 28, 1989.

STOCKER, P.; CASSIEN, M.; VIDAL, N.; THÉTIOT-LAURENT, S.; PIETRI, S. A fluorescent homogeneous assay for myeloperoxidase measurement in biological samples. A positive correlation between myeloperoxidase generated HOCl level and oxidative status in STZ-diabetic rats. **Talanta**, v. 170, p. 119-127, 2017.

STUMP, C. S.; NAIR, K. S. Alterations in protein metabolism in Diabetes Mellitus. **In Principles of Diabetes Mellitus**, v. 2, 2010.

SUZUKI, Y. J.; CARINI, M.; BUTTERFIELD, D. A. Protein Carbonylation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 12, n. 3, p. 323 – 325, 2010.

SZKUDELSKI, T. The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas. **Physiological Research**, v. 50, p. 536-546, 2001.

TAHARA, Y.; SHIMA, K. Kinetics of HbA<sub>1c</sub>, glycated albumin, and fructosamine and analysis of their weight functions against preceding plasma glucose level. **Diabetes Care**, v. 18, n. 4, 1995.

TAN, A. L.; SOURRIS, K. C.; HARCOURT, B. E.; THALLAS-BONKE, V.; PENFOLD, S.; ANDRIKOPOULOS, S.; THOMAS, M. C.; O'BRIEN, R. C.; BIERHAUS, A.; COOPER, M. E.; FORBES, J. M.; COUGHLAN, M. T. Disparate effects on renal and oxidative parameters following RAGE deletion, AGE accumulation inhibition, or dietary AGE control in experimental diabetic nephropathy. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, v. 3, n. 298, p. 763-70, 2010.

TANG, Y.; CHEN, A. Curcumin eliminates the effect of advanced glycation end-products (AGEs) on the divergent regulation of gene expression of receptors of AGEs by interrupting leptin signalling. **Laboratory Investigation**, v. 94, n. 5, p. 503–516, 2014.

TANGVARASITTICHAJ, Surapon. Oxidative stress, insulin resistance, dyslipidemia and type 2 diabetes mellitus. **World journal of diabetes**, v. 6, n. 3, p. 456, 2015.

TASLIDERE, E.; VARDI, N.; ORMAN, D.; ELBE, H. Anti-Apoptotic Effects of Aminoguanidine Against Liver Damage on Experimental Diabetes in Rats. **Journal of Turgut Ozal Medical Center**, v. 21, n. 2, p. 111-117, 2014.

TEJASWIA, G.; SUCHITRAA, M. M.; RAJASEKHAR, D.; KIRANMAYIA, V. S.; SRINIVASA RAOA, P.V.L.N. Myeloperoxidase, protein carbonyls and oxidative stress in coronary artery disease. **Journal of Indian College of Cardiology**, v. 7, n. 4, p. 149-152, 2017.

THOMAS, M. C.; BAYNES, J. W.; THORPE, S. R.; COOPER, M.E. The Role of AGEs and AGE Inhibitors in Diabetic Cardiovascular Disease. **Current Drug Targets**, v. 6, p. 453-474, 2005.

THORNALLEY, P. J. Use of aminoguanidine (Pimagedine) to prevent the formation of advanced glycation endproducts. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 419, n. 1, p. 31-40, 2003.

TORRES, M. C. L.; SOARES, N. F. F.; PEREIRA, J. A. M. Extração, purificação e avaliação da atividade da glutatona S-transferase de fígado bovino. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 30, n. 2, p. 302-307, 2006.

TREVELIN, S. C.; CARLOS, D.; BERETTA, M.; SILVA, J. S.; CUNHA, F. Q. Diabetes mellitus and sepsis: a challenging association. **Shock**, v. 47, n. 3, p. 276-287, 2017.

TURNER, R. C.; CULL, C. A.; FRIGHI, V.; HOLMAN, R. R. Glycemic control with diet, sulfonylurea, metformin, or insulin in patients with type 2 diabetes mellitus: progressive requirement for multiple therapies (UKPDS 49). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. **Journal of the American Medical Association**, v. 281, n. 21, p. 2005-12, 1999.

ULLAH, A.; KHAN, A.; KHAN, I. Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 24, p. 547-553, 2016.

UNOKI, H.; YAMAGISHI, S. Advanced Glycation End Products and Insulin Resistance. **Current Pharmaceutical Design**, v. 14, p. 987-989, 2008.

URIBARRI, J. **Dietary AGEs and Their Role in Health and Disease**. 1. ed. Boca Raton, Flórida, Estados Unidos: Taylor & Francis Group, 2017.

VADLA, G. P. A.; VELLAICHAMY, E. Beneficial effects of aminoguanidine against streptozotocin-induced pathological changes in diabetic mice kidney. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 3, p. 221-226, 2013.

VAN GELDER, B. F.; SLATER, E. C. The extinction coefficient of cytochrome c. **Biochimica et Biophysica Acta**, v. 58, p. 593-595, 1962.

VAREED, S. K.; KAKARALA, M.; RUFFIN, M. T. Pharmacokinetics of curcumin conjugate metabolites in healthy human subjects. **Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention**, v. 17, n. 6, p. 1411-1417, 2008.

VARIJI, A.; SHOKRIA, Y.; FALLAHPOURA, S.; ZARGARIB, M.; BAGHERIC, B. ABEDIANKENARID, S.; ALIZADEHE, A.; MAHROOZB, A. The combined utility of myeloperoxidase (MPO) and paraoxonase 1 (PON1) as two important HDL-associated enzymes in coronary artery disease: Which has a stronger predictive role? **Atherosclerosis**, v. 280, p. 7–13, 2019.

VIOLLET, B.; Guigas, B; Sanz Garcia, N.; Leclerc, J.; Foretz, M.; Andreelli, F. Cellular and molecular mechanisms of metformin: an overview. **Clinical science**, v. 122, n.6, p. 253-270, 2012.

VLISSARA, H.; STRIKER, G. E. AGE restriction in diabetes mellitus: a paradigm shift. **Nature Reviews Endocrinology**, v. 7, n. 9, p. 526, 2011.

WALRAND, S.; GUILLET, C.; BOIRIE, Y.; VASSON, M-P. In vivo evidences that insulin regulates human polymorphonuclear neutrophil functions. **Journal of Leukocyte Biology**, v. 76, 2004.

WARD, R. A.; MCLEISH, K. R. Methylglyoxal: a stimulus to neutrophil oxygen radical production in chronic renal failure? **Nephrology Dialysis Transplantation**, v. 19, p. 1702-1707, 2004.

WATSON, A. D.; BERLINER, J. A.; HAMA, S. Y.; LA DU, B. N.; FAULL, K. F.; FOGELMAN, A. M.; NAVAB, M. Protective effect of high density lipoprotein associated paraoxonase. Inhibition of the biological activity of minimally oxidized low density lipoprotein. **Journal of Clinical Investigation**, v. 96, p. 2882–2891, 1995.

WELSH, K. J.; KIRKMAN, M. S.; SACKS, D. B. Role of glycated proteins in the diagnosis and management of diabetes: research gaps and future directions. **Diabetes Care**, v. 39, p. 1458-1462, 2016.

WELT, K.; WEISS, J.; MARTIN, R.; DETTMER, D.; HERMSDORF, T.; ASAYAMA, K. Ultrastructural, immunohistochemical and biochemical investigations of the rat liver exposed to experimental diabetes and acute hypoxia with and without application of Ginkgo extract. **Experimental and Toxicologic Pathology**, v. 55, p. 331 – 345, 2004.

WIERSMA, J. J.; MEUWESE, M. C.; VAN MIERT, J. N. I; KASTELEIN, A.; TIJSSEN, J. G. P.; PIEK, J. J.; TRIP, M. D. Diabetes mellitus type 2 is associated with higher levels of myeloperoxidase. **Medical Science Monitor**, v. 14, p. 406–410, 2008.

WINTERBOURN, C. C.; KETTLE, A. J. Redox Reactions and Microbial Killing in the Neutrophil Phagosome. **Antioxidants e Redox Signaling**, v. 18, n. 6, p. 642-660, 2013.

WOLF, V. G. et al. Octyl gallate, a food additive with potential beneficial properties to treat Helicobacter pylori infection. **Food & Function**, 2017.

WONG, R. K.; PETTIT, A. I.; DAVIES, J. E.; NG, L. L. Augmentation of the neutrophil respiratory burst through the action of advanced glycation end products: a potential contributor to vascular oxidant stress. **Diabetes**, v.51, 2846– 2853, 2002.

WONG, S. L.; DEMERS, M.; MARTINOD, K.; GALLANT, M.; WANG, Y; GOLDFINE, A. B.; KAHN, C. R; WAGNER, D. D. Diabetes primes neutrophils to undergo NETosis which severely impairs wound healing. **Nature Medicine**, v. 21, n. 7, p. 815–819, 2015.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. Classification of diabetes mellitus. Classification of diabetes mellitus. **Geneva: World Health Organization**, 2019.

WU, C. H.; HUANG, S. M.; LIN, J. A.; YEN, G. C. Inhibition of advanced glycation endproduct formation by foodstuffs. **Food & Function**, v. 2, p. 224–234, 2011.

WU, L.; PARHOFER, K. G. Diabetic dyslipidemia. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 63, p. 1469 – 1479, 2014.

XAVIER, S.; SADANANDAN, J.; GEORGE, N.; PAULOSE, C. S.  $\beta_2$ -adrenoceptor and insulin receptor expression in the skeletal muscle of streptozotocin induced diabetic rats: antagonism by vitamin D<sub>3</sub> and curcumin. **European Journal of Pharmacology**, v. 687, n. 1-3, p. 14-20, 2012.

XUE, M.; RABBANI, N.; MOMIJI, H.; IMBASI, P.; ANWAR, M. M.; KITTERINGHAM, N.; PARK, B. K.; SOUMA, T.; MORIGUCHI, T.; YAMAMOTO, M.; THORNALLEY, P. J. Transcriptional control of glyoxalase 1 by Nrf2 provides a stress-responsive defence against dicarbonyl glycation. **Biochemical Journal**, v. 443, n. 1, p. 213-222, 2012.

YAMAGISHI, S.; NAKAMURA, K.; MATSUI, T.; UEDA, S.; FUKAMI, K.; OKUDA, S. Agents that block advanced glycation end product (AGE)-RAGE (receptor for AGEs)-oxidative stress system: a novel therapeutic strategy for diabetic vascular complications. **Expert Opinion on Investigational Drugs**, v.17, n. 7, 2008.

YAMAGISHI, S.; NAKAMURA, N.; MATSUI, T.; Glycation and cardiovascular disease in diabetes: A perspective on the concept of metabolic memory. **Journal of Diabetes**, v. 9, p. 141–148, 2017.

YANG, Q.; WU, S.; MAO, X.; WANG, W.; TAI, H. Inhibition effect of curcumin on TNF- $\alpha$  and MMP-13 expression induced by advanced glycation end products in chondrocytes. **Pharmacology**, v. 91, p. 77–85, 2013.

YANO, H.; KINOSHITA, M.; FUJINO, K.; NAKASHIMA, M.; YAMAMOTO, Y.; MIYAZAKI, H., HAMADA, K.; ONO, S.; IWAYA, K.; SAITOH, D.; SEKI, S., TANAKAA, Y. Insulin Treatment Directly Restores Neutrophil Phagocytosis and Bactericidal Activity in Diabetic Mice and Thereby Improves Surgical Site Staphylococcus aureus Infection. **Infection and Immunity**, v. 80, n.12, p. 4409–4416, 2012.

YILDIZ, G.; DEMIRYÜREK, A. T.; SAHIN-ERDEMLI, I.; KANZIK, I. Comparison of antioxidant activities of aminoguanidine, methylguanidine and guanidine by luminol-enhanced chemiluminescence. **British Journal of Pharmacology**, v. 124, p. 905-910, 1998.

YU, W.; LIU, X.; FENG, L.; YANG, H.; YU, W.; FENG, T.; WANG, S.; WANG, J.; LIU, N. Glycation of paraoxonase 1 by high glucose instigates endoplasmic reticulum stress to induce endothelial dysfunction in vivo. **Scientific Reports**, p. 1 – 11, 2017.

YU, W.; W, J.; CAI, F.; XIANG, J.; ZHA, W.; FAN, D.; GUO, S.; MING, Z.; LIU, C. Curcumin Alleviates Diabetic Cardiomyopathy in Experimental Diabetic Rats. **PLOS ONE**, v. 7, n. 12, 2012.

YU, W.; WU, J.; CAI, F.; XIANG, J.; ZHA, W.; FAN, D.; GUO, S.; MING, Z.; LIU, C. Curcumin alleviates diabetic cardiomyopathy in experimental diabetic rats. **PLoS One**, v. 7, p. e52013, 2012.

ZHANG, D.; FU, M.; GAO, S.; LIU, J. Curcumin and Diabetes: A Systematic Review. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2013, p. 1 – 16, 2013.

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

ZUWALA-JAGIELLO, J.; PAZGAN-SIMON, M.; SIMON, K.; WARWAS M. Elevated advanced oxidation protein products levels in patients with liver cirrhosis. **Acta Biochimica Polonica**, v. 56, p. 679–685, 2009.