



RAQUEL VIEIRA LOBATO

**EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE
 β -GLUCANOS EM RATOS COM *DIABETES MELLITUS*
TIPO 1 INDUZIDOS POR ESTREPTOZOTOCINA**

Lavras - MG

2014

RAQUEL VIEIRA LOBATO

**EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE β -GLUCANOS EM
RATOS COM *DIABETES MELLITUS* TIPO 1 INDUZIDOS POR
ESTREPTOZOTOCINA**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, área de concentração em Ciências Veterinárias para a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Luciano José Pereira

LAVRAS - MG

2014

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Coordenadoria de Produtos e
Serviços da Biblioteca Universitária da UFLA**

Lobato, Raquel Vieira.

Efeitos metabólicos da ingestão de beta-glucanos em ratos com diabetes mellitus tipo 1 induzidos por estreptozotocina / Raquel Vieira Lobato. – Lavras : UFLA, 2014.

109 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2014.

Orientador: Luciano José Pereira.

Bibliografia.

1. Doença metabólica. 2. Polissacarídeo. 3. Glucanas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 636.0896462

RAQUEL VIEIRA LOBATO

**EFEITOS METABÓLICOS DA INGESTÃO DE β -GLUCANOS EM
RATOS COM *DIABETES MELLITUS* TIPO 1 INDUZIDOS POR
ESTREPTOZOTOCINA**

Dissertação apresentada à
Universidade Federal de Lavras, como
parte das exigências do Programa de
Pós-Graduação em Ciências
Veterinárias, área de concentração em
Ciências Veterinárias, para a obtenção
do título de Mestre.

APROVADA em 21 de fevereiro de 2014.

Prof^a- Dr^a- Juliana Trindade Clemente Napimoga Unicamp

Prof^o- Dr^o- Leonardo Rigoldi Bonjardim USP

Prof^a- Dr^a- Ana Paula Peconick UFLA

Prof^o- Dr^o- Luciano José Pereira
Orientador

LAVRAS – MG

2014

Dedico este trabalho aos meus pais, Salatiel e Ludmila, e ao meu irmão Henrique que sempre acreditaram em meu sucesso e me deram ânimo para continuar;

Ao Marney, pelo carinho e companheirismo, sempre compartilhando comigo as alegrias, tristezas e dificuldades dessa jornada.

DEDICO

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pela vida e por me guiar e proteger sempre! Obrigada pelas vidas preciosas que estão ao meu lado, e que me fazem acreditar que é possível vencer obstáculos e conquistar patamares mais altos.

À Universidade Federal de Lavras (UFLA), na pessoa de seu Reitor Prof. José Roberto Soares Scolforo.

Ao Prof. Dr Márcio Gilberto Zangeronimo, coordenador do curso de Pós-Graduação de Medicina Veterinária da UFLA.

Ao Prof. Dr Raimundo Vicente de Sousa, Chefe do Departamento de Medicina Veterinária da Universidade Federal de Lavras.

Ao meu pai, Salatiel, pelo exemplo de dignidade, honestidade e pelos pensamentos positivos transmitidos nesta caminhada. A minha mãe, Ludmila, pela presença amiga, dedicação e amor incondicional. Agradeço também ao Henrique, irmão querido, pela cumplicidade e apoio.

A minha Vó Lenir e aos meus familiares, em especial minha tia e madrinha Sylvania, pelas orações e palavras carinhosas.

Agradeço ao Marney, pelo amor e companheirismo. Obrigada pela paciência e otimismo de sempre! Sem você, com certeza, eu não estaria onde estou.

Aos amigos-irmãos da Fisiologia Veterinária, especialmente ao Eric Andrade, Ticiania Vasques, Viviam Oliveira, Renata Foureaux, Andressa Naira, Núbia Ferreira e Larissa Jahnel. Obrigada por toda a ajuda, apoio e amizade.

Ao técnico do laboratório de Fisiologia e Farmacologia do Departamento de Medicina Veterinária, Willian Cortez. Agradeço pela ajuda no desenvolvimento prático do trabalho pelo carinho e amizade.

As minhas companheiras de república Lorena Nascimento, Thaina Nascimento, Giovana Vargas, Júlia Ribeiro e a amiga Débora Orlando, com quem aprendi muito e dividi muitas risadas.

Agradeço ao meu orientador Prof. Dr Luciano José Pereira, por ter me dado esta oportunidade! Obrigada por todo incentivo e aprendizado.

Agradeço também aos professores Dr Raimundo Vicente de Sousa e Dr. Márcio Gilberto Zangeronimo pela colaboração na realização deste trabalho e conhecimentos transmitidos.

Aos membros da banca, Prof^a Dr^a Ana Paula Peconick, Prof^a Dr^a Juliana Trindade Clemente Napimoga e Prof Dr Leonardo Rigoldi Bonjardim.

Obrigada também aos professores responsáveis pelos laboratórios utilizados e à empresa Biorigen.

Agradeço também à FAPEMIG, pelo apoio financeiro.

A todas as pessoas que contribuíram para a execução deste trabalho e para o meu crescimento pessoal, muito obrigada.

RESUMO GERAL

Objetivou-se investigar os efeitos hipoglicêmicos e hipolipidêmicos da ingestão de BG e para tal foram redigidos dois capítulos. No primeiro Capítulo, foi realizada uma revisão sistemática que teve como objetivo avaliar os efeitos dos BG sobre a glicemia e perfil lipídico de indivíduos diabéticos. Foi conduzida uma busca nas bases de dados Pubmed, Science Direct e Scielo, utilizando as palavras-chave: *diabetes mellitus* e beta-gucano e glicemia e humanos. Os resultados deste estudo destacaram que doses superiores a 6,0 g/indivíduo/dia por quatro semanas, ou doses maiores que 3,0 g/indivíduo/dia durante 12 semanas, foram suficientes para reduzir a glicemia, bem como melhorar o perfil lipoproteico de portadores de DM. No Capítulo 2, os efeitos metabólicos da ingestão de BG produzidos a partir de uma levedura (*Saccharomyces cerevisiae*) em ratos diabéticos foram testados. Foram utilizados 24 ratos machos adultos da linhagem *Wistar* (peso inicial $250 \pm 24,78$ g), distribuídos em um delineamento inteiramente casualizado em 4 grupos em modelo fatorial 2 x 2 (com e sem diabetes; com e sem BG). A indução do DM tipo I nos animais dos grupos diabéticos foi realizada com o uso de uma injeção intraperitoneal de 80mg/kg de estreptozotocina (após jejum de quatro horas) e aqueles que apresentaram glicemia de jejum acima de 300mg/dl foram considerados diabéticos. Quarenta e oito horas após a indução, os roedores receberam doses diárias de 30 mg/Kg de BG ou solução salina por gavagem durante 28 dias. Os animais dos grupos com DM apresentaram glicemia inicial maior do que os roedores controle, além de menor ganho de peso; bem como maior consumo de ração, ingestão de água e volume urinário. Níveis de colesterol total (CT), lipoproteína de baixa densidade + lipoproteína de densidade muito baixa (LDL-c + VLDL-c), triacilgliceróis (TAG), glicose e alanino aminotransferase (ALT) plasmáticos também foram superiores nos animais diabéticos ($p < 0,05$), não havendo alterações nos níveis de lipoproteína de alta densidade (HDL-c). A ingestão de BG foi eficiente em reduzir as concentrações plasmáticas de glicose (30%), TAG (32%) e ALT (41%) ($p < 0,05$). Não foram observadas alterações histopatológicas hepáticas em quaisquer dos grupos nem alterações na composição química de carcaça. Adicionalmente, os animais diabéticos apresentaram aumento na relação vilosidade:cripta (V:C) no duodeno, sem a interferência do BG. Desta forma, concluiu-se, a partir dos resultados observados, que os BG foram eficientes na atenuação dos efeitos indesejáveis do DM, sendo que, variações quanto à fonte, dosagem e tipo de beta-glucanos podem interferir nos resultados.

Palavras-chave: Doença metabólica. *Diabetes Mellitus*. Carboidratos. Polissacarídeo. glucanas.

GENERAL ABSTRACT

Aimed to investigate the hypoglycemic and hypolipidemic effects of ingesting BG and such two chapters were written. In the first chapter, a systematic review aimed to evaluate the effects of BG on blood glucose and lipid profile of diabetic subjects was performed. A search was conducted in Pubmed, Science Direct and SciELO databases using the key words: diabetes mellitus and glucose and beta-gucano and humans. The results of this study highlighted that more than 6.0 g / person / day doses for four weeks, or greater than 3.0 g / person / day for 12 weeks doses were sufficient to reduce blood glucose levels as well as improve the lipoprotein profile of DM. In chapter 2, the metabolic effects of ingestion of BG produced from a yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) were tested in diabetic rats. 24 adult male rats of Wistar rats (initial weight 250 ± 24.78 g) lineage, which were distributed in a completely randomized into 4 groups in 2x2 factorial design (with and without BG with and without diabetes) were used. The induction of type I DM in animals of the diabetic groups was performed by intraperitoneal injection of 80mg/kg of estrepzotocina (after fasting for four hours) and those who had fasting glucose above 300mg/dl were considered diabetic. Forty-eight hours after induction, the mice received daily doses of 30 mg / kg BG or saline by gavage for 28 days. The animals in groups with DM had higher initial blood glucose control rodents in addition to lower weight gain, and increased feed intake, water intake and urine volume. Total cholesterol (TC), low density lipoprotein + very low density lipoprotein (LDL -C + VLDL - C), triglycerides (TAG), glucose and alanine aminotransferase (ALT) serum were also higher in the diabetic animals ($p < 0.05$), no change in the levels of high density lipoprotein (HDL - c). The intake of BG was effective in reducing plasma concentrations of glucose (30%), TAG (32%) and ALT (41%) ($p < 0.05$). No hepatic histopathological changes were observed in either group. In addition, diabetic animals showed increased villus : crypt ratio (V : C) in the duodenum, without interference from the BG. No changes were observed in the chemical carcass composition between groups. Thus, from the results observed in the studies, it was found that BG were effective in mitigating the side effects of diabetes, and that variations in the source, type and dosage of beta-glucan may affect the results. Thus, it is considered that these fibers are to be used as aids to conventional treatment of disease.

Keywords: Metabolic Disease, Diabetes Mellitus, carbohydrates, polysaccharides, glucanas.

LISTA DE FIGURAS

PRIMEIRA PARTE- REFERENCIAL TEÓRICO

- Figura 1 Estrutura dos BG presentes em plantas (1), com ligações $\beta(1\rightarrow4)$ e em fungos (2), com ligações $\beta(1\rightarrow6)$ 18

ARTIGO 1

- Figura 1 Flowchart of the article search process using the keywords “*diabetes mellitus*” and “bet-glucano” and “glycaemia” and “glucose” and “human”.....64

ARTIGO 2

- Figura 1 Etapas do experimento.....94
- Figura 2 Parâmetros relativos a consumo alimentar, variação do peso corporal, consumo de água e excreção urinária de ratos..... 95
- Figura 3 Parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratos diabéticos ou normais tratados ou não com BG, durante quatro semanas.....96
- Figura 4 Efeito do BG sobre a histologia do pâncreas de ratos diabéticos e não diabéticos por HE (200x). (A) animais não diabéticos recebendo salina; (B) animais diabéticos recebendo salina; (C) animais não diabéticos recebendo BG(30 mg/kg); (D) animais diabéticos recebendo BG (30 mg/kg).....97
- Figura 5 Relação vilosidade/cripta dos diferentes segmentos do intestino delgado de ratos normais e diabéticos tratados ou não com BG, durante quatro semanas.....99
- Figura 6 Parâmetros de composição química corporal de ratos diabéticos e não diabéticos tratados com BG ou salina, durante quatro semanas.....100

LISTA DE TABELAS

SEGUNDA PARTE - ARTIGOS

ARTIGO 1

Tabela 1 Scores for evaluation criteria60

Tabela 2 Summary of the selected studies61

ARTIGO 2

Tabela 1 Distribuição dos grupos experimentais.....94

Tabela 2 Efeito do BG sobre a histologia do pâncreas de ratos diabéticos e não diabéticos por coloração HE (200x). (A) ratos não diabéticos recebendo salina, (B) animais diabéticos recebendo salina, (C) animais não diabéticos recebendo BG(30 mg/kg),(D) animais diabéticos recebendo BG (30 mg/kg).....98

SUMÁRIO

| | |
|--|--------------|
| 1. INTRODUÇÃO | 11 |
| 2. REFERENCIAL TEÓRICO | 12 |
| 2.1 Diabetes Mellitus | 12 |
| 2.2 Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1) | 14 |
| 2.3 Modelo animal experimental de Diabetes mellitus tipo 1..... | 15 |
| 2.4 Beta- glucanos (BG)..... | 17 |
| 2.5 BG proveniente de Saccharomyces Cerevisae | 19 |
| 2.6 Atividade biológica dos Beta–glucanos (BG) | 20 |
| REFERÊNCIAS | 23 |
| SEGUNDA PARTE – ARTIGOS | 31 |
| ARTIGO 1 Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: A Systematic Review | 31 |
| ARTIGO 2 Efeitos metabólicos do uso de β -glucanos (Saccharomyces cerevisae) por via oral em ratos com diabetes induzido por estreptozotocina..... | 65 |
| 3. COCLUSÕES FINAIS..... | 101 |
| ANEXOS | 10102 |

PRIMEIRA PARTE

1 INTRODUÇÃO

O *diabetes mellitus* (DM) é uma doença decorrente de problemas no metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos, sendo caracterizada pelo aumento na concentração plasmática de glicose. A prevalência de portadores de diabetes estimada no ano de 2010 foi de 285 milhões de pessoas, representando 6,6% da população adulta no mundo, havendo previsão de aumento para 435 milhões até o ano de 2030 (ISLAN, 2011). Ademais, animais de companhia também são acometidos pelo DM, sendo relatada incidência de 1:200 em cães e de 1:300 em gatos. Neste sentido, existe ainda uma estimativa de elevação desta incidência principalmente devido ao aumento dos casos de obesidade em ambas as espécies nas próximas décadas (HOENING, 2002).

O tratamento do DM normalmente consiste em terapia nutricional, atividade física regular, uso de insulinoterapia e/ou hipoglicemiantes orais. Entretanto, o tratamento medicamentoso dessa síndrome pode apresentar efeitos adversos, como mal estar, fraqueza, diarreia e hipoglicemia, além de algumas inconveniências como aplicações diárias de insulina.

Adicionalmente, a maioria das complicações crônicas do DM é altamente incapacitante para a realização das atividades diárias e produtivas, além de comprometer a qualidade de vida dos pacientes. Sendo assim, a investigação de novas substâncias para o tratamento dessa síndrome é relevante, principalmente tendo-se em vista a alta prevalência desta enfermidade em todo o mundo.

Dentre estas alternativas utilizadas no controle da glicemia, destaca-se o uso de beta glucanos (BG). Estes são polímeros provenientes da parede celular de uma variedade de plantas e leveduras que têm apresentado eficácia na

redução das concentrações de glicose no sangue, possivelmente pela sua capacidade de formar uma barreira no intestino delgado que retarda a absorção da glicose e lipídeos, com consequente redução da glicemia e também dos níveis séricos de colesterol.

Desta forma, essas fibras são utilizadas como substâncias auxiliares no tratamento de diversas síndromes, e também são importantes fontes de matéria prima para a indústria farmacêutica. Entretanto, grupos de estudos pesquisam os efeitos imunológicos do consumo de BG proveniente de leveduras, havendo uma escassez de trabalhos que investiguem sua ação sobre parâmetros metabólicos e fisiológicos.

Assim, considerando o DM como uma patologia multifatorial com característica crônica, objetivou-se com o presente estudo, avaliar os efeitos do BG proveniente do fungo *Saccharomyces cerevisiae*, administrado via oral, sobre parâmetros metabólicos de ratos diabéticos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Diabetes Mellitus

O *diabetes mellitus* (DM) representa uma doença metabólica caracterizada principalmente por um quadro de hiperglicemia decorrente da falta total ou parcial na secreção de insulina, assim como da resistência a este hormônio. As anormalidades desta doença envolvem o metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídeos, podendo afetar tanto seres humanos quanto animais. Sua prevalência tem aumentado dramaticamente ao longo das últimas décadas, visto que comorbidades como dislipidemias, hipertensão, obesidade proveniente do sedentarismo e ingestão alimentar excessiva podem resultar no acometimento do DM (AL-MASKARI; AL-MASKARI; AL-SUDAIRY, 2011; ISLAN, 2011).

Existem dois tipos de DM: tipo 1 e tipo 2. No paciente diabético tipo 1 observa-se deficiência na produção de insulina, decorrente da destruição auto-imune das células beta do pâncreas, onde seu tratamento exige o uso de insulina exógena (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION - ADA, 2012; BARRETT, 2013; MALANDRINO; SMITH, 2011). Já no DM tipo 2, os tecidos do corpo se tornam resistentes à ação da insulina, com concomitante disfunções nos receptores para este hormônio (ADA, 2012). Nestes casos, a utilização de agentes hipoglicemiantes orais torna-se frequentemente necessária, podendo-se ou não fazer uso da insulina (BARRETT, 2013; DEFRONZO, 2004; MALANDRINO; SMITH, 2011).

Os sinais e sintomas do DM manifestam-se por disfunções fisiológicas, tais como poliúria, polidipsia, perda de peso, polifagia e cansaço, ou por complicações agudas, como a cetoacidose diabética (ADA, 2012; SEINO, 2010). Adicionalmente, os pacientes diabéticos apresentam um aumento da incidência da doença aterosclerótica cardiovascular, arterial periférica e doença vascular cerebral (ADA, 2012). Comumente esses indivíduos são mais propensos a anormalidades no metabolismo de lipoproteínas, já que no DM tipo 1 há um aumento na mobilização de gorduras dos adipócitos para fornecimento de energia. Isso ocorre devido ao fato do organismo do diabético tipo 1 não produzir insulina para reconhecer e utilizar a glicose circulante (ADA, 2012; SEINO, 2010).

O tratamento do DM requer um projeto terapêutico eficaz que regule os níveis de glicose no sangue por longos períodos. Este tratamento tem como objetivo proporcionar ao indivíduo uma vida relativamente normal através da restauração do equilíbrio metabólico. O controle da doença pode ser realizado através de dieta associada a programas de atividade física, e, quando necessário, acompanhamento medicamentoso (BOULE et al., 2001; ERIKSSON; LINGARDE, 1991; LANDMAN et al., 2010; SKYLER et al., 2001).

Ademais, ao longo das últimas décadas, inúmeras pesquisas têm sido realizadas objetivando o melhor controle metabólico de humanos e animais com DM, sendo que novas tecnologias estão sendo incorporadas ao seu controle (CUGNET-ANCEAU et al., 2010; HINATA et al., 2007; TAPOLA et al., 2005).

2.2 Diabetes Mellitus tipo 1 (DM1)

O DM1 é considerado uma doença multifatorial complexa, caracterizada por um processo de destruição das células beta pancreáticas. Esse fato acontece devido à associação entre a resposta imunológica, fatores genéticos e ambientais (GAN; NEILL; HALLER, 2012).

O quadro histológico do DM1 é caracterizado pela presença de infiltrado inflamatório do tipo linfomononuclear no pâncreas, configurando insulinite e a ausência das células produtoras de insulina (HALLER; ATKINSON; SCHATZ, 2005).

Diversos eventos imunológicos, tanto celulares quanto humorais têm sido descritos na patogenia do DM1, sendo que, análises imunohistoquímicas do tecido pancreático mostram que as primeiras células a infiltrarem são as dendríticas e os macrófagos, promovendo insulite. Ademais, infiltrado constituído por linfócitos TCD4+ e TCD8+ também estão presentes, o que sugere que essas células têm um papel importante na destruição da célula beta. Assim, o mecanismo proposto é que, quando ativados, os macrófagos produzem diferentes citocinas capazes de sintetizar radicais livres muito tóxicos às células beta-pancreáticas. Posteriormente, os linfócitos TCD8+ reconhecem os autoantígenos, e efetuam a morte das mesmas por indução de apoptose (DEVENDRA; LIU; EISENBARTH, 2004; TISCH; MCDEVITT, 1996).

A destruição auto-imune das células beta tem sido associada a fatores genéticos e ambientais (GAN; NEILL; HALLER, 2012). Além disso, acredita-

se que a predisposição ao DM1 pode ser hereditária. Porém, 85% dos casos ocorrem em indivíduos sem histórico familiar da doença (HALLER; ATKINSON; SCHATZ, 2005). Diversos genes foram associados com a susceptibilidade ao DM1 sendo que o primeiro identificado foi o antígeno leucocitário humano (HLA). Entretanto, alguns casos foram relatados em crianças com genótipos de HLA de baixo risco, o que indica que os fatores ambientais são também importantes (DEVENDRA; LIU; EISENBARTH, 2004; GAN; NEILL; HALLER, 2012; HALLER; ATKINSON; SCHATZ, 2005).

Os determinantes ambientais estão associados à infecções virais (citomegalovírus, rubéola, caxumba, sarampo). Sugere-se que esses agentes favorecem o DM1 através da liberação local de citocinas decorrentes das infecções, o que provoca perda da tolerância aos auto-antígenos e ativação de linfócitos autorreativos, o que resulta no processo de auto-imunidade nas ilhotas (DEVENDRA; LIU; EISENBARTH, 2004).

2.3 Modelo animal experimental de Diabetes mellitus tipo 1

Estudos envolvendo modelos animais de DM são importantes devido às diversas limitações de investigação da doença diretamente em seres humanos. Sendo assim, já que existe uma grande semelhança fisiológica, celular e molecular entre os roedores e os humanos, a utilização de modelos experimentais torna-se uma ferramenta bastante útil (CHATZIGEORGIOU et al., 2009; DAMATTA; WILLIAMS, 2006; FAGUNDES; TAHA, 2004).

Dentre os protocolos experimentais para o estudo do DM tipo 1 encontra-se os modelos espontâneos e os induzidos quimicamente por drogas (ETUK, 2010; MORDES et al., 2004; SAKATA; YOSHIMATSU; TSUCHIYA, 2012).

A indução química do DM tipo 1 em animais de experimentação ocorre após a destruição seletiva das células beta pancreáticas. As substâncias mais usadas neste protocolo são o Aloxano e a Estreptozotocina (STZ). Ambos os fármacos exercem sua ação diabetogênica quando administrados via parenteral. A dose necessária para induzir diabetes depende das espécies de animais, via de administração e do estado nutricional (FEDERIUK et al., 2004; LENZEN, 2008).

A indução do DM1 por STZ foi descrito pela primeira vez na década de 60. A STZ é um glicosídeo nitrosurea natural isolado do *Streptomyces achromogenes* (LENZEN, 2008). Essa substância causa dano nas bases de DNA, depletando a nicotina adenina dinucleotídeo (NAD⁺), a qual inibe a biossíntese e a secreção de insulina promovendo a destruição irreversível das células beta, resultando em grave síndrome diabética (AKBARZADEH et al., 2007; SZKUDELSKI, 2001). Diversos estudos sugerem que uma dose de 40 a 80 mg/kg de STZ em ratos pode produzir um modelo experimental do DM1 (GAO et al., 2012; HENDARTO et al., 2012; KIM et al., 2013; MARLES; FARNSWORTH, 1995; MIRJANA et al., 2013).

Já a ação diabetogênica da droga Aloxano foi descrita em 1940. Essa substância inibe a glicoquinase, provocando um estado de diabetes severa por meio da sua capacidade de formar espécies reativas de oxigênio, resultando em necrose da célula beta pancreática. Entretanto, o aloxano é menos utilizado devido às dificuldades em induzir o diabetes e manter os animais em boas condições (LENZEN, 2008).

Os modelos animais espontâneos do DM tipo 1 foram descritos pela primeira vez em 1970. Dentre esses, duas espécies têm sido bastante estudadas: os camundongos diabéticos não obesos (NOD) e os ratos BB (*Biobreading*) (HERRATH; NEPOM, 2009; MORDES et al., 2004; ROEP; ATKINSON; HERRATH, 2004). Sugere-se que as ilhotas destes animais sofrem ataque auto-

imune por células T, células B, macrófagos e células *Natural killer*, induzindo assim insulinite e perda da ilhota, resultando em alta glicemia (SAKATA; YOSHIMATSU; TSUCHIYA, 2012).

O modelo de diabetes tipo I induzido por estreptozotocina em ratos tem muitas vantagens sobre os outros modelos, como baixo custo, facilidade em induzir a doença e capacidade de manter os animais em condições adequadas. Assim, é considerado um modelo experimental apropriado de DM1, sendo utilizado em muitos experimentos como protocolo de indução da patologia (AKBARZADEH et al., 2007).

2.4 Beta- glucanos (BG)

Os BG são polissacarídeos encontrados nas paredes celulares de bactérias, fungos e plantas, tais como aveia e cevada. Estudos sugerem que essas fibras solúveis são capazes de prevenir e tratar diferentes patologias, dentre elas o DM (KIM et al., 2005; RAHAR et al., 2011).

A efetividade dessa substância é atribuída e dependente de sua massa molecular, conformação, solubilidade e também do grau e posicionamento de suas ramificações (SONCK et al., 2010). Além disso, é importante ressaltar que a dose e o tempo de consumo dos BG são fatores que podem determinar sua eficiência (PAULA et al., 2005; WOOD et al., 2007).

Em geral, os BG originários de plantas são primariamente lineares e possuem ramificações com ligações do tipo $\beta(1\rightarrow4)$, enquanto que os derivados dos fungos e leveduras apresentam pequenas ramificações com ligações do tipo $\beta(1\rightarrow6)$ (Figura 1) (RIBEIRO et al., 2009).

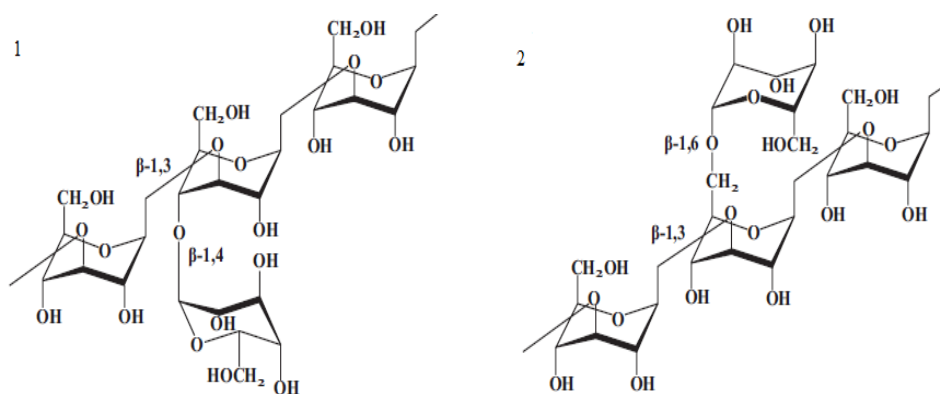


Figura 1 Estrutura dos BG presentes em plantas (1), com ligações $\beta(1\rightarrow4)$, e em fungos (2), com ligações $\beta(1\rightarrow6)$ (RIBEIRO et al., 2009).

Tais diferenças estruturais podem apresentar grandes implicações na atividade biológica dessas fibras. Desta forma, observa-se que os BG de leveduras são mais complexos quimicamente e por essa razão são mais difíceis de serem degradados pelas células apresentadoras de antígenos, fato esse que justifica o maior poder imunológico apresentado pelos polímeros provenientes de fungos (AKRAMIENE et al., 2007).

Ademais, tem-se sugerido também, que os BG de grande peso molecular (que correspondem à maioria dos polímeros) podem ativar diretamente os leucócitos, estimulando suas funções fagocíticas, citotóxicas e atividade antimicrobiana, além de estimular a produção de mediadores pró-inflamatórios. Já os de peso molecular intermediário possuem atividade biológica *in vivo*, mas seus efeitos celulares não são bem definidos. Sugere-se que esses polissacarídeos intermediários ativam os leucócitos *in vitro* para melhorar uma resposta secundária. De forma contrária, os de baixo peso molecular são geralmente considerados inativos (AKRAMIENÉ et al., 2007; BROWN; GORDON, 2003; RIBEIRO et al., 2009). Ademais, os BG de diferentes pesos

moleculares (principalmente os de alto peso) promovem um retardo do ritmo de esvaziamento gástrico decorrente da capacidade de retenção de água destas fibras. Tal fato aumenta a viscosidade do meio intestinal, reduzindo a taxa de absorção de nutrientes (glicose), diminuindo assim o índice glicêmico (RIBEIRO et al., 2009).

Desta forma, esses polímeros são utilizados como substância adjuvante no tratamento de diferentes síndromes metabólicas, como obesidade, hipertensão arterial, dislipidemia e DM, tanto em humanos quanto em animais. Adicionalmente, os efeitos fisiológicos e metabólicos dos BG, tais como redução da glicose e lipídeos sanguíneos, têm despertado interesse na comunidade científica, o que estimula o estudo minucioso sobre essas fibras na composição de farinhas, cereais matinais, massas e produtos panificados (LAZARIDOU; BILIADERIS, 2007).

2.5 BG proveniente de *Saccharomyces Cerevisiae*

Uma importante fonte de BG é o *Saccharomyces cerevisiae*, que é uma levedura comumente usada na cervejaria ou panificação, devida sua capacidade de fermentação. É um microrganismo eucariótico unicelular, que apresenta forma variada. A parede celular de *S. cerevisiae* é composta principalmente de BG e nanoproteínas e uma pequena quantidade de quitina e lipídios. A distribuição desses elementos está organizada em três camadas: uma interior de BG insolúvel (30-35%), uma camada média de BG solúvel (20-22%) e a camada externa composta por glicoproteína e mananoproteínas (30%) (AKRAMIENË et al., 2007).

Neste fungo, o BG é constituído por um esqueleto linear central de unidades de glicose ligadas na posição $\beta(1-3)$, com cadeias laterais unidas em $\beta(1-6)$, que ocorrem em diferentes intervalos e têm tamanhos variados. O $\beta(1-3)$

glucano é sintetizado por enzimas ligadas a membrana plasmática e possui uma estrutura helicoidal tripla responsável pela resistência mecânica da parede celular. O glucano encontrado em *S. cerevisiae* consiste de aproximadamente 85% $\beta(1-3)$ glucano e 3% de $\beta(1-6)$ glucano (AA et al., 2006; CHEN; SEVIOUR, 2007; KIM et al., 2005).

Os $\beta(1-3)$ glucanos têm tamanho considerado de 1500 resíduos de glicose e os $\beta(1-6)$ glucanos apresentam de 150 a 200 resíduos e, na parede de *S. cerevisiae*, são reorganizadas através de ramificações introduzidas por glicosiltransferases. A solubilidade desses BG em água depende do número de resíduos de glicose unidos em $\beta(1-6)$ das cadeias laterais, e do grau de polimerização (CHEN; SEVIOUR, 2007; KIM et al., 2005).

2.6 Atividade biológica dos Beta-glucanos (BG)

Os BG proveniente de leveduras têm sido extensivamente utilizados como substância protetora contra infecções, devido sua capacidade de estimular o sistema imune, com potentes efeitos sobre a imunidade inata e adaptativa (CHEN; ZHANG; JIANG, 2013; MASUDA et al., 2013). O efeito protetor dos BG foi demonstrado em infecções experimentais por *Leishmania major* e *L. donovani*, *Candida albicans*, *Toxoplasma gondii*, *Streptococcus suis*, *Plasmodium berghei*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Mesocestoides corti*, *Trypanosoma cruzi*, *Eimeria vermiformis* e *Bacillus anthracis* (VETVICKA, 2011).

Adicionalmente, existem relatos de que essas substâncias melhoraram os sintomas de alergia (TALBOTT et al., 2013), possuem propriedades anticancerígenas (CHEN; ZHANG; JIANG, 2013; MASUDA et al., 2013) e eliminam rugas pois favorecem a formação de colágeno (AGUERO et al., 2006; DU; BIAN; XU, 2013).

Ademais, os BG provenientes de plantas têm reconhecida ação na redução da glicemia, melhorando as condições de vida do paciente diabético e reduzindo os riscos de doenças crônicas em humanos e animais (CHOI et al., 2010; DONG et al., 2011; HONG et al., 2012; LO et al., 2006; TAPPY; GÜGOLZ; WÜRSCH, 1996). O mecanismo de ação dessas fibras solúveis parece estar relacionado com sua capacidade de formar uma camada de água no intestino, promovendo resistência às contrações intestinais, favorecendo então a redução da absorção de açúcares e lipídeos (REYNA et al., 2012).

Estudos sugerem ainda que os BG de aveia e cevada podem aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir os níveis de colesterol (GAO et al., 2012; JENKINS et al., 2002; LIATES et al., 2009; MAYELL, 2001; NICOLosi; BELL; BISTRIAN, 1999). Adicionalmente, esses polissacarídeos são capazes de modificar a absorção de energia e metabolismo e, em consequência, reduzir o ganho de peso (BROACKMAN; CHEN; GALLAHER, 2012; CHOI et al., 2010; JOO-WAN et al., 2011; LIATES et al., 2009). A redução do peso pode ser resultado da diminuição da ingestão de alimento, pois o consumo dessas fibras solúveis parece promover a sensação de saciedade, pois causam um retardamento do esvaziamento gástrico, com consequente redução na velocidade de ingestão de alimento (LUMAGA; AZZALI; FOGLIANO, 2012; RIBEIRO et al., 2009).

Desta forma, uma possível explicação para os diferentes efeitos fisiológicos dos BG pode estar relacionada às suas características estruturais. Assim, sugere-se que os BG de conformação β -1,3/1,4 (plantas), tendem a apresentar maior efeito metabólico, enquanto as de conformação β -1,3/1,6 (fungos) tendem a apresentar maior efeito imunológico (AKRAMIENÉ et al., 2007; HONG et al., 2012; KIM et al., 2005; TALBOTT et al., 2013; VETVICKA, 2011). Sendo assim, pouco se sabe dos efeitos do BG proveniente de leveduras sobre parâmetros tais como glicemia e colesterol (VETVICKA,

2011). Contudo, estudos que elucidem o possível mecanismo de ação deste composto e quais os componentes do extrato possuem certas atividades são de grande importância (PEPATO et al., 1993).

Em relação à segurança do uso dessa fibra, pouco foi relatado sobre a hepatocixidade quando administrado via parentérica. Entretanto, o que se observa é que em animais de laboratório, tal substância quando administrada via oral, por um período curto (até seis semanas), é inofensiva para o organismo. Nenhum sinal de toxicidade foi detectado, mesmo sendo administradas grandes quantidades da fibra (CHEN et al., 2011; DELANEY et al., 2003; JONKER et al., 2010; TURMINA et al., 2012).

Desta forma, de acordo com os resultados encontrados na literatura, doses abaixo de 3,0 g/indivíduo/dia de BG não são eficazes na redução da glicemia em indivíduos diabéticos (CUGNET-ANCEUA et al., 2010; LIATIS et al., 2009; WOOD, 2007). Sugere-se que doses superiores a 6,0g/indivíduo/dia são suficientes para diminuir a glicemia e insulinemia. No entanto, o tempo de consumo também pode ser um fator determinante para eficácia desta substância sobre estes parâmetros (TAPPY; GÜGOLZ; WÜRSCH, 1996).

REFERÊNCIAS

AA, E. et al. Population structure and gene evolution in *Saccharomyces cerevisiae*. **Federation of European Microbiological Societies**, Amsterdam, v. 6, n. 1, p. 702-715, 2006.

AGUERO, L. L. et al. Utilización de extratos de *Avena sativa* L. em dermatitis. **Revista Argentina de Dermatologia**, Buenos Aires, v. 87, n. 2, p. 100-105, 2006.

AKBARZADEH, A. et al. Induction of diabetes by streptozotocin in rats. **Indian Journal of Clinical Biochemistry**, New Delhi, v. 22, n. 2, p. 60-64, 2007.

AKRAMIENE, D. et al. Effects of beta-glucans on the immune system. **Medicina**, Kaunas, v. 43, n. 8, p. 597-606, 2007.

AL-MASKARI, A. Y.; AL-MASKARI, M. Y.; AL-SUDAIRY, S. Oral manifestations and complications of diabetes mellitus: a review. **Sultan Qaboos University Medical Journal**, Muscat, v. 11, n. 2, p. 179-86, 2011.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 35, n. 1, p. 64-70, Jan. 2012.

BARRET, T. Type 2 diabetes mellitus: incidence, management and prognosis. **Paediatrics and Child Health**, New York, v. 23, n. 4, p. 163-167, 2013.

BOULE, N. G. et al. Effects of exercise on glycemic control and body mass in type 2 diabetes mellitus: a meta-analysis of controlled clinical trials. **JAMA**, Rio de Janeiro, v. 286, n. 10, p. 1218-1227, Oct. 2001.

BROACKMAN, D. A.; CHEN, X.; GALLAHER, D. D. Consumption of a high b-glucan barley flour improves glucose control and fatty liver and increases muscle acylcarnitines in the Zucker diabetic fatty rat. **European Journal of Nutrition**, London, v. 11, n. 1, p. 1-11, Jan. 2012.

BROWN, G. D.; GORDON, S. Fungal β -Glucans and mammalian immunity. **Immunity**, Cambridge, v. 19, n. 3, p. 311-315, Mar. 2003.

CHATZIGEORGIOU, A. et al. The use of animal models in the study of diabetes mellitus. **International Journal of Experimental and Clinical Pathophysiology and Drug Research**, Washington, v. 25, n. 2, p. 245-258, 2009.

CHEN, J.; SEVIOUR, R. Medicinal importance of fungal β -(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 6)-glucans. **Mycological Research**, Cambridge, v. 111, n. 6, p. 635-652, 2007.

CHEN, J.; ZHANG, X. D.; JIANG, Z. The application of fungal beta-glucans for the treatment of colon cancer. **Bentham Science**, Beijing, v. 13, n. 5, p. 725-730, 2013.

CHEN, S. N. et al. Safety assessment of mushroom β -glucan: subchronic toxicity in rodents and mutagenicity studies. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 49, n. 11, p. 2890-2898, Nov. 2011.

CHOI, J. S. et al. Consumption of barley β -glucan ameliorates fatty liver and insulin resistance in mice fed a high-fat diet. **Molecular Nutrition & Food Research**, Weinheim, v. 54, n. 1, p. 1004-1013, 2010.

CUGNET-ANCEAU, C. et al. A controlled study of consumption of β -glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects. **British Journal of Nutrition**, Cambridge, v. 103, n. 3, p. 422-428, 2010.

DAMATTA, R. A.; WILLIAMS, R. W. Animal models in biomedical research. **Principles of Molecular Medicine**, New York, v. 2010, p. 53-60, 2006.

DEFRONZO, R. A. Pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. **Medical Clinical of North American**, New York, v. 88, n. 4, p. 787-835, 2004.

DELANEY, B. et al. Evaluation of the toxicity of concentrated barley b-glucan in a 28-day feeding study in Wistar rats. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 41, n. 1, p. 477-487, 2003.

DEVENDRA, D.; LIU, E.; EISENBARTH, G. S. Type 1 diabetes: recent developments. **BMJ**, London, v. 328, n. 7442, p. 750-754, 2004.

DONG, J. et al. Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice. **Food Chemistry**, London, v. 129, n. 5, p. 1066-1071, May 2011.

DU, B.; BIAN, Z.; XU, B. Skin health promotion effects of natural beta-glucan derived from cereals and microorganisms: a review. **Phytotherapy Research**, London, v. 6, n. 1, p. 1-10, Jan. 2013.

ERIKSSON, K. F.; LINGARDE, F. Prevention of type 2 (non-insulin-dependent) diabetes mellitus by diet and physical exercise the 6-year Malmö feasibility study. **Diabetologia**, New York, v. 34, n. 12, p. 891-898, 1991.

ETUK, E. U. Animals models for studying diabetes mellitus. **Agriculture and Biology Journal of North America**, Milford, v. 1, n. 2, p. 130-134, 2010.

FAGUNDES, D. J.; TAHA, M. O. Modelo animal de doença: critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. **Acta Cirúrgia Brasileira**, São Paulo, v. 19, n. 1, p. 59-65, 2004.

FEDERIUK, I. F. et al. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. **Comparative Medicine**, Memphis, v. 53, n. 3, p. 252-257, 2004.

GAN, M. J.; NEILL, A. A.; HALLER, M. J. Type 1 diabetes: current concepts in epidemiology, pathophysiology, clinical care, and research. **Current Problems in Pediatric and Adolescent Health Care**, Orlando, v. 42, n. 10, p. 269-291, Nov./Dec. 2012.

GAO, R. et al. Interaction of Barley β -Glucan and tea polyphenols on glucose metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 77, n. 6, p. 128-133, 2012.

HALLER, M. J.; ATKINSON, M. A.; SCHATZ, D. Type 1 diabetes mellitus: etiology, presentation and management. **Pediatric Clinics North America**, New York, v. 52, n. 2, p. 1553-1578, 2005.

HENDARTO, H. et al. GLP-1 analog liraglutide protects against oxidative stress and albuminuria in streptozotocin-induced diabetic rats via protein kinase A-mediated inhibition of renal NAD(P)H oxidases. **Metabolism Clinical and Experimental**, Naples, v. 61, n. 10, p. 1422-1434, Oct. 2012.

HERRATH, M.; NEPOM, G. T. Animal models of human type 1 diabetes. **Nature Immunology**, New York, v. 10, n. 2, p. 129-132, 2009.

HINATA, M. et al. Metabolic improvement of male prisoners with type 2 diabetes in Fukushima Prison, Japan. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v. 77, n. 1, p. 327-332, Jan. 2007.

HOENIG, M. Comparative aspects of diabetes mellitus in dogs and cats. **Molecular and Cellular Endocrinology**, New York, v. 197, n. 1, p. 221-229, 2002.

HONG, L. et al. Hypoglycemic and hypolipidemic activities of MT- β -glucan and its effect on immune function of diabetic mice. **Carbohydrate Polymers**, Barking, v. 89, n. 2, p. 245-250, 2012.

ISLAN, M. S. Effects of the aqueous extract of white tea (*Camellia sinensis*) in a streptozotocin-induced diabetes model of rats. **Phytomedicine**, Jena, v. 19, n. 1, p. 25-31, 2011.

JENKINS, A. L. et al. Depression of the glycemic index by high levels of β -glucan fibers in two functional foods tested in type 2 diabetes. **European Journal of Clinical Nutrition**, London, v. 56, n. 7, p. 622-628, July 2002.

JONKER, D. et al. 28-day oral toxicity study in rats with high purity barley beta-glucan (GlucageITM). **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 48, n. 1, p. 422-428, Jan. 2010.

JOO-WAN, K. et al. Synergic effects of bitter melon and β -glucan composition on STZInduced rat diabetes and its complications. **Journal Microbiology and Biotechnology**, Oxford, v. 22, n. 1, p. 147-155, Jan. 2012.

KIM, K. S. et al. The effects of complex herbal medicine composed of Cornus fructus, Dioscoreae rhizoma, Aurantii fructus, and Mori folium in obese type-2 diabetes mice model. **Oriental Pharmacy and Experimental Medicine**, Seoul, v. 13, n. 1, p. 69-75, 2013.

KIM, Y. W. et al. Anti-diabetic activity of beta-glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. **Biotechnology Letters**, Dordrecht, v. 27, n. 7, p. 483-487, 2005.

LANDMAN, G. et al. Metformin associated with lower cancer mortality in type 2 diabetes: ZODIAC-16. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 33, n. 2, p. 322-326, 2010.

LAZARIDOU, A.; BILIADERIS, C. G. Molecular aspects of cereal beta-glucan functionality: physical properties technological applications and physiological effects. **Journal of Cereal Science**, London, v. 46, n. 2, p. 101-118, 2007.

LENZEN, S. The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced Diabetes. **Diabetologia**, New York, v. 51, n. 2, p. 216-226, Dec. 2008.

LIATIS, S. et al. The consumption of bread enriched with betaglucan reduces LDL-cholesterol and improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes. **Diabetes and Metabolism**, New York, v. 35, n. 2, p. 115-120, 2009.

LO, H. C. et al. Effects of ingested fruiting bodies, submerged culture biomass, and acidic polysaccharide glucuronoxylomannan of *Tremella mesenterica* Retz.:Fr. on glycemic responses in normal and diabetic rats. **Life Science**, Elmsford, v. 78, n. 12, p. 1957-1966, 2006.

LUMAGA, R. B.; AZZALI, D.; FOGLIANO, V. Sugar and dietary fibre composition influence, by different hormonal response, the satiating capacity of a fruit-based and a β -glucan-enriched beverage. **Food and Fuction**, London, v. 3, n. 1, p. 67-75, Oct. 2012.

MALANDRINO, N.; SMITH, R. J. Personalized medicine in diabetes. **Clinical Chemical**, Boston, v. 52, n. 2, p. 231-240, 2011.

MARLES, R. J.; FARNSWORTH, N. R. Antidiabetic plants and their active constituents. **Phytomedicine**, Jena, v. 2, n. 2, p. 137-189, 1995.

MASUDA, Y. et al. Oral administration of soluble β -glucans extracted from *Grifola frondosa* induces systemic antitumor immune response and decreases immunosuppression in tumor-bearing mice. **International Journal of Cancer**, New York, v. 133, n. 1, p. 108-119, Feb. 2013.

MAYELL, M. Maitake extracts and their therapeutic potential: a review. **Alternative Medicine Review**, Idaho, v. 6, n. 1, p. 48-60, Feb. 2001.

MIRJANA, M. et al. Beta-Glucan administration to diabetic rats reestablishes redox balance and stimulates cellular pro-survival mechanisms. **Journal of Functional Foods**, New York, v. 5, n. 1, p. 267-278, 2013.

MORDES, J. P. et al. Rat models of type 1 diabetes: genetics, environment, and autoimmunity. **Journal ILAR**, Washington, v. 45, n. 3, p. 278-291, 2004.

NICOLOSI, R.; BELL, S. J.; BISTRAN, B. R. Plasma lipid changes after supplementation with β -glucan fiber from yeast. **American Journal of Clinical Nutrition**, Bethesda, v. 70, n. 1, p. 208-212, 1999.

PAULA, A. C. C. C. F. F. de et al. Hipoglycemic activity of polysaccharide fractions containing beta-glucans from extracts of *Rhynchelytrum repens* (Willd.) C.E.Hubb. Poaceae. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, Ribeirão Preto, v. 38, n. 6, p. 885-893, 2005.

PEPATO, M. T. et al. Assessment of the antidiabetic activity of *Myrcia uniflora* extracts in streptozotocin-diabetics rats. **Diabetes Research and Clinical Practice**, Amsterdam, v. 22, n. 1, p. 49-57, 1993.

RAHAR, S. et al. Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans. **Journal of Advanced Pharmaceutical Technology and Research**, Gwalior, v. 2, n. 2, p. 94-103, 2011.

REYNA, N. Y. et al. Basal insulin therapy in type 2 diabetes 28-week comparison of insulin glargine (HOE 901) and NPH insulin. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 24, n. 4, p. 631-636, 2001.

RIBEIRO, A. O. et al. Atividade antidiabética e efeitos fisiológicos associados aos β -glucanos presentes em *Rhynchelytrum repens*. **UNOPAR Científica. Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 11, n. 3, p. 41-50, 2009.

ROEP, B. O.; ATKINSON, M.; HERRATH, M. Satisfaction (not) guaranteed: re-evaluating the use of animal models of type 1 diabetes. **Nature Reviews Immunology**, London, v. 4, n. 12, p. 989-997, 2004.

SAKATA, N.; YOSHIMATSU, G.; TSUCHIYA, H. Animal models of diabetes mellitus for islet transplantation: review article. **Experimental Diabetes Research**, Berlin, v. 2012, p. 1-11, 2012.

SEINO, Y. New diagnostic criteria for diabetes in Japan. **Nihon Rinsho**, Berlin, v. 68, n. 12, p. 2357-2361, 2010.

SKYLER, J. S. et al. Efficacy of inhaled human insulin in type 1 diabetes mellitus: a randomised proof-of-concept study. **Lancet**, London, v. 357, n. 3, p. 331-335, 2001.

SONCK, E. et al. The effect of beta-glucans on porcine leukocytes. **Veterinary Immunology and Immunopathology**, New York, v. 135, n. 4, p. 199-207, 2010.

SZKUDELSKI, T. The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas: minireview. **Physiological Research**, Praha, v. 50, n. 2, p. 536-546, Mar. 2001.

TALBOTT, S. et al. β -Glucan supplementation, allergy symptoms, and quality of life in self-described ragweed allergy sufferers. **Food Science & Nutrition**, London, v. 1, n. 1, p. 90-101, 2013.

TAPOLA, N. et al. Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, New York, v. 15, n. 1, p. 255-261, 2005.

TAPPY, L.; GÜGOLZ, E.; WÜRSCH, P. Effects of breakfast cereals containing various amounts of β -glucan fiberson plasma glucose and insulin responses in NIDDM subjects. **Diabetes Care**, Alexandria, v. 19, n. 8, p. 831-834, 1996.

TISCH, R.; MCDEVITT, H. Insulin-dependent diabetes mellitus review. **Cell**, Cambridge, v. 85, n. 4, p. 291-297, 1996.

TURMINA, J. A. et al. Toxicological assessment of β -(1 \rightarrow 6)-Glucan (Lasiodiplodan) in mice during a 28-day feeding study by gavage. **Molecules**, Basel, v. 17, n. 12, p. 14298-14309, Dec. 2012.

VETVICKA, V. Glucan-immunostimulant, adjuvant, potential drug. **World Journal of Clinical Oncology**, Hong Kong, v. 10, n. 2, p. 115-119, 2011.

WOOD, P. J. Cereal β -glucans in diet and health. **Journal of Cereal Science**, London, v. 46, n. 3, p. 230-238, Mar. 2007.

SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

ARTIGO 1 Effect of beta-glucans in the control of blood glucose levels of diabetic patients: A Systematic Review

Este artigo foi redigido de acordo com as normas para submissão na

Canadian Journal of Physiology and Pharmacology.

Abstract

Functional foods have been widely employed to reduce the symptoms of various diseases such as *diabetes mellitus* (DM). Among these foods are soluble fibres, mainly those rich in beta-glucans (BGs). The objective of this systematic review was to evaluate the effects of these fibres on glucose plasmatic levels of diabetic individuals. A search was conducted using the Pubmed, Science Direct and Scielo databases using the keywords: *diabetes mellitus* and beta-glucan and glucose and glycaemia. As inclusion criteria, only studies on diabetic human individuals (type 1 or type 2) who consumed BGs were selected. Of the 819 initial articles retrieved, only 10 fit the inclusion criteria and were used in the study. It was observed that doses around 6.0 g/individual/day, for at least 4 weeks were sufficient to provoke improvements in the blood glucose levels and also lipid parameters of individuals with DM. However, glucose levels did not reach normal levels using BG alone. Low doses of BG for at least 12 weeks were also reported to promote metabolic benefits. Based on previous research, it was concluded that the ingestion of BGs was efficient in decreasing glucose levels of diabetic patients. However, the use of BG alone did not lead to normal glucose levels.

Keywords: Glucose metabolism disorders; polysaccharides; nutrition therapy; diabetes mellitus.

Introduction

Diabetes mellitus (DM) is a metabolic disorder caused by a deficiency in producing insulin or inefficient action of this hormone, which leads to chronic hyperglycaemia and other disorders such as vascular alterations, myocardic infarction, nephropathies, retinopathies, and neuropathies (Seino et al. 2010). It is estimated that 5% of all deaths worldwide are resulted from diabetes complications (Dattani et al 2009), and by the year of 2030 there will be more than 366 millions of diabetic people in the world (Wild et al. 2004).

Conventional treatment of diabetes involves the use of insulin or hypoglycemic agents (Messier et al. 2004). However, frequently the use of medications is expensive and involves side effects (Roe et al. 2013). As a result, various researchers have investigated non-pharmacological forms of treatment, such as physical activity (Balducci et al. 2010; Paluch et al. 2011), and functional foods (Cugne-Anceau et al. 2010; Somanah et al. 2012), in order to prevent and mitigate the harmful effects of diabetes.

The ingestion of foods with a low glycaemic index is a helpful alternative in controlling diabetes (Kabir et al. 2002). Important among these foods are those rich in fibre, especially those with a high level of

beta-glucans (Jenkins et al. 2002). Beta-glucans (BGs) are non-starch polysaccharides present in grains like oats, rye and barley, as well as mushrooms, yeast and some grasses (Liatis et al. 2009; Burton et al. 2011). Studies have suggested that foods containing BGs have anti-diabetic effects [Jenkins et al. 2002; Kabir et al. 2002; Cugnet-Anceau et al. 2010]. These fibres seem to form a barrier in the small intestine which prevents glucose and other nutrients absorption, reducing consequently the glycaemia, insulinaemia (Reyna et al. 2003) and also cholesterol serum levels (Liatis et al. 2009). Furthermore, it is hypothesized that BGs may act in activating metabolic pathways through PI3K/Akt, which plays a key role in the pathogenesis of diabetes (Chen et al. 2008).

Studies assessing the effects of BGs in individuals who are likely to develop metabolic syndrome are frequent (Keenan et al. 2007; Kim et al. 2009), but the evidence of consuming these fibres to improve glycaemia, HbA1c, insulin levels and lipid profile in individuals with type 1 or 2 DM is not well established.

Therefore, considering the potential of BGs in attenuating the negative effects of DM, the objective of this systematic review was to

evaluate the effects of this type of fibre on blood glucose control of diabetic individuals.

Materials and Methods

Research Strategy

In February 2013 we conducted an electronic search on the Pubmed database (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>) using the following keywords: diabetes mellitus and beta-glucan, beta-glucan and glycaemia, diabetes mellitus and beta-glucan, and beta-glucan and glucose. To confirm the results and obtain complementary studies, a similar methodology was utilized in the ScienceDirect (<http://www.sciencedirect.com>) and Scielo databases (<http://www.scielo.org/php/index.php>), using the same keywords in English.

Selection of Studies

We selected studies which used BGs in the diets of individuals with type 1 or type 2 DM. We opted to select only studies that were

conducted on humans with *diabetes mellitus*. There were no restrictions on the way in which the BGs were introduced into the diet, whether mixed into other foods or administered in their pure form. Furthermore, there were no restrictions on the dosage used, experimental period, sample size, language and/or date when the article was published.

Three researchers conducted the searches separately so that later the selected studies could be checked for conformity with the inclusion criteria. In cases of deviation among the selected items, all of the criteria were reviewed and discussed.

Quality Criteria

Quality criteria were adapted from other systematic reviews (Pereira et al. 2011; Silva et al. 2012) and in the instrument proposed by Jadad (Jadad et al. 1996). The adopted parameters were:

Randomized studies: experiments where the diets or the groups were randomized received a score of 2, while non-randomized experiments, or studies in which this fact was not clearly described in the text, received a score of 1.

Blind evaluation: Double or single blind studies received a score of 2, while articles without blind evaluations, or where this fact was not clearly described in the text, received a score of 1.

Control group: papers which related the use of control group, whether in the form of a control diet or a control group of individuals (non-diabetic individuals) received a score of 2, and those which did not report the use of a control group or did not clearly cite this in the text received a score of 1.

Placebo: studies using placebo diets received a score of 2, and studies which did not use or did not clearly describe use of placebos received a score of 1.

Questions about dietary habits: articles which described the use of a questionnaire or interview with a nutritionist received a score of 2, while those which did not describe the use of a questionnaire received a 1.

Additional variables: articles which evaluated only glycaemia and/or glycosylated haemoglobin (HbA1c) and insulin levels received a score of 1; those which evaluated further variables such as total cholesterol, LDL-c, HDL-c, apolipoproteins, PPAR- γ , etc. received a score of 2 (Table 1).

According to the adopted criteria, the maximum possible score was 12 points. Other parameters such as age, sex, experimental period, dose of BGs, and type of diabetes, among others, did not earn points but were used for descriptive purposes in order to contribute to the discussion.

Results

The bibliographic search conducted on PubMed database yielded 151 articles, and 10 of these were chosen for this review. The search using the ScienceDirect database yielded 668 articles. However, no additional articles were selected. Scielo database search did not retrieve any article. Therefore, 10 articles were used in this review (Figure 1).

Out of the selected articles, 9 (90.0%) used only individuals with type 2 DM in their samples. In all studies, the age of the study participants varied from 11 to 66 years, and the minimum sample number was eight volunteers, while the maximum was 53. In 70% of the studies, interviews were conducted by nutritionists to evaluate participants' dietary profiles before and during the experimental period. The most

common methodological difficulties were blinding and the use of placebo diet.

As for use of BGs in the diet, the minimal dose described was 1.8 g/individual/day (Rami et al. 2001), while the maximum was 9.4 g/individual/day (Braaten et al. 1994), and in all the studies the BGs were derived from oats. The experimental meals with BGs were consumed in different formulations; the majority of them were in the form of breakfast cereals or baked goods (Table 2). In 50% of the studies the experimental meals were consumed in the morning, 10% at lunch or dinner, and in 30% of the studies the time of consumption was not stipulated or not described. The parameters which were frequently assessed were glycaemia, HbA1c, total cholesterol, HDL, and LDL. Insulin levels were evaluated in 30% of the articles. The principal methodological characteristics of the selected articles are presented in Table 2.

Discussion

Systematic reviews generally use pre-defined methods to conduct a wide bibliographic study in order to allow the definition of an evidence of a modality of treatment for a specific disease. The present review was

conducted to determine the effectiveness of BGs in reducing blood glucose levels in patients with DM, as well as to determine the most effective dose needed to obtain these results. In order to avoid excluding any articles, a careful review was conducted by the authors. Nevertheless, due to variations in the titles, indexing, and keywords, it is possible that some articles may not have appeared in the results.

Despite the fact that articles existed which studied the efficacy of fibre in mitigating the effects of diabetes (Qureshi et al. 2002; Jiménez-Cruz et al. 2004), for the present study we selected only articles which mentioned specific quantities of BGs. We also stress that the criteria which evaluated methodological quality were defined based on previous studies (Jadad et al. 1996; Pereira et al. 2011) and the authors' experiences. Controlled blind randomized studies receive high scores because of their methodological quality and level of evidence. According to the results of the present review, doses of BGs below 3.5 g/individual/day were not significant in reducing glycaemia (Liatis et al. 2009; Cugnet-Anceau et al. 2010) and glycosylated haemoglobin (Kabir et al. 2002) in diabetic individuals. It was suggested that doses above 6.0 g/individual/day were sufficient to reduce glycaemia and insulinaemia

(Tappy et al. 1996; Tapola et al. 2005). However, the duration of consumption was a determining factor in the efficacy of this substance against these parameters. A 12-week period of daily ingestion of a dose of 3.0 g/individual provoked a 46% reduction of glycaemia in relation to the control group (Pick et al. 1996), while the same dose ingested for four weeks (Kabir et al.,2002) or 3.5 g/individual/day for eight weeks were not effective (Cugnet-Anceau et al. 2010). A possible mechanism to explain the reduction of glycaemia through consumption of BGs is the fact that this substance creates a gelatinous layer in the intestine that reduces the absorption of carbohydrates by the enterocytes (Reyna et al. 2003). These fibers promote the formation of soluble viscous solutions which slow the gastric emptying rate decreasing digestion and absorption of nutrients. Thus, how higher the layer, lowest is the glucose uptake (El Khoury et al. 2012), and this fact explains why studies evaluating small dose did not show significant reduction in glucose blood level.

In addition, short-chain fatty acids resulting from the anaerobic bacterial fermentation of BG's in the colon may be related to the maintenance of glucose and insulin balance (Song et al. 2000). It is also reported in experiments using rats that short chain fatty acids, such as

acetate, propionate and butyrate can enhance the expression of GLUT-4 via PPAR gamma in muscle fibers and adipocytes, increasing glucose uptake and consequently decreasing blood glucose (Song et al. 2000).

The influence of fibrous foods with elevated doses of BGs on reducing fasting hypoglycaemia episodes were also reported in the literature (Giacco et al. 2000). Doses of 8.8 g/individual modulated the increase of insulin and glycaemia in the first 40 minutes of the glycaemic test in individuals with type 2 DM, while for 150 and 180 minutes, this dosage caused glucose levels to remain higher in comparison with the control group (Tappy et al. 1996)]. However, consumption of night-time snacks containing 1.8 grams of BGs did not produce effects on hypoglycaemia in children with type 1 DM (Jiménez-Cruz et al. 2004). Studies investigating the effects of consumption of BGs by human patients with DM type 1 are scarce. Only one study was retrieved in the present search based on the employed criteria.

The lack of studies evaluating the effectiveness of the use of BGs in humans with Type 1 DM-insulin dependent patients may be related to the fact that this type of fiber is often used in disorders where there is the presence of obesity (Behaal et al. 2006; Beck et al. 2009) as is the case

with type 2 diabetes (Keenan et al. 2007; Silva et al. 2012). However, some promising results were found in an animal model of type 1 diabetes, showing that there may be benefits on glycemic control, and improvement in antioxidant profile (upregulation of SOD and CAT in liver and kidney), which plays an essential role in alleviating oxidative stress accompanying diabetes (Mihailovic et al. 2013). Although it was not the main goal of the present research, it was found that for plasmatic lipoproteins, doses between 3.0 and 6.0 g/individual/day for two to four weeks decreased levels of triglycerides (Kabir et al. 2002), total cholesterol (Reyna et al. 2003; Liatis et al. 2009), LDL cholesterol (Reyna et al. 2003), and also caused an increase in HDL-cholesterol (Kabir et al. 2002; Reyna et al. 2003) (Table 2). Improved lipid profile due to consumption of BGs is related to the increase in the conversion of cholesterol into bile acids, which promotes the reduction of cholesterol levels in the enterohepatic circulation (Chang et al. 2013). Another mechanism was shown by an *in vitro* study, where BGs inhibited the capture of long-chain fatty acids in intestinal tissue, principally when these substances were present in high concentrations (Drozdowska et al. 2010).

Besides, it was observed that the consumption of BGs caused a decrease in body mass in individuals with type 2 diabetes (significant results were observed for ingestion of doses superior to 3g/individual/day during a period of at least three weeks) (Reyna et al. 2003; Liatis et al. 2009). Again, it is suggested that since the fibers cause increased viscosity of the chyme, it slows the gastric emptying, causing the individual to have a satiety feeling leading to the consumption of less energy (Cloetens et al. 2012). Furthermore, it was found that doses between 4 and 6 grams of BG increased levels of pancreatic peptide hormone PYY (Beck et al. 2009). This hormone is related to satiety and brain signaling of satisfaction, playing an important role in the control of obesity (Huang et al. 2011).

Another relevant factor to be considered is related to the physicochemical characteristics of this polysaccharide, such as molecular weight, chemical conformation, solubility, viscosity and positioning its ramifications (Daou and Zhang 2012). With respect to the molecular weight, it is considered that BGs with high molecular weight such as those derived from oats have a higher viscosity, which provides additional health benefits (better glycemic control and levels of total

cholesterol and LDL-c) compared to fibers with lower molecular weight (El Khoury et al. 2012). Furthermore, it has been suggested that the functionality of BGs can be altered by their physical-chemical characteristics, whereas the conformation of polysaccharides β -1,3/1,4 (usually present in the composition from oats) tend to have greater metabolic potential (Queenan et al. 2007), while the conformation of β -1,3/1,6 tend to have higher potential immunological (Wang et al. 2008). However, both features play metabolic and immune activity (Vetvicka et al. 2007; Mantovani et al. 2008).

With respect to the immunostimulatory function, it is suggested that high molecular weight BGs from fungi directly activate leukocytes while the lower molecular weight only modulate the response of cells previously stimulated by cytokines (Volman et al. 2008). The stimulation of the immune response caused by BGs may be related to its binding on specific receptors that activate macrophages, which triggers various processes such as chemotaxis, macrophage migration, degranulation leading to increased expression of adhesive molecules and adhesion to the endothelium, in addition to increased activity of hydrolytic enzymes, signaling processes that activate other cells and secretion of cytokines

(Vetvicka et al. 2007). Thus, the consumption of BGs by diabetic patients may play an important role not only for glucose homeostasis as well as on the immune system.

Based on the results observed in the studies which were evaluated in the present review, BGs can be considered effective substances in improving glycaemic and lipid control in individuals with type 2 DM, with higher doses or lower doses for longer periods providing better results. Out of the 10 studies retrieved, 9 reported metabolic benefits. The only study which reported absence of effects was conducted in type 1 patients (Rami et al. 2001). This fact was expected since as discussed above, most of the effects of BG are more prone in the intestine reducing carbohydrates absorption. However, the effects of these fibres on humans with type 1 DM were not widely studied. It must be considered that it is difficult to evaluate the effects of BGs on those individuals, since they are often dependent on exogen insulin. Thus, it is suggested that studies using adjunctive therapy in patients with diabetes, both type 1 and type 2 BGs associated with the use of other agents as modulators of glucose, for example, regular physical activity, hypoglycemic and even lower doses insulin. Additionally, due to the inexistence of longitudinal studies

evaluating the consumption of these substances for years, it cannot be inferred that such consumption will not provoke deleterious effects.

Acknowledgments

The authors are grateful to Research Support Foundation of the State of Minas Gerais (FAPEMIG) and the National Council for Scientific and Technological Development (CNPq).

Declaration of Interests: The authors certify that they have no commercial or associative interest that represents a conflict of interest in connection with the manuscript.

References

Balducci S, Zanuso S, Nicolucci A *et al.* (2010) Anti-inflammatory effect of exercise training in subjects with type 2 diabetes and the metabolic syndrome is dependent on exercise modalities and independent of weight loss. *Nutr Metab Cardiovas* 20:608-617.

Beck EJ, Tapsell LC, Batterham MJ *et al.* (2009) Increases in peptide YY levels following oat β -glucan ingestion are dose-dependent in overweight adults. *Nutr Res* 29:705-709.

Behaal KM, Scholfield DJ & Hallfrisch JG (2006) Barley β -glucan reduces plasma glucose and insulin responses compared with resistant starch in men. *Nutr Res* 26:644-650.

Braaten JT, Scott FW, Wood PJ *et al.* (1994) High β -Glucan Oat Bran and Oat Gum Reduce Postprandial Blood Glucose and Insulin in Subjects With and Without Type 2 Diabetes. *Diabetic Med* 11:312-318.

Burton RA, Collins HM, Kibble NAJ *et al.* (2011) Over-expression of specific *HvCslF* cellulose synthase-like genes in transgenic barley increases the levels of cell wall (1,3;1,4)- β -D-glucans and alters their fine structure. *Plant Biotechnol J* 9:117-135.

Chang HC, Huang CN, Yeh DM *et al.* (2013). Oat Prevents Obesity and Abdominal Fat Distribution, and Improves Liver Function in Humans. *Plant Food Hum Nutr* 68:18-23.

Chen J & Raymond K (2008) Beta-glucans in the treatment of diabetes and associated cardiovascular risks. *Vasc Health Risk Manag* 4:1265-1272.

Cloetens L, Ulmius M, Johansson-Persson A *et al.* (2012) Role of dietary beta-glucans in the prevention of metabolic syndrome. *Nutr Rev* 70:444-458.

Cugnet-Anceau C, Nazare JA, Björklund M *et al.* (2010) A controlled study of consumption of β -glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects. *Br J Nutr* 103:422-428.

Dattani N & Jiang A (2009) The diabetic Pandemic: Globalization, Industrialization, and Type 2 Diabetes. *The Meducator* 1:12-15.

Daou C & Zhang H (2012) Oat Beta-Glucan: Its Role in Health Promotion and Prevention of Diseases. *Compr Rev Food Sci* 11:355-365.

Drozdowskia LA, Reimerb RA, Temellic F *et al.* (2010) β -Glucan extracts inhibit the in vitro intestinal uptake of long-chain fatty acids and cholesterol and down-regulate genes involved in lipogenesis and lipid transport in rats. *J Nutr Biochem* 21:695-701.

El Khoury D, Cuda C, Luhovyy BL *et al.* (2012) Beta glucan: Health benefits in obesity and metabolic syndrome. *J Nutr Metab* 2012:1-28.

Giacco R, Parillo M, Rivellese AA *et al.* (2000) Long-Term Dietary Treatment With Increased Amounts of Fiber-Rich Low-Glycemic Index Natural Foods Improves Blood Glucose Control and Reduces the Number of Hypoglycemic Events in Type 1 Diabetic Patients. *Diabetes Care* 23:1461-1466.

Huang XF, Yu Y, Beck EJ *et al.* (2011) Diet high in oat β -glucan activates the gut-hypothalamic (PYY3–36-NPY) axis and increases satiety in diet-induced obesity in mice. *Mol Nutr Food Res* 55:1118–1121.

Jadad AR, Moore RA, Carroll D *et al.* (1996) Assessing the Quality of Reports of Randomized Clinical Trials: Is Blinding Necessary? *Control Clin Trials* 17:1-12.

Jenkins AL, Jenkins DJA, Zdravkovic U *et al.* (2002) Depression of the Glycemic Index by High Levels of β -glucan Fibers in two Functional Foods tested in Type 2 Diabetes. *Eur J Clin Nutr* 56:622-628.

Jiménez-Cruz A, Turnbullb WH, Bacardi-Gascon M *et al.* (2004) A high-fiber, moderate-glycemic-index, Mexican style diet improves dyslipidemia in individuals with type 2 diabetes. *Nutr Res* 24:19-27.

Kabir M, Oppert JM, Vidal H *et al.* (2002) Four-Week Low-Glycemic index Breakfast With a Modest Amount of Soluble Fibers in Type 2 Diabetic Men. *Metabolism* 51:819-826.

Keenan JM, Goulson M, Shamliyan T *et al.* (2007) The effects of concentrated barley b-glucan on blood lipids in a population of hypercholesterolaemic men and women. *Br J Nutr* 97:1162-1168.

Kim H, Stote KS, Behall KM *et al.* (2009) Glucose and insulin responses to whole grain breakfasts varying in soluble fiber, β -glucan: A dose response study in obese women with increased risk for insulin resistance. *Eur J Nutr* 48:170-175.

Liatis S, Tsapogas P, Chala E *et al.* (2009) The consumption of bread enriched with betaglucan reduces LDL-cholesterol and improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 35:115-120.

Mantovani MS, Bellini MF, Angeli JPF *et al.* (2008) β -Glucans in promoting health: Prevention against mutation and cancer. *Mutat Res* 658:154-161.

Messier C, Awad N & Gagnon M (2004) The relationships between atherosclerosis, heart disease, type 2 diabetes and dementia. *Neurol Res* 26:567-572.

Mihailović M, Arambašić J, Uskoković A *et al.* (2013) β -Glucan administration to diabetic rats alleviates oxidative stress by lowering hyperglycaemia, decreasing non-enzymatic glycation and protein O-GlcNAcylation. *J Funct Foods* 5:1226-1234.

Paluch AE, Church TS & Blais SN (2011) Effect of an Intensive Exercise Intervention Strategy on Modifiable Cardiovascular Risk Factors in Subjects with Type 2 Diabetes Mellitus. *Curr Cardiovasc Risk Rep* 5:481-483.

Pereira UP, Oliveira DGS, Mesquita LR *et al.* (2011) Efficacy of *Staphylococcus aureus* vaccines for bovine mastitis: A systematic review. *Vet Microbiol* 24:117–124.

Pick ME, Hawrysh ZJ, Gee MI *et al.* (1996) Oat bran concentrate bread products improve long-term control of diabetes: a pilot study. *J Am Diet Assoc* 96:1254-1261.

Queenan KM, Stewart ML, Smith KN *et al.* (2007) Concentrated oat β -glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. *Nutr J* 26:1-

Qureshi AA, Sami SA & Khan FA (2002) Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II. *J Nutr Biochem* 3:175-187.

Rami B, Zidek T & Schober E (2001) Influence of a β -Glucan-Enriched Bedtime Snack on Nocturnal Blood Glucose Levels in Diabetic Children. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 32:34-36.

Reyna NY, Cano C, Bermúdez VJ *et al.* (2003) Sweeteners and Beta-Glucans Improve Metabolic and Anthropometrics Variables in Well Controlled Type 2 Diabetic Patients. *Am J Ther* 10:438- 443.

Roe ED, Pon NC, Hollander P *et al.* (2013) The ‘collateral benefits’ of noninsulin therapies for Type 2 diabetes. *Diabetes Manag* 3:145-160.

Seino Y, Nanjo K, Tajima N *et al.* 2010 Report of the Committee on the Classification and Diagnostic Criteria of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Investig* 55 (1):212-228.

Shimizu C, Kihara M, Aoe S *et al.* (2007) Effect of High β -Glucan Barley on Serum Cholesterol Concentrations and Visceral Fat Area in Japanese Men—A Randomized, Double-blinded, Placebo-controlled Trial. *Plant Foods Hum Nutr* 63:21-25.

Silva VO, Foureaux RC, Araujo TS *et al.* (2012) Effect of Probiotic Administration on the Immune Response: A Systematic Review of Experimental Models in Rats. *Braz Arch Biol Technol* 55:685-694. Somanah J, Aruoma OI, Gunness TK *et al.* (2012) Effects of a short term supplementation of a fermented papaya preparation on biomarkers of diabetes mellitus in a randomized Mauritian population. *Prev Med* 54:s90-s97.

Song Y, Sawamura M, Ikeda K *et al.* (2000) Soluble dietary fibre improves insulin sensitivity by increasing muscle GLUT-4 content in stroke-prone spontaneously hypertensive rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 27:41-45.

Tappy L, Gugolz E & Würsch P (1996) Effects of Breakfast Cereals Containing Various Amounts of β -Glucan Fibers on Plasma Glucose and Insulin Responses in NIDDM Subjects. *Diabetes Care* 19:831-834.

Tapola N, Karvonen H, Niskanen L *et al.* (2005) Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovas* 15:255-261.

Vetvicka V & Vetvickova J (2007) Physiological effects of different types of β -Glucan. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 151:225-231.

Volman JJ, Ramakers JD & Plat J (2008) Dietary modulation of immune function by β -glucans. *Physiol Behav* 94:276-284.

Wild S, Roglic G, Green A *et al.* (2004) Global Prevalence of Diabetes. *Diabetes Care* 27:1047-1053.

Wang Z, Guo Y, Yuan J *et al.* (2008) Effect of Dietary β -1,3/1,6-glucan Supplementation on Growth Performance, Immune Response and Plasma Prostaglandin E₂, Growth Hormone and Ghrelin in Weanling Piglets. *Asian-Aust J Anim Sci* 21:707-714.

Table 1: Scores for evaluation criteria.

| Authors | A | B | C | D | E | F | Total |
|--------------------------|---|---|---|---|---|---|-------|
| Cugnet-Anceau et al. [8] | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 12 |
| Liatis et al. [12] | 2 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 10 |
| Reyna et al. [14] | 2 | 1 | 2 | 1 | 2 | 2 | 10 |
| Kabir et al. [10] | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 2 | 9 |
| Pick et al. [28] | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 2 | 9 |
| Jenkins et al. [11] | 2 | 1 | 1 | 1 | 2 | 1 | 8 |
| Braaten et al. [23] | 1 | 1 | 2 | 1 | 2 | 1 | 8 |
| Tapola et al. [27] | 2 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 8 |
| Rami et al. [22] | 2 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 7 |
| Tappy et al. [26] | 1 | 1 | 2 | 1 | 1 | 1 | 7 |

(A) Randomized studies: 2 points; non-randomized studies: 1 point. (B) Blind evaluation: 2 points; absence of blind evaluation: 1 point. (C) Control group: 2 points; absence of control group: 1 point. (D) Use of placebos: 2 points; lack of placebos: 1 point. (E) Questionnaires about dietary habits: 2 points; non-use of questionnaires: 1 point. (F) Analysis of glycaemia and/or HbA1c and insulin levels: 1 point; additional variables such as total cholesterol, LDL-c, HDL-c, apolipoproteins, PPAR- γ , etc.: 2 points.

Table 2: Summary of the selected studies

| Author and year of publication | Control group | Average age of participants and type of DM. | N | Experimental period | Dose of beta-glucans | Parameters assessed | Principal effects of BGs |
|--------------------------------|---------------|---|---|---|---|--|------------------------------|
| Braaten et al. [23] | Yes | 55 years, with type 2 DM. | 21 CG: 7 men and 4 women EG: 7 men and 3 women. | Three sessions of one dose with an interval of at least 3 days between sessions. | 8.8g in oatmeal porridge. | Glycaemia and insulin. | ↓ postprandial PG and PI. |
| Cugnet-Anceau et al. [8] | Yes | 62 years, with type 2 DM. | 53 CG: 24 EG: 29. | Adaptation (both groups): 3 weeks consuming soup without BGs. Experimental Phase: - experimental group: 8 weeks consuming soup with BGs. - control group: 8 | 3.5g in soup which was consumed once per day. | PG, HDL-c, LDL-c, total cholesterol, TG, Apo-B, HbA1c, C-reactive protein. | ↓ TG |

| | | | | | | | |
|---------------------------|----|---------------------------------|------------------------------------|---|---|---|---|
| | | | | weeks consuming soup -without BGs. | | | |
| Jenkins et al. [11] | NC | 61 years, with type 2 DM. | 16 (10 men and six women) | Four weeks, consuming a test meal one time per week. | 7.3g in 50 g breakfast cereal 6.2g in the form of a 50g cereal bar. 3.7g in 50g of oat bread. | GI, palatability . | ↓ GI (> concentrat ion of BGs= < GI). |
| Kabir et al. [10] | No | 59 years, with type 2 DM. | 13 men. | Two periods of four weeks with 15 days between. | 3g in breakfast cereals and breads. | PG, PI, HDL-c, LDL-c, total cholesterol , TG, free fatty acids, Apo AI and Apo- B, HbA1c, Peroxisom e Proliferator - activated Receptor γ (PPAR γ), | ↓ PG peak, total cholesterol, Apo-B. ↑ quantity of RNA- m for leptin in abdominal adipose tissue. |

| | | | | | | | |
|--------------------|-----|---------------------------|---|--------------------------|-------------------------------------|--|---|
| Liatis et al. [12] | Yes | 63 years, with type 2 DM. | 41 volunteers . CG: 11 men and seven women. GE: 23 (12 men and 11 women). | Three weeks. | 3g in bread. | leptin, and CETP mRNAs. PG, HbA1c, TG, HDL-c, LDL-c, total cholesterol, PI, Homa-IR. Homeostasis model of β -insulin resistance (Homa-IR). | ↓ LDL-c, total cholesterol, fasting PI and Homa-IR. |
| Pick et al. [28] | Yes | 45 years, with type 2 DM. | Eight. | Two periods of 12 weeks. | 3g in bread or other baked goods. | PI, fasting PG, HbA1c, total cholesterol and HDL-c. | ↓ PG and IP curves, LDL-c and total cholesterol. |
| Rami et al. [22] | NC | 11 years, with type 1 DM. | 38 (18 boys and 20 girls). | 12 nights. | 1.8 g in biscuits or cereal bars. | PG and HbA1c. | No alterations |
| Reyna et al. [14] | Yes | 50 years, with type 2 DM. | 16 men | Four weeks. | 5.4g in bread and 10g in a biscuit. | BMI, PI, HDL-c, LDL-c, total cholesterol, TG, | ↓ BMI, PG, HbA1c. ↑ HDL |

| | | | | | | | |
|--------------------|---------------|---------------------------|----------------------------------|--|--|-------------------------|--|
| Tappy et al. [26] | Control meal. | 56 years, with type 2 DM. | Eight (seven men and one woman). | Four separate days. | Four, six or 8.4g in breakfast cereals. | HbA1c, PG, PI, HbA1c. | ↓ Postprandial PI. ↓ PG with ↑ dose of BGs. |
| Tapola et al. [27] | Control meal. | 66 years with type 2 DM. | 12 (7 men and 5 women). | Five different days (glucose tolerance test on each day) | 9.4 ; 4.6 and 3.0 g in glucose solutions . | Glucose tolerance test. | ↓ Postprandial PG and PG peak. |

Abbreviations: DM= Diabetes Mellitus; CG= Control Group; EG= Experimental Group; NC = not clear; PG= Plasma Glucose; PI= Plasma insulin; GI= Glycaemic Index; TG= Triglycerides; BMI= Body Mass Index. The evaluated variables which are not in the results column were not presented because they did not show significant differences.

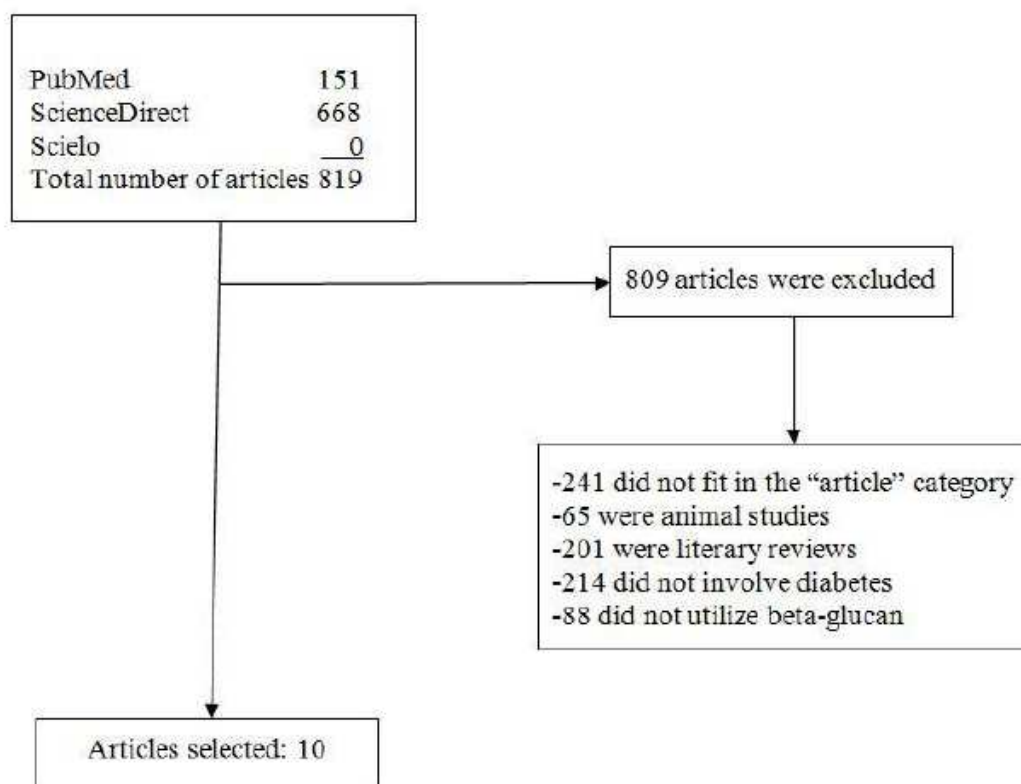


Figure 1 Flowchart of the article search process using the keywords “diabetes mellitus” and “beta-glucan” and “glycaemia” and “glucose” and “human”.

ARTIGO 2 Efeitos metabólicos do uso de β -glucanos (*Saccharomyces cerevisiae*) por via oral em ratos com diabetes induzido por estreptozotocina

Este artigo foi redigido de acordo com as normas para submissão na

British Journal of Nutrition.

**Efeitos metabólicos do uso de β -glucanos (*Saccharomyces cerevisiae*)
por via oral em ratos com diabetes induzido por estreptozotocina**

Beta-glucanos e diabetes

Raquel Vieira Lobato¹, Viviam de Oliveira Silva¹, Eric Francelino Andrade¹, Débora Ribeiro Orlando¹, Márcio Gilberto Zangerônimo¹, Raimundo Vicente de Souza¹, Luciano José Pereira¹.

¹ Departamento de Medicina Veterinária, Setor de Fisiologia e Farmacologia, Universidade Federal de Lavras, Câmpus Universitário, Caixa Postal 3037, CEP 37200-000, Lavras, Minas Gerais, Brasil.

Autor correspondente:

Prof. Dr. Luciano J. Pereira

DMV – Departamento de Medicina Veterinária

Universidade Federal de Lavras – UFLA

Caixa Postal 3037 – Campus Universitário

Phone: (55 35) 3829-5211

email: lucianojosepereira@ufla.br

Fax: (55 35) 3829 1715

Palavras-chave: Doença Metabólica, *Diabetes Mellitus*, polissacarídeo, glucanas.

RESUMO

Objetivou-se investigar o efeito da ingestão de BG de *Saccharomyces cerevisiae* na glicemia e perfil lipoprotéico de ratos diabéticos. Foram utilizados 24 ratos adultos da linhagem *Wistar*, distribuídos em delineamento inteiramente casualizado em 4 grupos em modelo fatorial 2x2 (com e sem diabetes; com e sem BG). A indução do *Diabetes Mellitus* foi realizada através de uma injeção intraperitoneal de 80mg/kg de estreptozocina (animais de jejum de quatro horas). Assim, animais com glicemia de jejum acima de 250mg/dl foram considerados diabéticos. Quarenta e oito horas após a indução, os roedores receberam doses diárias de 30 mg/Kg de BG ou solução salina por gavagem durante 28 dias. Os grupos com DM apresentaram glicemia maior que os grupos controle além de menor ganho de peso e maior consumo de ração, ingestão de água e volume urinário. Níveis de colesterol total (CT), LDL-c + VLDL-c, triacilgliceróis (TAG) e alanino aminotransferase (ALT) plasmáticos também foram superiores nos animais diabéticos ($p<0,05$), não havendo alterações nos níveis de HDL-c. A ingestão de BG reduziu as concentrações sanguíneas de glicose (30%), TAG (32%) e ALT (41%) ($p<0,05$). Não foram observadas alterações histopatológicas hepáticas em qualquer dos grupos. Adicionalmente, os animais diabéticos apresentaram aumento na relação vilosidade:cripta (V: C) no duodeno, sem interferência do BG. Não foram observadas alterações na carcaça entre os grupos. Conclui-se que o uso de BG reduziu significativamente os níveis de glicemia, TAG e ALT, mostrando seu potencial terapêutico.

Palavras-chave: Doença Metabólica, *Diabetes Mellitus*, polissacarídeo, glucanas.

INTRODUÇÃO

O diabetes *mellitus* (DM) é uma doença caracterizada pelo aumento da glicemia devido à regulação inadequada do metabolismo de carboidratos, proteínas e lipídios pelo hormônio pancreático insulina ^(1,2). Trata-se de um dos principais problemas de saúde pública mundial que vem se agravando rapidamente especialmente em países em desenvolvimento ^(3,4). Ademais, a maioria das complicações crônicas da doença é altamente incapacitante para a realização das atividades diárias e produtivas, comprometendo a qualidade de vida dos indivíduos acometidos ⁽⁵⁻⁷⁾.

A prevalência de portadores de diabetes estimada no ano de 2010 foi de 285 milhões de pessoas, representando 6,6% da população adulta no mundo, havendo previsão de aumento para 435 milhões até 2030 ⁽¹⁾.

As formas de tratamento do DM consistem em terapia nutricional, atividade física regular, insulinoaterapia e/ou uso de hipoglicemiantes orais, dependendo do tipo (I ou II) e estágio da doença ^(8,9). No entanto, os medicamentos empregados no tratamento podem apresentar efeitos adversos, como mal estar, fraqueza, diarreia e hipoglicemia, além de algumas inconveniências como aplicações diárias de insulina ⁽¹⁰⁾. Adicionalmente, o tratamento é extremamente oneroso para o sistema de saúde ⁽¹¹⁾. Desta forma, a investigação de novas alternativas para o tratamento da doença é altamente relevante ^(11,12).

Dentre as alternativas utilizadas no controle da glicemia, destacam-se os beta-glucanos (BG) ^(5-7,13,14). Estes são polímeros encontrados na parede celular de diferentes plantas e leveduras que tem

apresentado eficácia na redução das concentrações da glicose sanguínea, possivelmente pela sua capacidade de aumentar a viscosidade do conteúdo intestinal, formando uma barreira protetora, que retarda a absorção de carboidratos e lipídeos^(15,16).

Pesquisas sugerem ainda que os BG podem aumentar a sensibilidade à insulina e reduzir os níveis de colesterol, diminuindo os riscos de doenças cardiovasculares⁽¹⁷⁻²¹⁾. Além disso, acrescenta-se aos efeitos benéficos desse polímero, sua capacidade imunomodulatória contra infecções por bactérias quanto por protozoários^(22,23), com potentes efeitos sobre a imunidade inata e adaptativa, o que contribui também para suas propriedades anticancerígenas⁽²⁴⁻²⁶⁾.

A efetividade do consumo desse polissacarídeo por pacientes com DM é atribuída e dependente de sua massa molecular, conformação química, solubilidade, viscosidade e posicionamento de suas ramificações⁽²⁷⁾. Além disso, é importante ressaltar que a dose e o tempo de consumo dessa substância são fatores que podem determinar sua eficiência^(7,19). Os polissacarídeos de conformação β -1,3/1,4, característicos de plantas, tendem a diminuir o colesterol sanguíneo, a glicemia e os níveis de secreção de insulina, enquanto que os de conformação β -1,3/1,6, característicos de fungos, tendem a apresentar atividade antitumoral, antiviral, antimicrobiana e imunomodulatória^(13,28-31). Entretanto, ambas as estruturas químicas desempenham tanto atividade metabólica quanto imunológica^(29,32).

Desta forma, esses polímeros são utilizados como substâncias adjuvantes no tratamento de diversas síndromes, e também são importantes fontes de matéria prima para indústria farmacêutica⁽³³⁾. No

entanto, grande parte dos estudos pesquisam os efeitos hipoglicêmicos e hipolipidêmicos do consumo de BG proveniente de plantas ^(7,18-20,22,31,34,35), havendo uma escassez de estudos que investiguem parâmetros metabólicos e fisiológicos relacionados ao BG proveniente de leveduras ⁽²⁹⁾.

Assim, considerando o DM uma patologia multifatorial com característica crônica, objetivou-se com o presente estudo, avaliar os efeitos do BG proveniente do fungo *Saccharomyces cerevisiae*, administrado por via oral, sobre parâmetros metabólicos de ratos diabéticos.

MATERIAL E MÉTODOS

Animais

O presente projeto foi aprovado pela CEUA (Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Lavras), sob o protocolo 083/11 e estão de acordo com a Legislação Nacional vigente CONCEA (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal).

Um total de 24 ratos machos adultos (*Rattus norvegicus albinus*, *Wistar*), em estado hígido, com peso de aproximadamente $250 \pm 24,78$ g foi selecionado inicialmente. Os animais foram provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Lavras - UFLA. Posteriormente, os ratos foram submetidos a um período de nove dias de aclimação com o ambiente e equipe de execução do experimento. A sala foi climatizada a uma temperatura de 20-25°C e com ciclos de 12/12 horas claro-escuro.

Ração comercial e água foram fornecidas *ad libitum* durante todo o período experimental ⁽¹⁵⁾.

Após a semana de aclimação, os 30 animais foram divididos de forma aleatória de acordo com os grupos experimentais (Tabela 1). Foi utilizado um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 2x2 (diabéticos ou não, tratados e não tratados com BG), com seis repetições de um animal cada. Os animais foram acomodados em gaiolas metabólicas individuais para aferição do volume urinário, consumo de ração e consumo de água diário. Essas medidas foram obtidas de forma direta por pesagem e medidas de volume.

Protocolo experimental

Para a indução do *Diabetes Mellitus* experimental, 18 animais foram induzidos a jejum de quatro horas e receberam injeção intraperitoneal de 80 mg/kg de estreptozotocina ⁽³⁶⁾. Após 48 horas, foram coletadas amostras sanguíneas através da amputação da ponta da cauda para mensuração da glicemia (com jejum prévio de oito horas), que foi feita com glicosímetro Accu-Chek[®] da marca Roche (Roche Brasil, São Paulo, SP). Foram considerados diabéticos os animais com nível sérico de glicose de jejum acima de 250 mg/dL ⁽³⁷⁾. Os animais que não adquiriram diabetes foram anestesiados com 50 mg/kg de tiopental sódico e eutanasiados através de punção cardíaca.

Administração do β -glucano (BG)

O BG utilizado foi o extrato comercial da parede celular de *Saccharomyces cerevisiae*, em doses diárias de 30 mg/kg dissolvidas em

água destilada via oral por 28 dias ⁽³⁰⁾, ao passo que os animais dos grupos controle receberam solução salina, por igual período, administrados por gavagem em volumes iguais de 0,3 mL.

Ao final do período experimental os animais foram induzidos a jejum de oito horas e foram eutanasiados por punção cardíaca. Para este procedimento, os ratos foram anestesiados com 50 mg/kg de tiopental sódico via intraperitoneal. As amostras de sangue foram coletadas com seringa heparinizada e o plasma foi utilizado para determinação das concentrações de CT e frações, TAG e ALT, utilizando os Kits enzimáticos colorimétricos ⁽³⁸⁾. A figura 1 apresenta as etapas desenvolvidas no decorrer do período experimental.

Após punção cardíaca, os animais foram submetidos à abertura ampla da cavidade abdominal até a exposição dos órgãos internos. Foram então coletados pâncreas, fígado e fragmentos de cada segmento intestinal (duodeno, jejuno e íleo), os quais foram fixados em formaldeído a 10% tamponado e processados rotineiramente para confecção de cortes histológicos que foram corados com Hematoxilina-Eosina e analisados em microscopia óptica ⁽³⁹⁾.

Na avaliação histopatológica do pâncreas foram observados os aspectos de integridade das células das ilhotas de Langerhans, onde as lâminas de cada animal foram avaliadas e classificadas de acordo com o seguinte escore: (-) normal (número de células das ilhotas normais), (+) lesão leve (número de células das ilhotas levemente reduzidas, poucas células inflamatórias, citoplasma levemente aumentado), (++) lesão moderada (número de células das ilhotas moderadamente reduzidas, número moderado de células inflamatórias, citoplasma moderadamente

aumentado) e (+++) lesão grave (número de células das ilhotas gravemente reduzidas, elevado número de células inflamatórias, citoplasma gravemente aumentado) ⁽⁴⁰⁾. Adicionalmente, a análise histopatológica do fígado foi realizada para identificar possíveis lesões microscópicas neste órgão. Todas as análises histomorfométricas foram obtidas empregando-se um sistema de captura e análise de imagens, constituído por microscópio binocular Olympus CX31 (Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP) com câmera acoplada (SC30 CMOS Color Camera for Light Microscopy, Olympus Optical do Brasil Ltda, São Paulo, SP). As mensurações foram feitas utilizando-se o software Image-Pro[®] Express (Targetware Informática do Brasil Ltda, Água Branca, SP).

Dessa forma, nos cortes do intestino delgado, foi avaliada a relação entre a profundidade de criptas/altura de vilosidades. A altura de vilosidades foi definida como a distância vertical (μm) entre o topo da vilosidade e a junção vilosidade-cripta. A profundidade de criptas foi obtida pela mensuração da distância vertical da junção vilosidade-cripta até o limite inferior final da cripta. Em cada secção foram mensuradas dez distâncias para profundidade de cripta assim como para altura de vilosidades, e os valores obtidos para cada segmento (duodeno, jejuno ou íleo) de cada animal foram representados pela média de três secções histológicas ⁽⁴¹⁾.

Para avaliação de carcaça foi realizada a dissecação da pele e as vísceras foram removidas. As carcaças dos animais foram pesadas e secas para análise do extrato etéreo e proteína bruta. A porcentagem de gordura na carcaça foi obtida pelo método de Soxhlet e proteína pelo método de Kjeldahl ⁽⁴²⁾.

Análise Estatística

As análises estatísticas foram realizadas através de Análise de Variância (ANAVA) para comparação de médias entre os grupos estudados em modelo fatorial 2x2 (diabéticos ou não, tratados e não tratados com BG). Quando valores de F indicaram diferença significativa nas interações, estas foram desdobradas entre os fatores. As análises foram realizadas utilizando-se o programa estatístico SAS. O nível de significância foi fixado em $p < 0,05$.

Resultados

Os animais diabéticos apresentaram um aumento da glicemia em relação aos animais não diabéticos ($p < 0,05$). O uso do BG acarretou em redução da glicemia (30%) somente nos animais diabéticos, não havendo qualquer interferência nos níveis de glicose sanguínea nos animais controle (Figura 3).

Com relação ao consumo médio diário de ração, verificou-se que os animais diabéticos apresentaram um maior consumo alimentar em relação aos animais controle ($p < 0,05$), não havendo influência do tratamento oferecido. Já na avaliação do peso corporal, os resultados mostraram que os animais diabéticos perderam peso em relação aos animais não-diabéticos ($p < 0,05$), não havendo interferência do consumo de BG (Figura 2).

Quando avaliados ingestão de água e produção urinária, foi observado maior consumo de água e aumento no volume urinário dos animais diabéticos em relação aos não-diabéticos ($p < 0,05$). O uso do BG não interferiu nesses parâmetros (Figura 2).

Na análise dos parâmetros bioquímicos sanguíneos, foi observado aumento nos níveis de CT e de LDL-c + VLDL-c dos animais diabéticos ($p < 0,05$) em comparação aos animais saudáveis, sem melhora significativa com o uso do BG. Não foi observada alteração nos níveis de HDL-c (Figura 3). Com relação aos níveis de TAG séricos, os roedores induzidos ao DM, apresentaram aumento desse parâmetro em relação aos roedores não induzidos. O uso de BG provocou redução de TAG (32%) nos animais diabéticos ($p < 0,05$) (Figura 3). Já os níveis sanguíneos de Alanino aminotransferase (ALT) foram maiores nos animais diabéticos quando comparados aos saudáveis, sendo que BG também foi eficaz em sua redução (41%) nos animais induzidos ao DM (Figura 3).

Em relação a avaliação histopatológica, foi observado que os animais saudáveis tratados mantiveram as características histológicas de pâncreas e fígado inalteradas, sem indicação de lesão do tratamento. Entretanto, de acordo com os critérios de avaliação utilizados no presente estudo, os ratos induzidos ao DM por STZ demonstraram uma redução significativa na quantidade de ilhotas de Langerhans quando comparados aos animais normais (Figura 4) (Tabela 2). A análise histopatológica do fígado dos animais, não apresentou alterações microscópicas visíveis em qualquer dos grupos.

Na avaliação histomorfométrica das medidas intestinais, não foi observada diferença na relação V:C do jejuno e íleo. A relação V:C do duodeno foi maior nos animais diabéticos, sem influência do tratamento com BG (Figura 5).

Na análise química de carcaça, não foram observadas diferenças no percentual de proteína bruta, extrato etéreo e umidade nos animais

induzidos ao DM quando comparados aos animais saudáveis nem tampouco em decorrência do consumo de BG (figura 6).

Discussão

A indução ao DM através da STZ é um modelo experimental bem descrito, comumente utilizado para investigar os mecanismos da doença⁽⁴³⁾. No presente estudo, a indução de DM1 através da dose de 80mg/kg de STZ via intraperitoneal foi alcançada com sucesso, sendo que os animais induzidos apresentaram aumento da glicemia ($p < 0,05$) em relação aos roedores não induzidos pela droga. Conforme Tay et al⁽⁴⁴⁾, as vias intravenosa ou intraperitoneal são as mais eficazes e que apresenta maior reprodutibilidade e permanência da doença experimental. Adicionalmente, os autores supracitados sugerem que as células betas das ilhotas de Langerhans destes roedores são muito sensíveis aos efeitos tóxicos de STZ, de modo doses entre 40 a 80mg/kg dessa substância promovem os efeitos desejados.

A administração do BG exerceu um efeito benéfico no perfil glicêmico dos animais diabéticos, sendo observada uma redução nos níveis de glicose sanguínea destes animais. Tais resultados corroboram com os encontrados por Nantes et al⁽⁴⁵⁾, onde foi observado que o BG proveniente do fungo *Botryosphaeria rhodina* (MAMB) administrado a ratos diabéticos induzidos por dose de 50mg/kg de STZ, reduziu a glicemia dos animais diabéticos em 52% e 17%, respectivamente nas doses de 12 e 6 mg/Kg. Desta forma, a redução da glicemia frente ao uso do BG pode estar relacionada a sua capacidade de agir diretamente no

trato gastro-intestinal, formando uma camada de água, promovendo assim a redução da absorção de carboidratos e lipídeos.

A dose de 30mg/kg/dia de BG proveniente de *Saccharomyces cerevisiae* foi utilizada devido aos resultados benéficos encontrados na literatura sobre sua ação na modulação da resposta imune⁽⁴⁶⁻⁵⁰⁾. No entanto, de acordo com os resultados do presente estudo, as propriedades dos BG de leveduras vão além dos efeitos imunomodulatórios, já que houve uma melhora de 30% na glicemia dos animais diabéticos tratados com esse polímero. Assim, observa-se que os BG de leveduras possuem propriedades imunomodulatórias e metabólicas, podendo se tornar um grande aliado para pacientes diabéticos, visto que esses indivíduos apresentam, além da hiperglicemia, limitações no sistema imune.

A utilização do BG neste estudo não promoveu melhoras nas manifestações clínicas oriundas do DM que incluem sintomas como polifagia, poliúria, polidipsia e emagrecimento^(43,51). Contudo, apesar da redução de 30% da glicose sanguínea provocada pelo BG, os animais diabéticos ainda apresentavam glicemia alta (em média 366mg/dL), o que provavelmente explica a não remissão total dos sinais clínicos relatados.

No que diz respeito aos parâmetros sanguíneos bioquímicos observou-se que houve um aumento nos níveis de colesterol total (CT), LDL-c + VLDL-C e triacilgliceróis (TG), sem alteração no HDL-c, dos animais diabéticos em comparação com os animais normais. A utilização do BG se mostrou eficaz em reduzir apenas as concentrações sanguíneas de TAG (32%) dos roedores diabéticos. Tais resultados corroboram com os relatos de Nantes et al⁽⁴⁸⁾, onde foi observada ação hipolipidêmica do BG proveniente do fungo *Botryosphaeria rhodina* (MAMB), na dose de

2,4 mg/kg, em ratos Wistar alimentados com uma dieta rica em gordura, sem alteração no HDL-c.

Tais resultados diferem daqueles encontrados por Gao et al ⁽²¹⁾, onde o BG proveniente de cevada, administrado na dose de 200 mg/Kg reduziu os níveis de CT, TAG, LDL-c, que se mostraram elevados em animais diabéticos quando comparados aos normais. Neste estudo o BG promoveu também um aumento do HDL-c nos animais induzidos ao DM. Tal fato pode estar relacionado com a maior capacidade do BG de origem vegetal em diminuir a absorção e reabsorção de colesterol e ácidos biliares no intestino, além de inibir as enzimas lipogênicas responsáveis pela síntese do colesterol ⁽⁵²⁾. Ademais, foi comprovado que, *in vitro*, os BG podem inibir a captação de ácidos graxos de cadeia longa no intestino ^(14,16,53). Assim, sugere-se que a dose de BG fornecida (30 mg/Kg) no presente estudo possa ter sido limitada para promover efeitos hipolipidêmicos mais pronunciados.

Quanto à enzima hepática ALT houve um aumento dos níveis sanguíneos dessa transaminase nos animais induzidos ao DM, sendo que o BG foi eficaz na redução deste parâmetro (41% de redução), demonstrando assim, um efeito protetor hepático. Igualmente, Joo-Wan ⁽⁵⁴⁾, observaram um acréscimo de AST e ALT em ratas induzidas ao DM por STZ, onde o BG na dose de 200mg/kg, proveniente de aveia foi eficiente na redução desses parâmetros. Desta forma, sugere-se que a utilização de BG pode ser um aliado como protetor hepático já que tem sido observado, que a hiperglicemia grave pode contribuir para disfunção do fígado ⁽⁵⁰⁾.

Os resultados encontrados no presente estudo com relação às análises histológicas do pâncreas confirmam a ação diabetogênica da STZ, uma vez que o número de células das ilhotas foram severamente reduzidos. Em relação a histologia do fígado, não foi verificada qualquer tipo de alteração visível nos diferentes grupos. Assim, nenhum sinal de toxicidade foi detectado pelo uso desse polissacarídeo. Diferentes estudos sugerem que em animais de laboratório, tal substância quando administrada via oral, por um período curto (até quatro semanas), é inofensiva para o organismo, mesmo quando em grandes quantidades ⁽⁵⁵⁻⁵⁹⁾.

No que diz respeito à avaliação intestinal, foi observado aumento da relação vilosidade:cripta (V:C) no duodeno dos animais diabéticos. A substância utilizada no presente estudo não foi eficaz em reduzir esse parâmetro nestes animais. Adicionalmente, não foi observada diferença na relação V:C do jejuno nem íleo em qualquer dos grupos. A relação V:C é considerada um indicador da capacidade absorptiva no intestino delgado, sendo diretamente proporcional a eficiência de absorção de nutrientes ^(60,61). Estudos prévios ^(62,63) demonstraram também um aumento semelhante na altura de vilosidades e profundidade de criptas no intestino delgado de animais diabéticos. Desta forma, sugere-se que o aumento da relação V:C em animais induzidos ao DM seja uma mudança adaptativa compensatória do organismo em resposta a polifagia, em uma tentativa de manter quantidades suficientes de nutrientes ⁽⁶²⁾. No entanto, a dose de BG utilizada no presente estudo não foi capaz de promover uma remissão completa do quadro de DM (os animais apesar da redução significativa da glicemia ainda permaneceram diabéticos), de forma que

as adaptações intestinais persistiram mesmo devido ao decréscimo da glicemia.

Os resultados observados com relação aos parâmetros de análise química de carcaça corroboram com os encontrados por Lo et al ⁽⁶⁴⁾, onde o teor de proteína, gordura e água dos animais induzidos ao DM não apresentaram diferenças quando comparados aos animais controle. Entretanto, esperava-se que a quantidade de proteína e gordura corporal dos animais diabéticos fosse reduzida, uma vez que a deficiência de glicose no organismo promove um aumento na lipólise e proteólise, fazendo com que as reservas de lipídeo dos adipócitos, e aminoácidos dos músculos, sejam consumidos para gerar energia ⁽⁸⁾. Neste sentido, sugere-se que o período de 28 dias de experimentação possa não ter sido suficiente para promover alterações na carcaça.

CONCLUSÕES

O consumo diário de BG provenientes da parede celular de levedura na dose de 30 mg/Kg em ratos diabéticos, reduziu a glicemia (30%), níveis de triacilgliceróis (32%) e AST (41%). Assim, a utilização deste BG pode ser considerada como uma ferramenta auxiliar no controle metabólico de indivíduos diabéticos, não devendo ser indicada como terapia isolada.

Agradecimento

Os autores agradecem a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelos apoios concedidos

Declaração de Interesses: Os autores comprovam que não tem nenhum interesse comercial ou associativo que represente conflito de interesse em conexão com o manuscrito.

Autoria:

Raquel Vieira Lobato - realizou o trabalho, coletando, analisando e interpretando os dados e escrevendo o artigo.

Viviam de Oliveira Silva - realizou o trabalho, coletando, analisando e interpretando os dados.

Eric Francelino Andrade – realizou o trabalho, coletando, analisando e interpretando os dados.

Débora Ribeiro Orlando - realizou o trabalho, coletando, analisando e interpretando os dados.

Márcio Gilberto Zangerônimo – análises estatísticas e interpretação dos resultados.

Raimundo Vicente de Souza– análise e interpretação dos dados.

Luciano José Pereira – Mentor do projeto, responsável pela aquisição de financiamento e supervisão do trabalho.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Islan MS (2011). Effects of the aqueous extract of white tea (*Camellia sinensis*) in a streptozotocin-induced diabetes model of rats. *Phytomedicine* 19, 25-31.
2. Al-Maskari AY, Al-Maskari MY, Al-Sudairy, S (2011). Oral Manifestations and Complications of Diabetes Mellitus: A review. *Sultan Qaboos Univ Med J* 11, 179-86.
3. Malandrino N, Smith RJ (2011). Personalized medicine in diabetes. *Clinical Chemical* 52, 231- 40.
4. Barret T (2013). Type 2 diabetes mellitus: incidence, management and prognosis. *Paediatr Child Health* 23, 163-167.
5. Tapola N, Karvonen H, Niskanen L, *et al* (2005). Glycemic responses of oat bran products in type 2 diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 15, 255- 261.
6. Hinata M, Ono M, Midorikawa S, Nakanishi K (2007). Metabolic improvement of male prisoners with type 2 diabetes in Fukushima Prison Japan. *Diabetes Res Clin Pract* 77, 327–332.

7. Cugnet-aAnceau C, Nazare JA, Biorklund M, *et al* (2010). A controlled study of consumption of β -glucan-enriched soups for 2 months by type 2 diabetic free-living subjects. *Br J Nutr* 103, 422-428.
8. American Diabetes Association (2012). Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 35, 64-70.
9. Seino Y, Anjo K, Tajima N (2010). Report of the Committee on the Classification and Diagnostic Criteria of Diabetes Mellitus. *J Diabetes Investig* 1, 212-228.
10. Gan MJ, Neill AA, Haller MJ (2012). Type 1 Diabetes: Current Concepts in Epidemiology, Pathophysiology, Clinical Care, and Research. *Curr Probl Pediatr Adolesc Health Care* 42, 269-291.
11. Schalkwijk CG, Stehouwer CD (2005). Vascular complications in diabetes mellitus: the role of endothelial dysfunction. *Clin Sci (Lond)* 109, 143-59.
12. Kaushik G, Satya S, Khandelwal RK (2010). Commonly consumed Indian plant food materials in the management of diabetes mellitus. *Diabetes Metab Syndr* 4, 21-40.
13. Kim YW, Kim KH, Choi HJ, *et al* (2005). Anti-diabetic activity of beta-glucans and their enzymatically hydrolyzed oligosaccharides from *Agaricus blazei*. *Biotechnol Lett* 27, 483-487.

14. Rahar S, Swami G, Nagpal N, *et al* (2011). Preparation, characterization, and biological properties of β -glucans. *J Adv Pharm Technol Res* 2, 94-103.
15. De Paula AF, Sousa RV, Figueredo-Ribeiro RCL (2005). Hypoglycemic activity of polysaccharide fractions containing beta-glucans from extracts of *Rhynchelytrum repens* (Willd) C.E.Hubb. Poaceae. *Braz J Med Biol Res* 38, 885-893.
16. Wood PJ (2007). Cereal β -glucans in diet and health. *J Cereal Sci* 46, 230-238.
17. Jenkins AL, Jenkins DJA, Zdravkovic U, *et al* (2002). Depression of the Glycemic Index by High Levels of β -glucan Fibers in two Functional Foods tested in Type 2 Diabetes. *Eur J Clin Nutr* 56, 622-628.
18. Nicolosi R, Bell SJ, Bistrrian BR (1999). Plasma lipid changes after supplementation with β -glucan fiber from yeast. *Am J Clin Nutr* 70, 208–212.
19. Liatis S, Tsapogas P, Chala E, *et al* (2009). The consumption of bread enriched with betaglucan reduces LDL-cholesterol and improves insulin resistance in patients with type 2 diabetes. *Diabetes Metab* 35, 115-120.

20. Mayell M (2001). Maitake Extracts and Their Therapeutic Potential – A Review. *Altern Med Rev* 6, 48-60.
21. Gao R, Wang Y, Wu Z *et al* (2012). Interaction of Barley β -Glucan and Tea Polyphenols on Glucose Metabolism in Streptozotocin-Induced Diabetic Rats . *J Food Sci* 77, 128-133.
22. Estrada A, Yun CH, Vankessel A, *et al* (1997). Immunomodulatory activities of oat beta-glucan in vitro and in vivo. *Microbiol and Immunol* 41, 991-998.
23. Rice PJ, Elizabeth LA, Tammy O, *et al* (2005). Oral Delivery and Gastrointestinal Absorption of Soluble Glucans Stimulate Increased Resistance to Infectious Challenge. *J Pharmacol Exp Ther* 314, 1079-1086.
24. Masuda Y, Inoue H, Ohta, H, *et al* (2013). Oral administration of soluble β -glucans extracted from *Grifola frondosa* induces systemic antitumor immune response and decreases immunosuppression in tumor-bearing mice. *Int J Cancer* 133, 108-119.
25. Chen J, Seviour R (2007). Medicinal importance of fungal β -(1 \rightarrow 3) (1 \rightarrow 6)-glucans. *Mycol Res* 111, 635-652.

26. Chen J, Zhang XD, Jiang Z (2013). The Application of Fungal Beta-glucans for the Treatment of Colon Cancer. *Bentham Science* 13, 725-730.
27. Sonck E, Stuyven E, Goddeeris B, *et al* (2010). The effect of beta-glucans on porcine leukocytes. *Vet Immunol Immunopathol* 135, 199-207.
28. Akramienė D, Kondrotas A, Didziapetriene J, *et al* (2007). Effects of beta-glucans on the immune system. *Medicina (Kaunas)* 43, 597-606.
29. Vetvicka V (2011). Glucan-immunostimulant, adjuvant, potential drug. *World J Clin Oncology* 10, 115-119.
30. Hong L, Shuzhen G, Juncheng H, *et al* (2012). Hypoglycemic and hypolipidemic activities of MT₂-glucan and its effect on immune function of diabetic mice. *Carbohydrate Polymers* 89, 245-250.
31. Talbott S, Talbott JA, Talbott TL, *et al* (2013). β -Glucan supplementation, allergy symptoms, and quality of life in self-described ragweed allergy sufferers. *J Food Sci Nutr* 1, 90-101.
32. Lumaga RB, Azzali D, Fogliano V, *et al* (2012). Sugar and dietary fibre composition influence, by different hormonal response, the satiating capacity of a fruit-based and a β -glucan-enriched beverage. *Food Funct* 3, 67-75.

33. Lazaridou A, Biliaderis CG (2007). Molecular aspects of cereal beta-glucan functionality: physical properties technological applications and physiological effects. *J Cereal Sci* 46, 101-118.
34. Choi JS, Kim H, Jung MH, *et al* (2010). Consumption of barley beta-glucan ameliorates fatty liver and insulin resistance in mice fed a high-fat diet. *Mol Nutr Food Res* 54, 1004-1013.
35. Dong J, Cai F, Shen R, *et al* (2011). Hypoglycaemic effects and inhibitory effect on intestinal disaccharidases of oat beta-glucan in streptozotocin-induced diabetic mice. *Food Chem* 129, 1066-1071.
36. Hendarto H, Inoguchi T, Maeda Y, *et al* (2012). GLP-1 analog liraglutide protects against oxidative stress and albuminuria in streptozotocin-induced diabetic rats via protein kinase A-mediated inhibition of renal NAD(P)H oxidases. *Metabolism Clinical and Experimental* 61, 1422-1434.
37. Coskun O, Kanter M, Korkmaz A, *et al* (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and -cell damage in rat pancreas. *Pharmacol Res* 51, 117-123.
38. Amr AR, Abeer EEK (2011). Hypolipideimic and Hypocholestermic Effect of Pine Nuts in Rats Fed High Fat, Cholesterol-Diet. *WASJ* 15, 1667-1677.

39. Koskun O, Kanter M, Korkmaz A, *et al* (2005). Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and β -cell damage in rat pancreas. *Pharmacological Res* 51, 117-123.
40. Sharma AK, Bharti S, Kumar R, *et al* (2012). *Syzygium cumini* Ameliorates Insulin Resistance and β -Cell Dysfunction via Modulation of PPAR γ , Dyslipidemia, Oxidative Stress, and TNF- α in Type 2 Diabetic Rats. *J Pharmacol Sci* 119, 205 – 213.
41. Messora MR, Oliveira LFF, Foureaux RC, *et al* (2013). Probiotic Therapy Reduces Periodontal Tissue Destruction and Improves the Intestinal Morphology in Rats With Ligature- Induced Periodontitis. *J Periodontol*, in Press.
42. Aoac (Association of Official Analytical Chemistry) (2000). *Official Methods of Analysis*, 17th ed, Washington, D.C. USA,
43. Akbarzadeh A, Norouzian D, Mehrabi MR, *et al* (2007). Induction of diabetes by streptozotocin in rats. *Indian J Clin Biochem* 22, 60-64.
44. Tay YC, Wang Y, Kairaitis L, *et al* (2005). Can murine diabetic nephropathy be separated from superimposed acute renal failure? *Kidney Int* 68, 391–398.

45. Yuminamochi E, Koike T, Takeda K, Horiuchi I, *et al* (2007). Interleukin-12-and interferon-gamma-mediated natural killer cell activation by *Agaricus blazei* Murill. *Immunology* 121, 197-206.
46. Yap AT, Ng M-L (2003). Immunopotentiating properties of lentinan (1-3) b-D glucan extracted from culinary-medicinal Shiitake mushroom. *Int J Medicinal Mushoroom* 5, 19-39.
47. Ng MI, Yap AT (2002). Inhibition of human colon carcinoma development by lentinan from shitake mushroom (*Lentinus edodes*). *J Altern Complement Med* 8, 581-589.
48. Nantes CCBOM, Fonseca, EAI, Zaiz, CTBV, *et al* (2011). Hypoglycemic and Hypocholesterolemic effects of Botryosphaeran from *Botryosphaeria rhodina* MAMB-05 in Diabetes-Induced and Hyperlipidemia Conditions in Rats. *Mycobiology* 39, 187-193.
49. Queenan KM, Stewart ML, Smith JN, *et al.* (2007). Concentrated oat β -glucan, a fermentable fiber lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial. *Journal Nutrition* 26, 1-6.
50. Wang CS, Chang TT, Yao WJM, *et al* (2012). Impact of increasing alanine aminotransferase levels within normal range on incident diabetes. *J Formos Med Assoc* 111, 201- 208.

51. Szkudelski T (2001). The Mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B Cells of the Rat Pancreas – minireview. *Physiol Res* 50, 536-546.
52. Chang HC, Huang CN, Yeh DM, *et al* (2013). Oat Prevents Obesity and Abdominal Fat Distribution, and Improves Liver Function in Humans. *Plant Foods Hum Nutr* 68, 18-23.
53. Drozdowska LA, Reimerb RA, Temellic F, *et al* (2010). β -Glucan extracts inhibit the in vitro intestinal uptake of long-chain fatty acids and cholesterol and down-regulate genes involved in lipogenesis and lipid transport in rats. *J Nutr Biochem* 21, 695-701.
54. Joo-Wan K, Cho HR, Moon SB, *et al* (2012). Synergic Effects of Bitter Melon and β -Glucan Composition on STZInduced Rat Diabetes and Its Complications. *J Microbiol and Biotech* 22, 147–155.
55. Carmem GCM, Eleuterio BT, Andrés R.R., *et al* (2013). Anti-hyperglycemic effect, inhibition of inflammatory cytokines expression, and histopathology profile in streptozotocin-induced diabetic rats treated with *Arracacia toluensis* aerial-parts extracts. *J Ethnopharmacol* 27.
56. Delaney B, Carlson T, Frazer S, *et al* (2003). Evaluation of the toxicity of concentrated barley b-glucan in a 28-day feeding study in Wistar rats. *Food Chem Toxicol* 41, 477-487.

57. Jonker D, Hasselwander O, Wilo AT., *et al* (2010). 28-Day oral toxicity study in rats with high purity barley beta-glucan (GlucageI™). . *Food Chem Toxicol* 48, 422-428.
58. Chen SN, Nan FH, Chen S, *et al* (2011). Safety assessment of mushroom b-glucan: Subchronic toxicity in rodents and mutagenicity studies. *Food Chem Toxicol* 49, 2890–2898.
59. Turmina JA, Carraro E, Cunha MAA, *et al* (2012). Toxicological Assessment of β -(1 \rightarrow 6)-Glucan (Lasiodiplodan) in Mice during a 28-Day Feeding Study by Gavage. *Molecules* 17, 14298-14309.
60. Adibmoradi M, Navidshad B, Seifdavati J, *et al* (2006). Effect of dietary Garlic meal on histological structure of small intestine in broiler chickens *Poult Sci* 43, 378-383.
61. Yang H, Liu A, Zhang M, *et al* (2009). Oral administration of live Bifidobacterium substrains isolated from centenarians enhances intestinal function in mice. *Curr Microbiol* 59, 439-445.
62. Domènech A, Pasquinelli G, Giorgio R., *et al* (2011). Morphofunctional changes underlying intestinal dysmotility in diabetic RIP-IhIFN β transgenic mice. *Int J Exp Pathol* 92, 400-412.

63. Sukhotnik I, Shamir R, Bashenco Y., *et al* (2011). Effect of Oral Insulin on Diabetes-Induced Intestinal Mucosal Growth in Rats. *Dig Dis Sci* 56, 2566-2574.

64. Lo HC, Tu ST, Lin KC, *et al* (2004). The anti-hyperglycemic activity of the fruiting body of *Cordyceps* in diabetic rats induced by nicotinamide and streptozotocin. *Life Sci* 74, 2897–2908.

Tabela 1: Distribuição dos grupos experimentais.

Tabela 2: Pontuação das lâminas histológicas de pâncreas de cada animal.

Figura 1: Etapas do experimento

Figura 2: Parâmetros relativos a consumo alimentar, variação do peso corporal, consumo de água e excreção urinária de ratos diabéticos e não diabéticos, consumindo BG ou salina durante quatro semanas.

Figura 3: Parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratos diabéticos ou normais tratados ou não BG, durante quatro semanas.

Figura 4: Efeito do BG sobre a histologia do pâncreas de ratos diabéticos e não diabéticos por coloração HE (200 ×). (A) animais não diabéticos recebendo salina, (B) animais diabéticos recebendo salina, (C) animais

não diabéticos recebendo BG (30mg/kg), (D) animais diabéticos recebendo BG (30mg/kg).

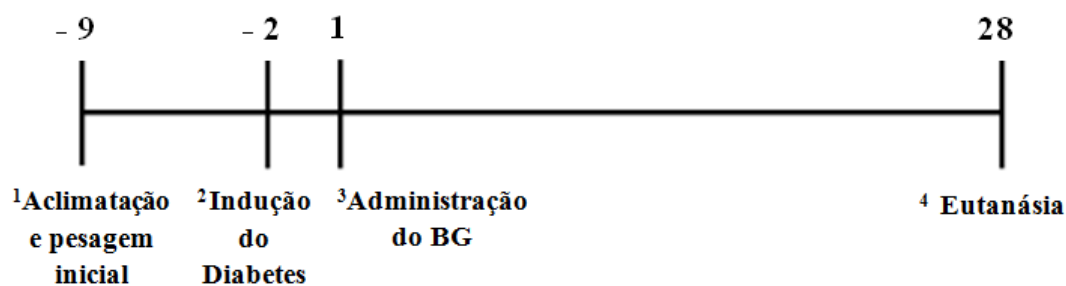
Figura 5: Relação vilosidade/cripta dos diferentes segmentos do intestino delgado de ratos normais e diabéticos tratados ou não com BG, durante quatro semanas.

Figura 6: Parâmetros de composição química corporal de ratos diabéticos e não diabéticos, tratados com BG ou salina, durante quatro semanas.

Tabela 1 Distribuição dos grupos experimentais.

| Grupos experimentais | Tratamentos |
|-----------------------------|--|
| G1 (n=6) | Não-diabéticos + solução salina |
| G2 (n=6) | Diabéticos + solução salina |
| G3 (n=6) | Não-diabéticos + solução de beta-glucano |
| G4 (n=6) | Diabéticos + solução de beta-glucano |

Solução de beta-glucano na dose de 30 mg Kg⁻¹ de peso corporal.



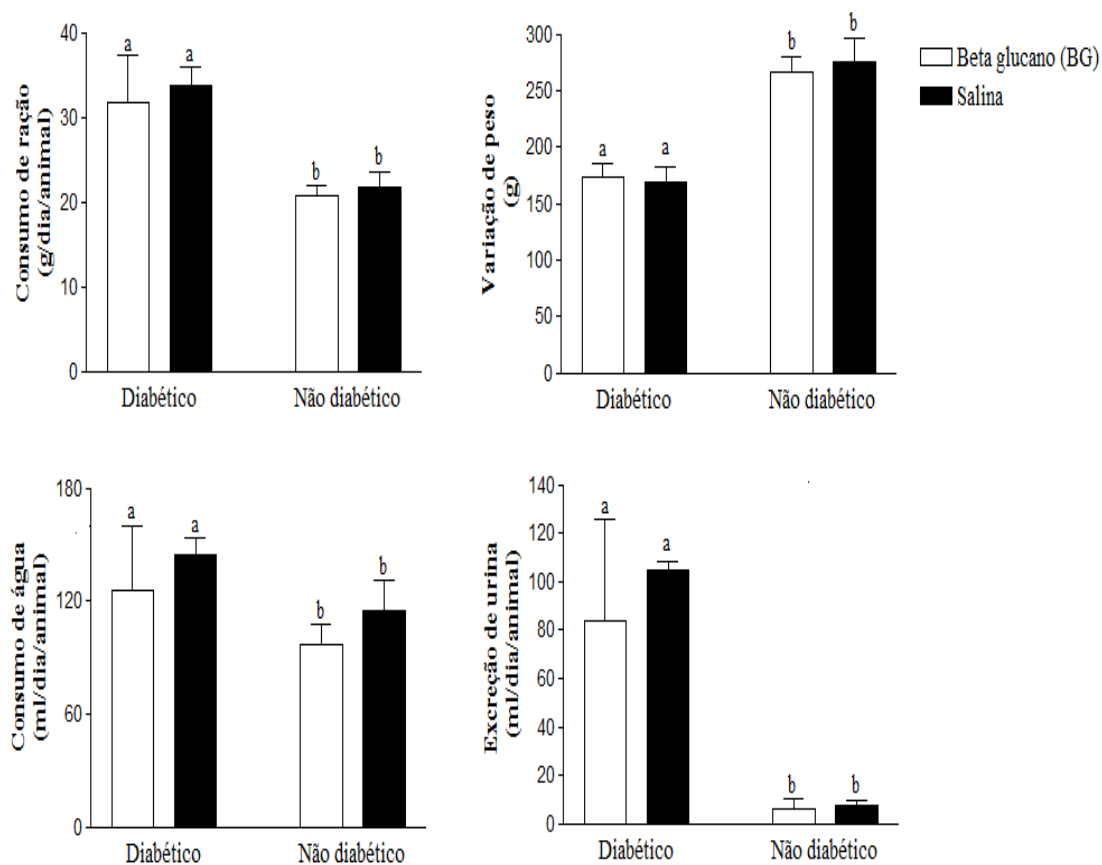
¹ Todos os animais foram acomodados em gaiolas metabólicas individuais e passaram por um período de nove dias de aclimação

² Para os animais dos grupos 2 e 4

³ Para os animais dos grupos 3 e 4

⁴ Coleta de sangue e tecidos

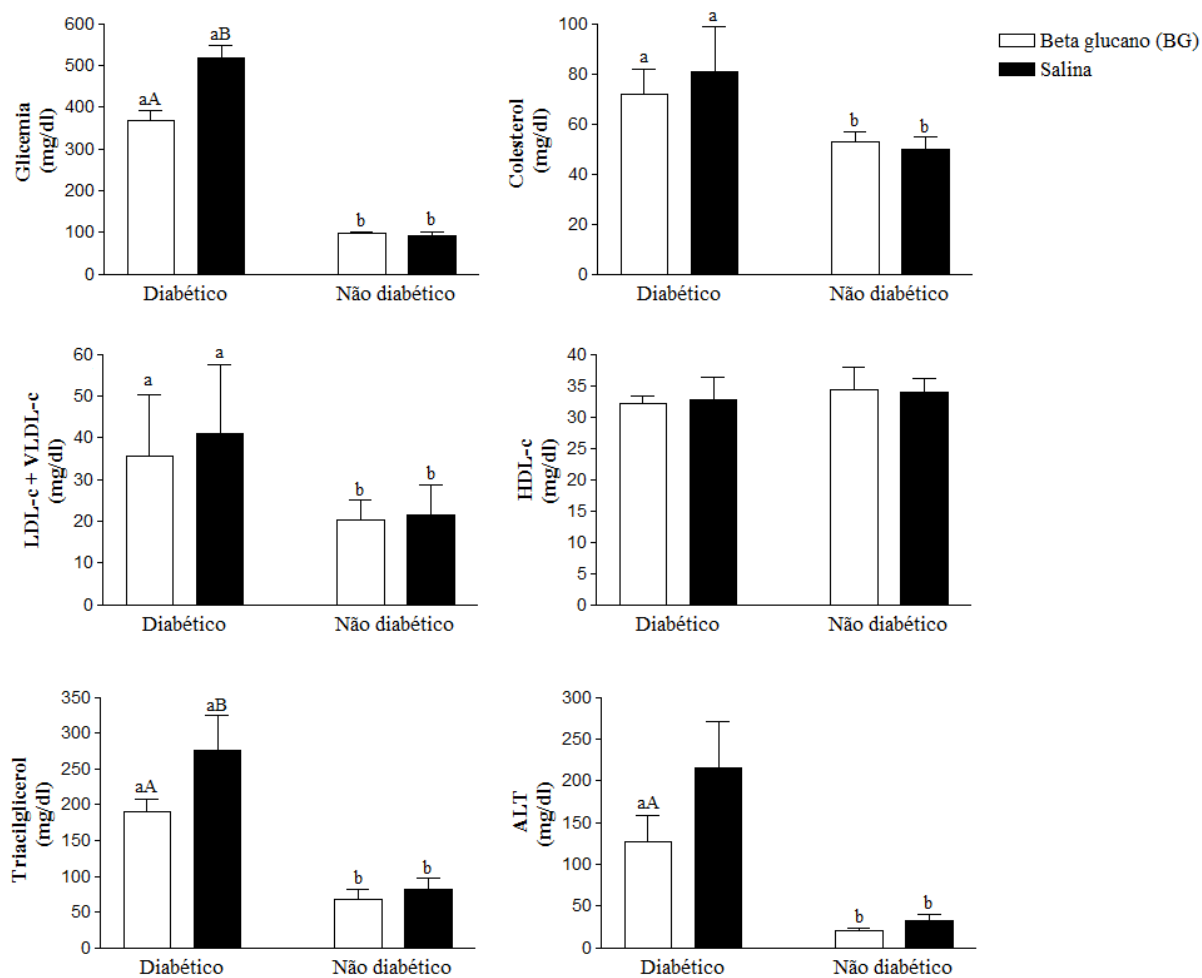
Figura 1 Etapas do experimento.



^{A,B} Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas se referem as diferenças entre os substratos (BG e salina), pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos (diabético e não-diabético), pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 2 Parâmetros relativos a consumo alimentar, variação do peso corporal, consumo de água e excreção urinária de ratos diabéticos e não diabéticos, consumindo BG ou salina durante quatro semanas.



^{A,B} Médias seguidas por diferentes letras maiúsculas se referem as diferenças entre os substratos (BG e salina), pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos (diabético e não-diabético), pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 3 Parâmetros bioquímicos sanguíneos de ratos diabéticos ou normais tratados ou não BG, durante quatro semanas.

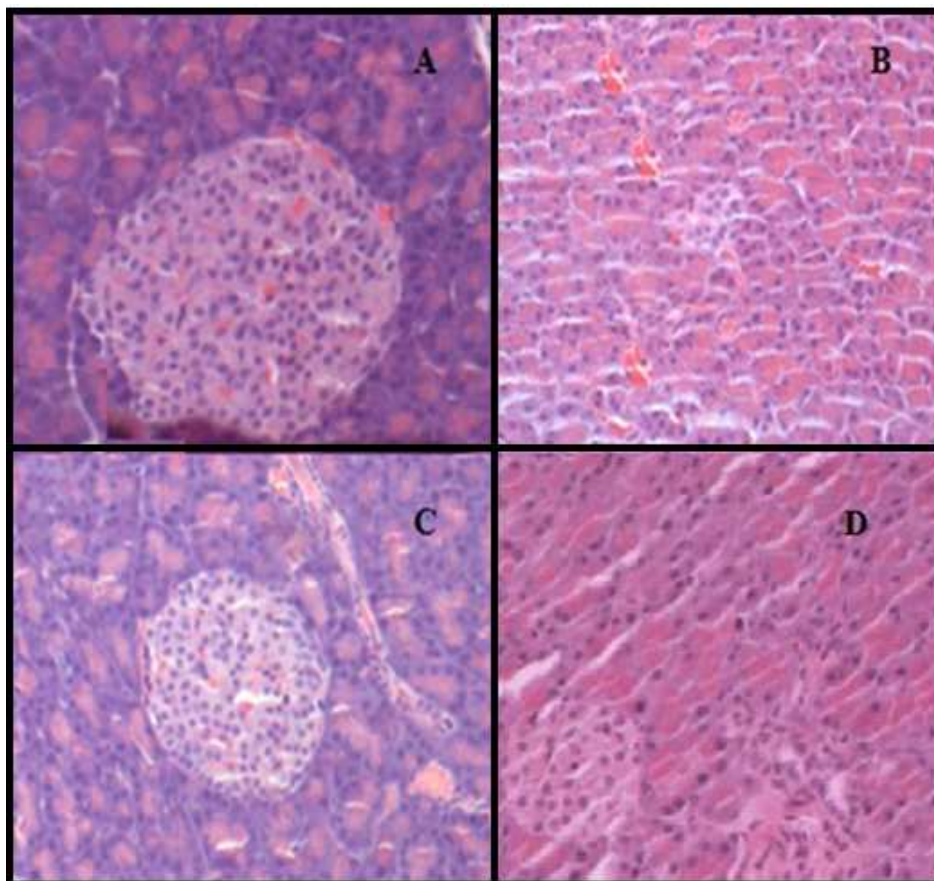
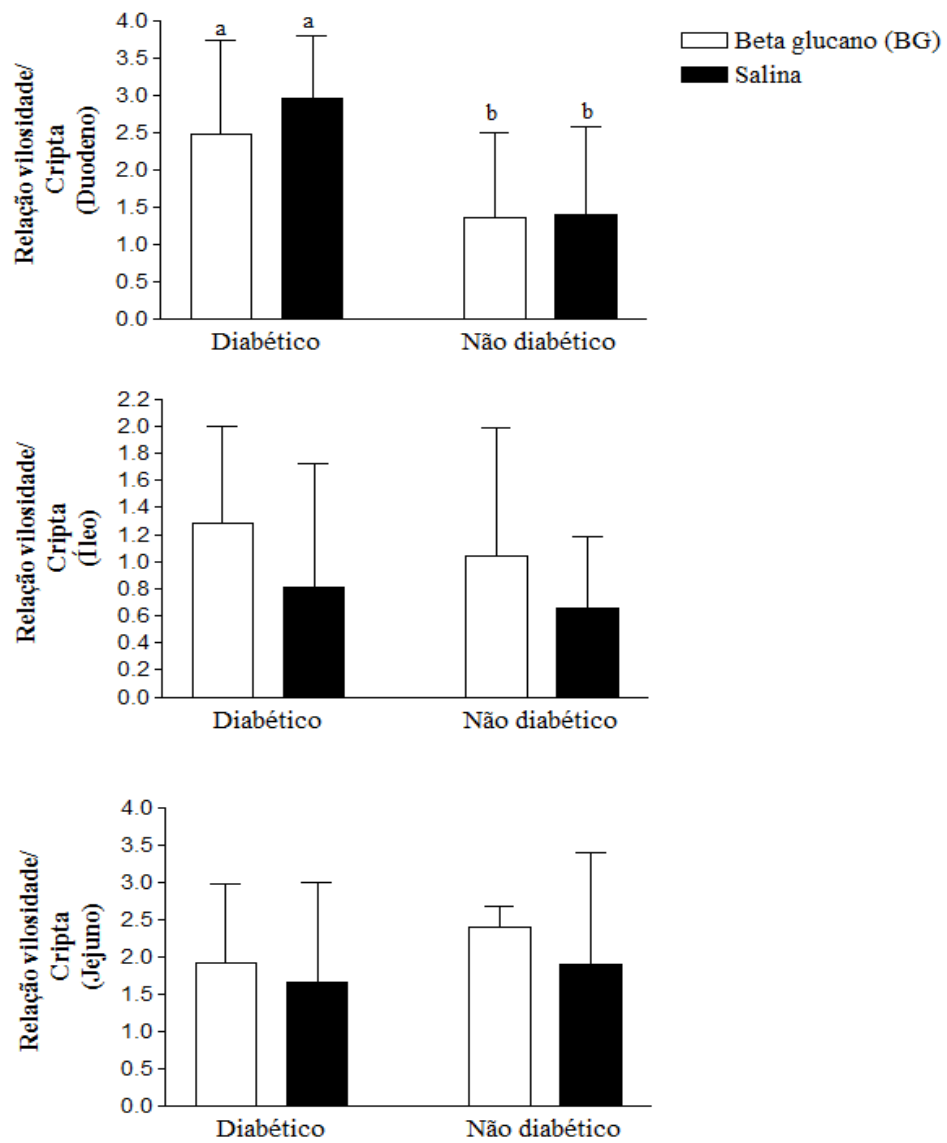


Figura 4 Efeito do BG sobre a histologia do pâncreas de ratos diabéticos e não diabéticos por coloração HE (200 ×). (A) animais não diabéticos recebendo salina, (B) animais diabéticos recebendo salina, (C) animais não diabéticos recebendo BG (30mg/kg), (D) animais diabéticos recebendo BG (30mg/kg).

Tabela 2 Pontuação das lâminas histológicas de pâncreas de cada animal de cada grupo.

| Grupo | Tratamento | Pontuação das lesões das células das ilhotas do pâncreas | | | | p<0,01 |
|-----------|------------|--|-----|------|-------|--------|
| | | (-) | (+) | (++) | (+++) | |
| Normal | Salina | 6 | 0 | 0 | 0 | A |
| Diabético | Salina | 0 | 1 | 3 | 2 | B |
| Normal | BG | 6 | 0 | 0 | 0 | A |
| Diabético | BG | 0 | 3 | 3 | 0 | B |

^{a,b}Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se diferem se referem as diferenças entre os grupos normais e diabéticos pelo teste Kruskal-wallis (p<0,01)



^{a,b} Médias seguidas por diferentes letras minúsculas se referem as diferenças entre os grupos (diabético e não-diabético), pelo teste Tukey ($p < 0,05$).

Figura 5 Relação vilosidade/cripta dos diferentes segmentos do intestino delgado de ratos normais e diabéticos tratados ou não com BG, durante quatro semanas.

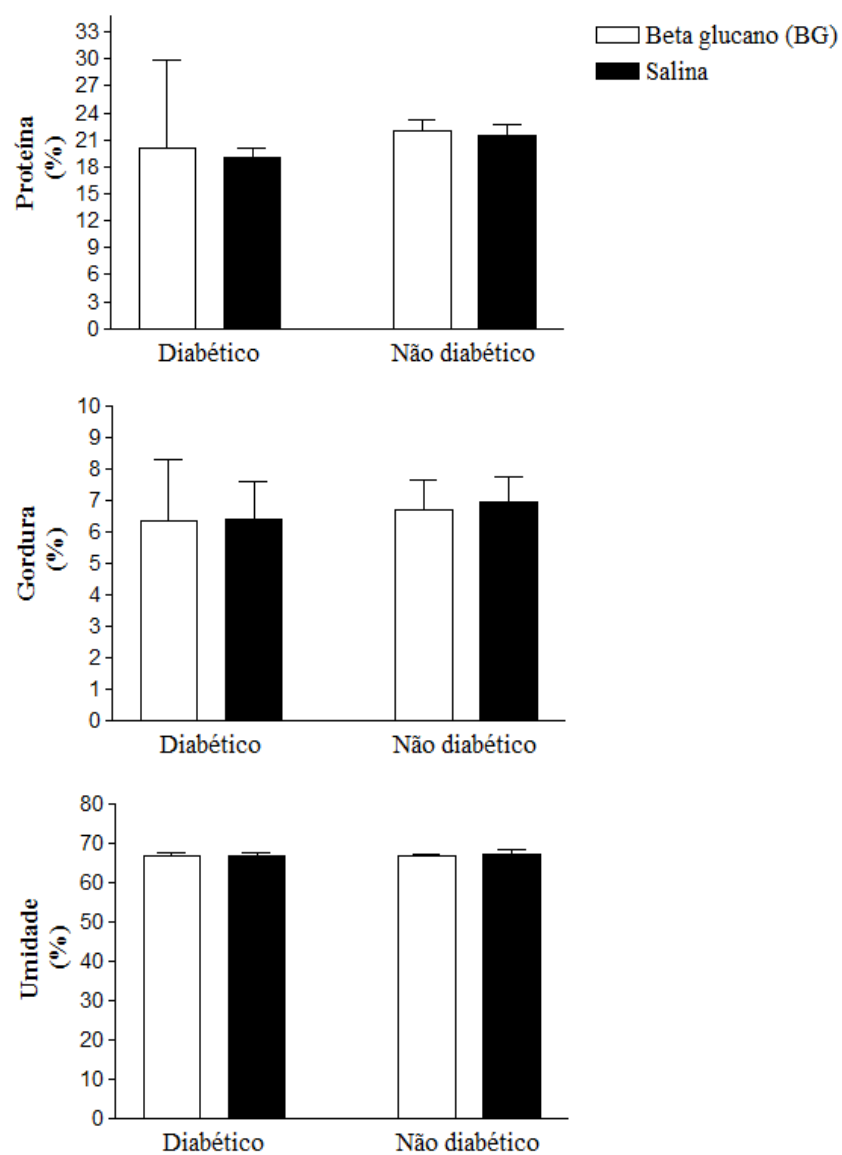


Figura 6 Parâmetros de composição química corporal de ratos diabéticos e não diabéticos, tratados com BG ou salina, durante quatro semanas.

3 COCLUSÕES FINAIS

A partir dos resultados observados nos estudos, conclui-se que os BG foram eficientes na atenuação dos efeitos indesejáveis do DM tanto em humanos quanto no protocolo experimental em ratos, sendo que variações quanto a fonte, dosagem e tipo de BG podem interferir nos resultados.

Assim, considera-se que estas fibras devem ser utilizadas como substâncias auxiliares no tratamento medicamentoso convencional do DM.

ANEXOS

Aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEAU) da Universidade

Federal de Lavras



UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA
COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS
Cx.P.3037 - Lavras - MG - 37200-000 - (35) 3829-5182 cba@nintec.ufla.br

CERTIFICADO

Certificamos que o **Protocolo nº 083/11**, relativo ao projeto intitulado **“Efeito do uso de β -glucanos na imunidade e controle glicêmico em ratos diabéticos submetidos à doença periodontal induzida por ligadura”**, que tem como responsável **Luciano José Pereira** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, adotados pela **Comissão de Ética no Uso de Animais (Comissões Permanentes/PRP-Ufla)**, tendo sido aprovado na reunião de 08/03/2012.

CERTIFICATE

We hereby certify that the **Protocol nº 083/11**, related to the project entitled **“Effect of the use of β -glucans in immunity and glyceemic control in diabetic rats submitted to ligature-induced periodontal disease”**, under the supervision of **Luciano José Pereira**, is in agreement with the Ethics Principles in Animal Experimentation, adopted by the **Bioethic Committee in Utilization of Animals (Comissões Permanentes/PRP-Ufla)**, and was approved in **March 08, 2012**.

Lavras, 08 de março de 2012.


Prof. Gabriela Rodrigues Sampaio
Presidente em exercício da Comissão de Ética no Uso de Animais CEUA

Universidade Federal de Lavras
Pró-Reitoria de Pesquisa /Comissões Permanentes
Campus Universitário -
Caixa Postal 3037 / CEP 37200 000 - Lavras, MG - Brasil
Tel.: +55 (35) 3829 5182
cba@nintec.ufla.br - www.prp.ufla.br

Laudo do beta-glucano

| | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|--|---|--|----------------------------------|----------|---------------------------|-----------|---------------------------|-----------|-------------------------------|------------|------------------------|---------|------------------|---------|------------------|-----|-------------------|-----|---------------|----|---------------|------|---------------------------|------|---------------------|----|--|-----|--------------------------------|-----|---|
|  | <p>DATA ATUAL 28/04/18</p> <p>DATA ANTERIOR 25/04/12</p> | <p>MacroGard®</p> <p>A D I T I V O P R E B I Ó T I C O</p> <p>B O L E T I M T É C N I C O</p> | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <p>Quantidade: 10.00</p> | <p>Descrição do Produto</p> <p>MacroGard® é um aditivo para alimentação animal rico em β-1,3/1,6-glucanos purificados extraídos de levedura <i>Saccharomyces cerevisiae</i> de uma cepa especialmente selecionada. É um pó fino, de cor bege a marrom clara, seco em spray-dryer.</p> <p>MacroGard® é processado com técnicas altamente avançadas e patenteadas, passando pela purificação necessária para lhe conferir alto teor de β-glucanos bio-ativos para a inclusão em rações e premixos. O produto é isento de material de origem animal.</p> <p>MacroGard® não é um "Organismo Geneticamente Modificado".</p> | <p>Características Microbiológicas*</p> <table border="0"> <tr> <td>Contagem Total em Placas UFC / g</td> <td>≤ 5.000</td> </tr> <tr> <td>Coliformes Totais NMP / g</td> <td>≤ 10</td> </tr> <tr> <td>Coliformes Fecais NMP / g</td> <td>Ausente</td> </tr> <tr> <td>Bactérias / Leveduras UFC / g</td> <td>≤ 100</td> </tr> <tr> <td><i>E. coli</i> NMP / g</td> <td>Ausente</td> </tr> <tr> <td>Salmonella / 25g</td> <td>Ausente</td> </tr> </table> <p>Embalagem</p> <p>Caixas de papéisito micro-onduado com revestimento interno de polietileno de 25 kg e big bags.</p> | Contagem Total em Placas UFC / g | ≤ 5.000 | Coliformes Totais NMP / g | ≤ 10 | Coliformes Fecais NMP / g | Ausente | Bactérias / Leveduras UFC / g | ≤ 100 | <i>E. coli</i> NMP / g | Ausente | Salmonella / 25g | Ausente | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Contagem Total em Placas UFC / g | ≤ 5.000 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Coliformes Totais NMP / g | ≤ 10 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Coliformes Fecais NMP / g | Ausente | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Bactérias / Leveduras UFC / g | ≤ 100 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <i>E. coli</i> NMP / g | Ausente | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Salmonella / 25g | Ausente | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| | <p>Características Físico-Químicas</p> <table border="0"> <tr> <td>*β-glucanos %</td> <td>Mín. 60,0</td> </tr> <tr> <td>*Proteína Bruta %</td> <td>Máx. 8,0</td> </tr> <tr> <td>pH (solução 2%)</td> <td>4,0 - 7,0</td> </tr> <tr> <td>*Cinzas g/100g</td> <td>Máx. 10,0</td> </tr> </table> <p>Distribuição do tamanho de partícula</p> <table border="0"> <tr> <td>Média</td> <td>41 μm</td> </tr> <tr> <td>< 20 μm</td> <td>19%</td> </tr> <tr> <td>20 - 50 μm</td> <td>48%</td> </tr> <tr> <td>50 - 100 μm</td> <td>29%</td> </tr> <tr> <td>100 - 200 μm</td> <td>10%</td> </tr> <tr> <td>> 200 μm</td> <td>0%</td> </tr> </table> <table border="0"> <tr> <td>Fluidez (seg)</td> <td>70,2</td> </tr> <tr> <td>Ângulo de repouso (graus)</td> <td>51,2</td> </tr> <tr> <td>Compressibilidade %</td> <td>37</td> </tr> <tr> <td>Capacidade de retenção de água (média)</td> <td>7,4</td> </tr> <tr> <td>Índice de solubilidade em água</td> <td>7,9</td> </tr> </table> | * β -glucanos % | Mín. 60,0 | *Proteína Bruta % | Máx. 8,0 | pH (solução 2%) | 4,0 - 7,0 | *Cinzas g/100g | Máx. 10,0 | Média | 41 μ m | < 20 μ m | 19% | 20 - 50 μ m | 48% | 50 - 100 μ m | 29% | 100 - 200 μ m | 10% | > 200 μ m | 0% | Fluidez (seg) | 70,2 | Ângulo de repouso (graus) | 51,2 | Compressibilidade % | 37 | Capacidade de retenção de água (média) | 7,4 | Índice de solubilidade em água | 7,9 | <p>Armazenagem</p> <p>Recomenda-se armazenar em local seco e ventilado, longe de pragas e longe de produtos químicos e odores fortes.</p> <p>Validade</p> <p>24 meses após data de fabricação.</p> <p>Certificações</p> <p>Sistema de Gestão da Qualidade certificado ISO9001:2008, HACCP, GMP+32 e ISO22000 - Segurança Alimentar - implementado.</p> |
| | * β -glucanos % | Mín. 60,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Proteína Bruta % | Máx. 8,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| pH (solução 2%) | 4,0 - 7,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| *Cinzas g/100g | Máx. 10,0 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Média | 41 μ m | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| < 20 μ m | 19% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 20 - 50 μ m | 48% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 50 - 100 μ m | 29% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| 100 - 200 μ m | 10% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| > 200 μ m | 0% | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Fluidez (seg) | 70,2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Ângulo de repouso (graus) | 51,2 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Compressibilidade % | 37 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Capacidade de retenção de água (média) | 7,4 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Índice de solubilidade em água | 7,9 | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | | |

TABELA 1 Análise de variância para glicose de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-------------|---------------|------------------------|------------|--------|
| DIABETES | 1 | 724190.041667 | 724190.041667 | 1661.336 | 0.0000 |
| GLUCANO | 1 | 31320.375000 | 31320.375000 | 71.851 | 0.0000 |
| DIAB*GLUC | 1 | 36426.041667 | 36426.041667 | 83.564 | 0.0000 |
| erro | 20 | | 8718.166667 | 435.908333 | |
| Total corrigido | 23 | 800654.625000 | | | |
| CV (%) = | 7.79 | | | | |
| Média geral: | 267.8750000 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 2 Análise de variância para consumo de ração de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|-------------|------------------------|--------|--------|
| DIABETES | 1 | 805.041667 | 805.041667 | 83.931 | 0.0000 |
| GLUCANO | 1 | 12.041667 | 12.041667 | 1.255 | 0.2758 |
| DIAB*GLUC | 1 | 2.041667 | 2.041667 | 0.213 | 0.6495 |
| erro | 20 | 191.833333 | 9.591667 | | |
| Total corrigido | 23 | 1010.958333 | | | |
| CV (%) = | 11.45 | | | | |
| Média geral: | 27.0416667 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 3 Análise de variância para variação de peso de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-------|--------------|--------------|--------|--------|
| DIABETES | 1 | 28773.375000 | 28773.375000 | 83.484 | 0.0000 |
| GLUCANO | 1 | 77.041667 | 77.041667 | 0.224 | 0.6415 |
| DIAB*GLUC | 1 | 360.375000 | 360.375000 | 1.046 | 0.3187 |
| erro | 20 | 6893.166667 | 344.658333 | | |
| Total corrigido | 23 | 36103.958333 | | | |
| CV (%) = | 55.35 | | | | |

Média geral: 220.833333 Número de observações: 24

TABELA 4 Análise de variância para ingestão de água de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-------------|------------------------|--------------|----------|--------|
| DIABETES | 1 | 9009.375000 | 9009.375000 | 9.377 0. | 0061 |
| GLUCANO | 1 | 495.041667 | 495.041667 | 0.515 | 0.4812 |
| DIAB*GLUC | 1 | 570.375000 | 570.375000 | 0.594 | 0.4500 |
| erro | 20 | 19215.833333 | 960.791667 | | |
| Total corrigido | | 23 | 29290.625000 | | |
| CV (%) = | 26.75 | | | | |
| Média geral: | 115.8750000 | Número de observações: | | 24 | |

TABELA 5 Análise de variância para volume urinário de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|------------------------|--------------|---------|--------|
| DIABETES | 1 | 51735.091837 | 51735.091837 | 531.908 | 0.0000 |
| GLUCANO | 1 | 90.287604 | 90.287604 | 0.928 | 0.3468 |
| DIAB*GLUC | 1 | 46.453838 | 46.453838 | 0.478 | 0.4975 |
| erro | 20 | 1945.263517 | 97.263176 | | |
| Total corrigido | | 23 | 53817.096796 | | |
| CV (%) = | 18.59 | | | | |
| Média geral: | 53.0454167 | Número de observações: | | 24 | |

TABELA 6 Análise de variância para colesterol total de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|------------------------|-------------|--------|--------|
| DIABETES | 1 | 3876.041667 | 3876.041667 | 34.776 | 0.0000 |
| GLUCANO | 1 | 63.375000 | 63.375000 | 0.569 | 0.4596 |
| DIAB*GLUC | 1 | 222.041667 | 222.041667 | 1.992 | 0.1735 |
| erro | 20 | 2229.166667 | 111.458333 | | |
| Total corrigido | | 23 | 6390.625000 | | |
| CV (%) = | 16.46 | | | | |
| Média geral: | 64.1250000 | Número de observações: | | 24 | |

TABELA 7 Análise de variância para HDL-c de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|-------------|------------------------|-----------|--------|
| DIABETES | 1 | 117.041667 | 117.041667 | 2.274 | 0.1472 |
| GLUCANO | 1 | 45.926667 | 45.926667 | 0.892 | 0.3561 |
| DIAB*GLUC | 1 | 58.906667 | 58.906667 | 1.145 | 0.2974 |
| erro | 20 | 1029.303333 | | 51.465167 | |
| Total corrigido | 23 | 1251.178333 | | | |
| CV (%) = | 22.52 | | | | |
| Média geral: | 31.8583333 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 8 Análise de variância para VLDL- c+ LDL-c de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|-------------|------------------------|--------|--------|
| DIABETES | 1 | 1818.300417 | 1818.300417 | 12.835 | 0.0019 |
| GLUCANO | 1 | 67.670417 | 67.670417 | 0.478 | 0.4974 |
| DIAB*GLUC | 1 | 28.383750 | 28.383750 | 0.200 | 0.6592 |
| erro | 20 | 2833.275000 | 141.663750 | | |
| Total corrigido | 23 | 4747.629583 | | | |
| CV (%) = | 40.31 | | | | |
| Média geral: | 29.5291667 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 9 Análise de variância para triacilglicerol de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-------------|---------------|------------------------|------------|--------|
| DIABETES | 1 | 150575.041667 | 150575.041667 | 197.232 | 0.0000 |
| GLUCANO | 1 | 14751.041667 | 14751.041667 | 19.322 | 0.0003 |
| DIAB*GLUC | 1 | 7526.041667 | 7526.041667 | 9.858 | 0.0052 |
| erro | 20 | 15268.833333 | | 763.441667 | |
| Total corrigido | 23 | 188120.958333 | | | |
| CV (%) = | 17.91 | | | | |
| Média geral: | 154.2916667 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 10 Análise de variância para ALT de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|---------------|------------------------|-------------|--------|
| DIABETES | 1 | 123984.375000 | 123984.375000 | 117.093 | 0.0000 |
| GLUCANO | 1 | 14751.041667 | 14751.041667 | 13.931 | 0.0013 |
| DIAB*GLUC | 1 | 8626.041667 | 8626.041667 | 8.147 | 0.0098 |
| erro | 20 | 21177.166667 | | 1058.858333 | |
| Total corrigido | 23 | 168538.625000 | | | |
| CV (%) = | 32.91 | | | | |
| Média geral: | 98.8750000 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 11 Análise de variância para relação V:C duodeno de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-----------|-----------|------------------------|-------|--------|
| DIABETES | 1 | 10.815704 | 10.815704 | 8.711 | 0.0079 |
| GLUCANO | 1 | 0.403588 | 0.403588 | 0.325 | 0.5749 |
| DIAB*GLUC | 1 | 0.311282 | 0.311282 | 0.251 | 0.6220 |
| erro | 20 | 24.831100 | 1.241555 | | |
| Total corrigido | 23 | 36.361673 | | | |
| CV (%) = | 54.43 | | | | |
| Média geral: | 2.0470754 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 12 Análise de variância para relação V:C jejuno de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-----------|-----------|------------------------|-------|--------|
| DIABETES | 1 | 0.739943 | 0.739943 | 0.564 | 0.4615 |
| GLUCANO | 1 | 0.869481 | 0.869481 | 0.662 | 0.4253 |
| DIAB*GLUC | 1 | 0.089024 | 0.089024 | 0.068 | 0.7972 |
| erro | 20 | 26.250282 | 1.312514 | | |
| Total corrigido | 23 | 27.948730 | | | |
| CV (%) = | 58.16 | | | | |
| Média geral: | 1.9697208 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 13 Análise de variância para relação V:C fêo de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-----------|-----------|------------------------|-------|--------|
| DIABETES | 1 | 0.215719 | 0.215719 | 0.344 | 0.5642 |
| GLUCANO | 1 | 1.068960 | 1.068960 | 1.704 | 0.2066 |
| DIAB*GLUC | 1 | 0.011755 | 0.011755 | 0.019 | 0.8925 |
| erro | 20 | 12.549213 | 0.627461 | | |
| Total corrigido | 23 | 13.845648 | | | |
| CV (%) = | 83.19 | | | | |
| Média geral: | 0.9521867 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 14 Análise de variância para proteína da carcaça de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|------------------|------------|------------|------------------------|-------|--------|
| DIABETES | 1 | 27.392067 | 27.392067 | 1.064 | 0.3145 |
| GLUCANO | 1 | 2.706817 | 2.706817 | 0.105 | 0.7491 |
| DIAB*GLUC | 1 | 0.248067 | 0.248067 | 0.010 | 0.9228 |
| erro | 20 | 514.695833 | 25.734792 | | |
| -Total corrigido | 23 | 545.042783 | | | |
| CV (%) = | 24.62 | | | | |
| Média geral: | 20.6091667 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 15 Análise de variância para extrato etéreo da carcaça de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|-----------|-----------|------------------------|----------|--------|
| DIABETES | 1 | 1.284090 | 1.284090 | 0.764 | 0.3923 |
| GLUCANO | 1 | 0.142399 | 0.142399 | 0.085 | 0.7739 |
| DIAB*GLUC | 1 | 0.058902 | 0.058902 | 0.035 | 0.8533 |
| erro | 20 | | 33.596891 | 1.679845 | |
| Total corrigido | 23 | 35.082282 | | | |
| CV (%) = | 19.66 | | | | |
| Média geral: | 6.5918979 | | Número de observações: | 24 | |

TABELA 16 Análise de variância para umidade da carcaça de ratos diabéticos e não-diabéticos tratados com solução salina, ou beta-glucano.

| FV | GL | SQ | QM | Fc | Pr>Fc |
|-----------------|------------|-----------|-----------|------------------------|----------|
| DIABETES | 1 | 0.134778 | 0.134778 | 0.146 | 0.7064 |
| GLUCANO | 1 | 0.000011 | 0.000011 | 0.000 | 0.9973 |
| DIAB*GLUC | 1 | 0.511988 | 0.511988 | 0.555 | 0.4650 |
| erro | 20 | | 18.457448 | | 0.922872 |
| Total corrigido | 23 | 19.104226 | | | |
| CV (%) = | 1.44 | | | | |
| Média geral: | 66.7327184 | | | Número de observações: | 24 |

