

Văruț Renata-Maria

Văruț Renata-Maria

**ANALIZA FIZICO-CHIMICĂ ȘI FARMACOLOGICĂ A
UNOR PLANTE CU POTENȚIAL HIPOGLICEMIANȚ**



**Editura Universitaria
Craiova, 2017**

Referenți științifici:

Prof.univ.dr. Liviu Chirigiu

Prof.univ.dr. Jony Neamțu

Cof.univ.dr. Luciana –Teodora Rotaru

Copyright © 2017 Universitaria

Toate drepturile sunt rezervate Editurii Universitaria

Descrierea CIP a Bibliotecii Naționale a României

VĂRUȚ, RENATA-MARIA Analiza fizico-chimică și
farmacologică a unor plante cu potențial hipoglicemiant /

Văruț Renata-Maria - Craiova: Universitaria, 2017 Conține
bibliografie

ISBN 978-606-14-1209-9

66

LISTĂ ABREVIERI

ABH	-	<i>Acanthi balcanici herba</i>
AGE	-	produși finali de glicozilare avansată
ALE	-	produși finali de lipoxidare avansată
APFC	-	acid polifenolcarboxilic
ATP	-	adenozin trifosfat
CAF	-	<i>Cardui acanthoiditis folium</i>
CMH	-	complex major de histocompatibilitate
CSS	-	cromatografie pe strat subțire
DFBOA	-	difenilboriloxietilendiamină
DPH	-	<i>Dorycnii pentaphylli herba</i>
DZ	-	diabet zaharat
GAE	-	acid galic
GLUT	-	transportor al glucozei
GPx	-	glutation peroxidaza
Gr	-	glutation reductaza
GST	-	glutation-S-tranferaza
HBA1C	-	hemoglobină glicozilată
HDL	-	high-density lipoprotein (lipoproteine cu densitate crescută)
HLA	-	human leucocyte antigens (antigene leucocitare umane)
HPLC	-	cromatografie de lichide de înaltă presiune/performanță
IAA	-	anticorpi antiinsulină
ICA	-	anticorpi anti-celule insulare
IGF	-	factor de creștere insulin-like
IL	-	interleukina
IMC	-	indice de masă corporală
LDL	-	low-density lipoprotein (lipoproteine cu densitate mică)
MDA	-	malondialdehida
M-fol.	-	<i>Myrtilli folium</i>
M-fr.	-	<i>Myrtilli fructus</i>
MHCP	-	metilhidroxi-calcon polimer
NAD	-	nicotinamid adenin dinucleotid
NF-kB	-	factor nuclear kappa-al lanțului ușor-potențator de celule B activate
OMS	-	Organizația Mondială a Sănătății
POL	-	peroxizi lipidici
PPAR	-	receptori activatori ai proliferării peroxizomilor
QE	-	quercetolul
ROS	-	specii reactive ale oxigenului
S.R.	-	substanță de referință
SGLT	-	transportor al glucozei dependent de sodiu
SOD	-	superoxid dismutaza
TC	-	colesterol total
TG	-	trigliceride
TPF	-	<i>Tragoponis pratensis folium</i>
TRFF	-	<i>Tamaricis ramosissimae folium et flos</i>
TTGO	-	test de toleranță la glucoză orală
VLDL	-	very-low-density lipoprotein (lipoproteine cu densitate foarte mică)

INTRODUCERE

Diabetul zaharat este cea mai frecventă boală metabolică, cu o prevalență și o incidență în continuă expansiune, care duce la invaliditate precoce și la o mortalitate ridicată, ocupând ca frecvență și gravitate locul trei în lume, după afecțiunile cardiovasculare și oncologice [1]. S-a estimat că aproximativ 6,6% din populația globului este diagnosticată cu diabet zaharat, iar pentru monitorizarea și tratarea afecțiunii se consumă peste 10 % din resursele alocate pentru sănătate [2]. Numărul persoanelor care suferă de diabet este în continuă creștere la nivel mondial, triplându-se în ultimii treizeci de ani: în anul 2000 erau diagnosticați 171 de milioane, în anul 2011 existau 347 milioane și se estimează că în anul 2030 vor fi peste 550 de milioane de persoane diabetice [3].

În România, incidența diabetului zaharat de tip 1 este de 5 cazuri la 100.000 locuitori pe an, însă multe persoane suferă de prediabet, ce va evolua spre diabet zaharat manifest în lipsa unui regim igienodietetic corect, ce presupune alimentație echilibrată și activitate fizică regulată [4].

În cadrul apariției diabetului zaharat de tip 1 este incriminat un proces autoimun, cu implicarea limfocitelor T și producerea distrucției celulelor β -pancreatice. Simptomele diabetului zaharat de tip 1 debutează rapid și se manifestă prin poliurie, polifagie, polidipsie, scădere în greutate, fatigabilitate, în lipsa unei conduite terapeutice corecte putând apărea cetoacidoză și comă [5]. Factorii de risc ce predispon la apariția DZ tip 1 sunt pe de o parte factorii ereditari, dar și factorii de mediu: prezența unor haplotipuri HLA diabetogene, infecțiile virale (virusul parotiditei acute epidemice, virusul Coxsackie B4, retrovirusuri, virusul rubeolei, virusul citomegalic, virusul Epstein-Barr).

Diabetul zaharat de tip 2 apare din cauza insulinorezistenței, cauzată de modificarea receptorului insulinic de pe membrana celulară și secreției scăzute de insulină. Diabetul zaharat de tip 2 are evoluție lentă; persoanele ce prezintă o homeostazie alterată a glucozei pot fi mult timp asimptomatice. Factorii favorizanți care pot declanșa apariția diabetului zaharat de tip 2 includ: sedentarismul, aportul caloric crescut, lipemia (valori crescute ale colesterolului și trigliceridelor), valori ridicate ale presiunii arteriale, obezitatea cu IMC crescut [5]. Țesutul adipos la pacienții obezi se caracterizează prin hipertrofia adipocitelor și prezența infiltratelor macrofage inflamatorii

și a limfocitelor. Acest fenomen duce la producerea accentuată de adipokine pro-inflamatorii și vasoconstrictoare, inducând disfuncție endotelială și inflamație vasculară. Astfel, se poate considera că obezitatea promovează producerea de factori pro-inflamatori, ce sunt implicați în patogeneza rezistenței la insulină [6].

Hiperglicemia cronică susținută produce stres oxidativ, caracterizat printr-un dezechilibru al balanței speciilor oxidante față de antioxidanți în favoarea speciilor reactive ale oxigenului (radicalii hidroxil, superoxid, oxigenul singlet). Deși reacțiile de oxidare sunt cruciale în desfășurarea vieții, ele pot fi foarte dăunătoare, dar organismul uman posedă sisteme complexe de antioxidanți, cum ar fi glutathionul, enzime (catalaza, superoxid dismutaza și diverse peroxidaze). Nivelurile insuficiente de antioxidanți, sau inhibarea enzimelor antioxidante, provoacă stres oxidativ și pot deteriora sau distruge celulele organismului [7].

Tratamentul actual al diabetului zaharat se face gradual, în funcție de severitatea afecțiunii: regim igienico-dietetic (dietă echilibrată ce presupune consumul de alimente cu indice glicemic scăzut, activitate sportivă regulată), tratament fitoterapeutic, tratament farmacologic cu antidiabetice orale sau insulină injectabilă [8].

Fitoterapia și-a dovedit eficacitatea în tratarea multor afecțiuni. Cercetările *in vivo* și *in vitro* ale produselor vegetale au condus la concluzia că numeroase plante prezintă proprietăți terapeutice hipoglicemizante importante, fiind unanim recunoscute și acceptate în terapia curentă a diabetului zaharat. În urma corelării proprietăților hipoglicemizante cu compoziția chimică s-a ajuns la concluzia că anumite componente determină efectul terapeutic, ce aparțin mai multor categorii structurale: acizi polifenolcarboxilici, antocianozide, carotenoide, ulei volatil, triterpene, tioheterozide, tanin, steroli, saponozide triterpenice, proantocianidoli, principii amare, flavonoide, cumarine. Mecanismele de acțiune prin care un fitocomplex își poate exercita proprietățile hipoglicemizante sau antioxidante sunt următoarele: regenerarea și stimularea celulelor β -pancreatice, efectul insulino-mimetic, scăderea absorbției intestinale a glucozei, scăderea reabsorbției renale a glucozei, descreșterea gluconeogenezei și creșterea utilizării periferice a glucozei, influențarea metabolismului hepatic al glucozei, ameliorarea rezistenței la insulină, reactivarea insulinei legate de proteine, inhibarea insulinazei [9]. Cercetările, utilizând animale cu diabet

zaharat indus experimental, cel mai adesea cu streptozotocină și alloxan, au permis elucidarea mecanismului hipoglicemiant pentru multe dintre remediile vegetale utilizate empiric ca hipoglicemiant și antioxidante în diabetul zaharat [10].

În fitoterapia românească este utilizat în mod tradițional pentru menținerea homeostaziei glucozei afinul (*Vaccinium myrtillus*), ce face parte din familia *Ericaceae*. Afinul este un subarbust ce crește spontan în Europa, nordul Asiei, Groenlanda, vestul Canadei și vestul Statelor Unite, în regiuni alpine până la altitudinea de 2000–2500 m în special în zone umede și umbrite. Frunzele și fructele de afin conțin ca și principii active vegetale taninuri, antociani (mirtilină, neomirtilină), hidrochinonă și arbutină, vitamina C, etc. Acestea pot fi utilizate sub formă de infuzie, decoct sau pot fi consumate proaspete, având proprietăți terapeutice importante: astringente, antibacteriene, antidiareice, antidiabetice, diuretice. Mecanismele hipoglicemiant ale afinului implică asocierea dintre efectul insulinomimetic al componentelor, stimularea celulelor β -pancreatice, scăderea gluconeogenezei, creșterea utilizării periferice a glucozei și întârzierea absorbției glucozei [11].

Obiectivele cercetării sunt în primul rând de a analiza din punct de vedere fizico-chimic extractele vegetale ce provin de la specii vegetale puțin studiate: *Tragopogon pratensis* (barba caprei, barba țapului), *Dorycnium pentaphyllum subsp herbaceum* (sulițică, brâncuța de pisică), *Acanthus balcanicus* (talpa ursului, matrună), *Tamarix ramosissima* (cătina roșie), *Carduus acanthoides* (spin, scai roșu), comparativ cu specia *Vaccinium myrtillus* (afin). De asemenea, am realizat studiul farmacologic preclinic *in vivo* al extractelor vegetale, testând efectul hipoglicemiant, hipolipemiant și antioxidant, comparativ cu extractul provenit de la specia *Vaccinium myrtillus*. Am determinat și potențialul regenerativ al extractelor vegetale cercetate asupra pancreasului, creierului, rinichiului și ficatului, utilizând șoareci cu diabet streptozotocinic. Protocolul studiului preclinic a fost aprobat de către Comisia de etică și deontologie universitară și științifică a Universității de Medicină și Farmacie, Craiova, iar experimentele au fost realizate în concordanță cu standardele impuse de legislația internațională referitoare la cercetarea pe animale.

În literatura de specialitate apar puține informații legate de utilizarea terapeutică a speciilor vegetale selectate în studiul prezentei monografii.

I CONSIDERAȚII GENERALE PRIVIND DIABETUL ZAHARAT

I.1 Pancreasul și insulina

Pancreasul este un organ anex al tubului digestiv, situat retroperitoneal (hipocondrul stâng), având o dublă funcție: exocrină (producând suc pancreatic) și endocrină (secretând doi hormoni antagoniști, insulina, hormon hipoglicemiant și glucagonul, hormon hiperglicemiant). Pancreasul exocrin reprezintă 97-99% din glandă, fiind format din acinii pancreatici, pancreasul endocrin reprezintă 1-3% fiind alcătuit din formațiuni celulare (insule Langerhans) dispersate difuz în pancreasul exocrin.

Insula Langerhans este compusă din mai multe tipuri de celule, fiecare dintre ele sintetizează și secretă un hormon polipeptidic distinct: insulina (celulele β , B), glucagonul (celulele α , A), somatostatina (celulele δ , D), și polipeptida pancreatică în celulele PP sau F. Celulele β reprezintă între 60% până la 80% din insula pancreatică, formând nucleul său central. Celulele α , δ , și F formează o manta discontinuă în jurul acestui nucleu, având o grosime de una până la trei celule [12].

O serie de mecanisme au fost selectate în timpul evoluției, care acum converg pentru a coordona funcțiile celulelor β -pancreatice. Dintre acestea, mai multe mecanisme depind de diferite familii de proteine integrate în membrană, care asigură comunicația directă între celulele beta (caderine, N-CAM, occludine, și claudine) și comunicația paracrină, între aceste celule și alte tipuri de celule insulare (pannexine). De asemenea, alte proteine (integrine) asigură comunicarea diferitelor tipuri de celule insulare cu materialele care formează lamina bazală a insulei și matricea extracelulară. Connexinele Cx36 realizează canale homomeric și homotipice, împiedicând celulele beta să se cupleze cu alte tipuri de celule. O astfel de selectivitate este adecvată pentru buna funcționare a insulei de celule, mai ales că celulele alfa și beta funcționează antagonist în cele mai multe condiții [13].

Insulina este stocată în granule alături de peptidul C, ca și proinsulină (9000 Da), fiind scindată înainte de pătrunderea în vena portă. Eliberarea de insulină are loc prin exocitoză Ca^{2+} -dependentă, insulina eliberată este rapid metabolizată în ficat și rinichi, cu un timp de înjumătățire plasmatic de cca. 5-10 min. Detectarea peptidului C în sânge (prin radioimunoanaliză) poate fi utilizată ca o măsură a

cuantificării activității pancreatice la pacienții diabetici. Eliberarea insulinei este modulată de o serie de factori cu efect de stimulare sau de inhibare, deși un nivel bazal al secreției se menține în mod normal (**Figura 1.1**). Factorii ce stimulează eliberarea sau acțiunea insulinei: hormonii (glucagon, incretine, colecistokina), agenți acetil colinomimetici, agonștii β -adrenergici, sulfonilureea. Factori ce inhibă eliberarea sau acțiunea insulinei: somatostatina, compușii β -blocanți, tiazidele, agonștii α -adrenergici [14].

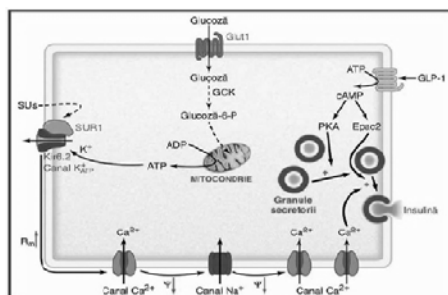


Figura 1.1 Mecanismele secreției de insulină [15]

Pătrunderea glucozei în celule prin membrană este dependentă de diferența de concentrație dintre mediul extracelular și interiorul celulei. În anumite țesuturi există pentru transportul glucozei prin membrane un număr de pompe de transport insulin independente-dependente de sodiu (SGLT). (**Tabel 1.1**)

Țesuturi ce nu necesită insulină	Transportori	Țesuturi ce necesită insulină	Transportori
Ficat	GLUT 7	Țesut adipos	GLUT 4
Nervi, creier	GLUT 1,3	Mușchi scheletici, cardiaci, netezi	GLUT 4
Tubi renali	GLUT 2, SGLT	Alte țesuturi	GLUT 4
Ochi, vase de sânge retiniene	SGLT		
Leucocite	GLUT		
Endoteliul vascular	GLUT		
Celule β -pancreatice	GLUT 2		

Tabelul 1.1 Transportorii glucozei în celule și țesuturi [54]

Secreția insulinei are loc pulsatil pe parcursul a 24 de ore. În condiții bazale (de repaus alimentar), există o secreție la intervale scurte de timp, sub forma unor oscilații rapide de mică amplitudine peste care se suprapun, la intervale mai mari, oscilații lente cu