
Potencial ação do phloretin no controle glicêmico do diabetes: uma revisão

Thalita Faleiros Demito Santos, Gustavo Henrique Souza, Jurandir Fernando Comar, Livia Bracht, Rosane Marina Peralta, Adelar Bracht, Anacharis Babeto de Sá-Nakanishi

<https://doi.org/10.4322/mp.978-65-994457-7-4.c3>

Resumo

Diabetes é um distúrbio metabólico de etiologia múltipla, que vem acometendo uma parcela maior da população mundial a cada ano. Uma das grandes preocupações da doença são complicações decorrente da falta de controle da glicemia, como neuropatia, angiopatia entre outras. O phloretin (PL) é um flavonoide pertencente à família das dihidrochalconas, encontrado naturalmente em plantas da família Rosaceae. Este fenólico apresenta ação antiinflamatória, anticancerígena e hepatoprotetora. Atualmente, vários estudos têm revelado que o PL é uma molécula em potencial para o tratamento da obesidade e do diabetes tipo 2. Nesse sentido, esta revisão tem por objetivo apresentar os possíveis mecanismos de ação do PL no controle glicêmico do diabetes. Estudos em modelos animais revelam que, o tratamento com PL reduz a glicemia e melhora o teste de tolerância a glicose em ratos diabéticos. Estes efeitos justificam-se pelo fato do flavonoide aumentar a expressão de Akt, PI3K, IRS-1, e GLUT4 nas células, modificar a atividade de enzimas chaves do metabolismo de carboidrato no fígado, e inibir a absorção de glicose via cotransportadores SGLT-1 e SGLT-2 pelas células epiteliais intestinais e renais, respectivamente. Além disso, o PL aumenta a concentração de insulina plasmática e modifica alguns marcadores de estado oxidativo tecidual. Com base no exposto, o PL é uma molécula promissora que poderá ser utilizado como alternativa terapêutica, ao menos como coadjuvante, para o controle glicêmico do paciente diabético.

Palavras-chave: complicações do diabetes, flavonoide, hiperglicemia, resistência à insulina, transportador de glicose.

1. Introdução

Diabetes mellitus (DM) é uma síndrome metabólica de origem múltipla, decorrente da falta de insulina e/ou prejuízo da ação da mesma. A insulina é produzida pelo pâncreas e é responsável pela manutenção do metabolismo de carboidratos. Ausência e ou resistência da ação desse hormônio interfere na metabolização da glicose e, conseqüentemente, gera um quadro de hiperglicemia persistente, o qual caracteriza o diabetes.

A obesidade é um fator de risco para uma série de doenças, como hipertensão, doenças cardiovasculares e diabetes tipo 2 (T2D). Neste sentido, a resistência à insulina (RI) correlaciona-se com o grau de obesidade, especialmente a obesidade abdominal, e é um forte fator preditivo para o desenvolvimento desta doença. A RI não apenas compromete a utilização de glicose pelos tecidos insulino-sensíveis, mas também estimula a sinalização pró-inflamatória em vários tipos celulares (DANDONA *et al.*, 2005). Desse modo, a manutenção dos níveis fisiológicos de insulina é fundamental para o metabolismo celular, pois a insulina, além de exercer o controle da homeostase glicêmica, a mesma controla o metabolismo celular de maneira integrada a outros hormônios como também apresenta atividades anti-inflamatórias.

Atualmente, muitos estudos revelam que, uma dieta rica em compostos polifenólicos apresenta um papel terapêutico na redução dos casos de câncer, doenças cardiovasculares, inflamações, diabetes e doenças degenerativas. Isto ocorre, principalmente, porque esses compostos estão envolvidos na neutralização de espécies reativas de oxigênio (ROS) e radicais livres, possuindo efeitos antioxidantes, como também anticarcinogênicos e hepatoprotetores.

A terapêutica não farmacológica, que inclui exercício físico associado à uma dieta saudável, contribui para o controle da glicemia. No entanto, para a maioria dos pacientes há a necessidade de associar uma terapia medicamentosa (agentes antidiabéticos orais e/ou insulino terapia). Apesar das terapias farmacológicas atuais serem eficazes no controle glicêmico, estas apresentam diversas limitações (risco de hipoglicemia, aumento de peso, efeitos gastrointestinais adversos e/ou retenção de fluídos) que muitas vezes levam o paciente a descontinuidade do tratamento. Por esse motivo, são necessários novos agentes terapêuticos com melhores perfis risco-benefício,

que possibilitem maior adesão pelo paciente além de um melhor controle da glicemia plasmática.

O phloretin (2', 4', 6'-trihidroxi-3-(4-hidroxifenil)-propiofenil) (PL) é um composto fenólico natural que está presente principalmente em maçã, pera e morango (REZK *et al.*, 2002). Este vem sendo amplamente estudado, e tem apresentado contribuições positivas no tratamento da obesidade, além de possuir atividades antioxidante, anti-inflamatória, antimicrobiana, antialérgica, anticarcinogênica, antitrombótica, hepatoprotetora e interferência na expressão gênica associada à apoptose (LEE *et al.*, 2003).

O PL apresenta dois anéis fenólicos aromático (anel A e B), grupos hidroxila e um grupo carbonila conforme ilustrado na “Figura1”. Além das ações farmacológicas, o PL apresenta baixa toxicidade e alta biodisponibilidade para as células e tecidos. Muitos estudos já observaram que após a ingestão oral de PL, na forma de aglicona ou como os substituintes de glicosídeos, o mesmo é rapidamente absorvido no intestino e detectado no plasma.

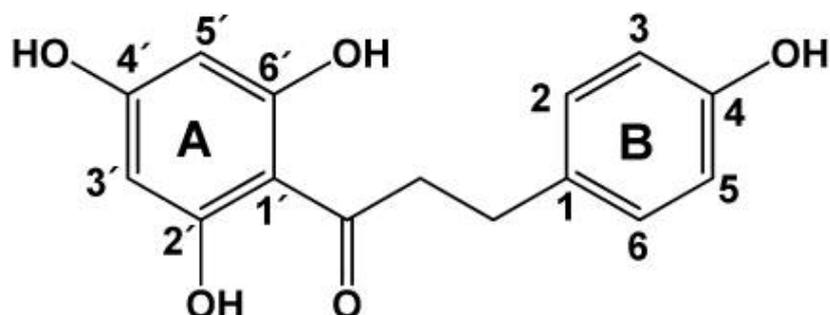


Figura 1. Estrutura química do phloretin. Fonte: [https://pt.wikipedia.org/wiki/Radical_\(qu%C3%ADmica\)](https://pt.wikipedia.org/wiki/Radical_(qu%C3%ADmica)). Acesso em 16/07/2021.

Recentemente, vários estudos têm demonstrado que o PL tem auxiliado no controle glicêmico do diabetes (RAPHAELLI, 2019). Esta ação é de extrema importância no diabetes, pois a hiperglicemia descontrolada e persistente aumenta o risco de distúrbios micro e macrovasculares, neuropatias, glomerulopatias, retinopatias entre outras complicações.

De acordo com vários trabalhos já publicados, o PL atua como um inibidor da absorção de glicose intestinal e reabsorção renal, melhora o transporte de glicose por tecidos insulino-sensíveis, atenua a resistência à insulina, estimula vias de sinalização da insulina além de inibir o estresse oxidativo. Todas estas ações contribuem para atenuação da hiperglicemia persistente. Neste sentido, o presente trabalho de revisão teve por finalidade fazer um estudo sistemático dos mecanismos de ação do PL sobre o controle glicêmico do diabetes.

2. Metodologia

Este é um estudo de revisão de literatura descritiva, desenvolvido a partir das produções científicas indexada nas seguintes bases eletrônicas de dados: MEDLINE, SCIELO e Teses de Instituições de pesquisas, que abrangem o tema proposto buscando sempre com as palavras diabetes, phloretin e controle glicêmico.

3. Revisão Bibliográfica

3.1. Efeitos do phloretin sobre transportadores de glicose e via de sinalização a insulina

O transporte de glicose transmembrana ocorre por meio de duas classes de proteínas transportadoras denominadas de: transportadores de glicose (Glut), e cotransportadores de glicose- Na^+ (SGLT). Os Gluts são uma família de 14 isoformas de proteínas transmembrana, expressas de forma tecido e célula-específicos. Estes são proteínas facilitadoras do transporte de glicose, ou seja, o transporte de glicose através da membrana é dirigido pelo gradiente de concentração glicose (LIU, 2013). A “Figura 2” apresenta a estrutura molecular básica dessas proteínas de 50-60 kDa, com 12 segmentos transmembrana que formam um canal hidrofílico para a difusão do monossacarídeo. Cada Glut, denominadas Gluts 1 a 14 em ordem cronológica de caracterização, apresenta propriedades cinéticas e reguladoras distintas que refletem seus papéis definidos no metabolismo celular. De acordo com Teixeira (2010), a distribuição de glicose pelos tecidos corporais depende da expressão e regulação de cada isoforma de Gluts nas membranas teciduais.

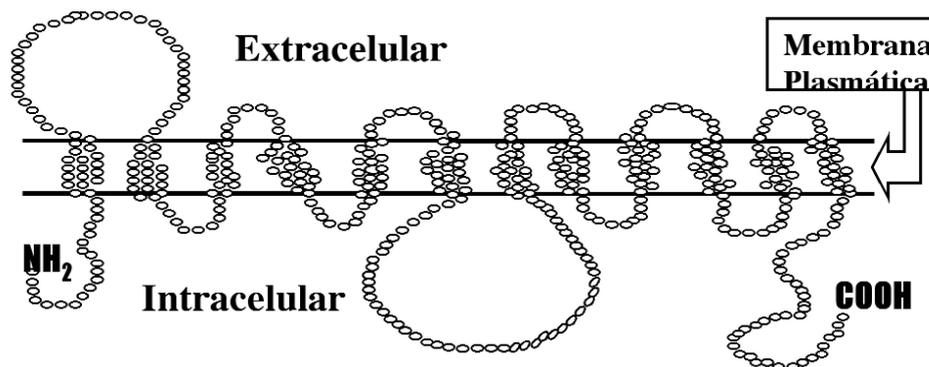


Figura 2. Estrutura bidimensional das proteínas transportadoras de glicose por difusão facilitada (Gluts). Fonte: Machado, Schaan e Seraphim, 2006.

O Glut-1, por exemplo, apresenta uma vasta expressão tecidual. Já o Glut- 2 é expresso predominantemente nas células hepáticas, β -pancreáticas como também na face apical das células intestinais. O Glut-1 por exemplo, apresenta um baixo Kt, quando comparado ao Glut-2, o que o torna responsável por garantir o transporte basal de glicose aos tecidos quando a mesma se encontra em baixos níveis no sangue (MACHADO; SCHAAN; SERAPHIM, 2006). Estudos conduzidos em animais revelam que o PL inibe com Glut-1 e 2 presentes nas células intestinais, conseqüentemente a molécula contribui para redução da absorção de glicose exógena e assim auxilia no controle da glicemia plasmática (SAMPATH *et al.*, 2017; PATEL; FONSECA, 2010; SANG *et al.*, 2016).

De acordo com Gonzalez-Menendez *et al.* (2014) o PL (10 a 150 μ M) bloqueou o transporte de glicose pelo Glut-1 em células tumorais, como também inibiu a expressão deste transportador. A redução da velocidade de transporte de glicose contribui para reduzir o metabolismo como também a metástase destas células. Essa interferência com a atividade dos Gluts tem sido também descrita com outros flavonóides (GONZALES-MENENDEZ *et al.*, 2014). Flavanonas e flavonas são análogos estruturais do PL conforme mostrado na “Figura 3”. Como o PL, estas moléculas inibem os Gluts como também transportador de glicose dependente de Na^+ , presente na face serosa das células epiteliais intestinais. O grau de inibição, varia com a extensão e posição da hidroxila no núcleo do flavonóide. Flavonas por exemplo, apresentam

maior grau de inibição do que flavanonas. As formas tri e tetrahidroxiladas do núcleo do flavonóide demonstram maior potencial inibitório do que moléculas semelhantes penta e hexahidroxiladas (KIMMICH; RANGLES,1978).

Diferentemente dos outros Gluts, o Glut-4 tem sua atividade controlada pela insulina, e é expresso principalmente no tecido adiposo e muscular. Modificações na expressão deste gene, correlacionam-se de maneira direta com aumento ou redução da sensibilidade insulínica (SABINO-SILVA *et al.*, 2010). Normalmente, nas células em repouso, o Glut-4 localiza-se principalmente no compartimento intracelular, representando em adipócitos até 95% do conteúdo celular total. O estímulo insulínico, como também o exercício físico determina a mobilização de Glut-4, presentes em vesículas de membrana, para a superfície celular. Esse processo aumenta agudamente a velocidade de captação de glicose, contribuindo assim, para o controle da homeostase glicêmica em nível tecidual e plasmático. Esse mecanismo torna a absorção de glicose pelo músculo e tecido adiposo dependente da transmissão do sinal insulínico (REA; JAMES,1997).

Estudos em camundongos, knockout para Glut-4 no tecido adiposo, foi observado uma diminuição de 40% nos níveis de transporte basal de glicose e de 72% no transporte de glicose dependente de insulina. A principal rota de sinalização para a translocação do transportador Glut-4 para a membrana consiste basicamente na ligação da insulina ao seu receptor (IR), e ativação da cascata de sinalização intracelular deste hormônio. Esta por sua vez envolve a fosforilação do IRS-1 (proteína substrato do receptor de insulina) que vai servir de ancoragem para a subunidade regulatória p85, fosfatidilinositol-3 quinase (PI3-K). Uma vez ancorada, a PI3-K irá liberar a sua subunidade catalítica (p110) que catalisará a fosforilação do fosfatidilinositol-4,5-bifosfato em fosfatidilinositol-1,4,5-trifosfato, a qual por sua vez ativa a proteína quinase B (Akt) que estimula a mobilização dos Gluts-4 para superfície da membrana (GRAHAM; KAHN, 2007). O bloqueio de fosforilação de IRS-1 pode reduzir a atividade da P13K e Akt. A inibição de P13K/Akt suprime a translocação e atividade de Glut-4 e finalmente diminui a atividade de transporte de glicose estimulada por insulina, fator este que contribui para a hiperglicemia persistente (LIU; DENG; FAN, 2019).

Um dos mecanismos de ação do PL em ratos diabéticos se dá pela interferência na via de sinalização da insulina, mais precisamente na regulação da expressão de Akt, P13-K, IRS-1 e Glut-4 no músculo esquelético. O Glut-4 como já descrito anteriormente é um transportador de glicose regulado por insulina e qualquer alteração na via de sinalização da insulina compromete a expressão e ou atividade do Glut-4, podendo ocasionar RI. Devido ao seu papel crucial, o Glut-4 tem sido alvo terapêutico do diabetes. Shen *et al.* (2017), descreveram que o tratamento oral com PL em ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina (STZ), por 4 semanas (100mg/Kg) reduziu a glicemia pós-prandial, a lesão das ilhotas pancreáticas como também melhorou o teste de tolerância a glicose. Análises de Western blot revelaram que o PL induziu a expressão dos genes Akt, PI3K, IRS-1, e Glut4 no músculo esquelético de ratos diabéticos tipo 2 (T2D) e em miócitos (SHEN *et al.*, 2017). O PL também aumenta a fosforilação do receptor de insulina e do substrato do receptor de insulina, como também, ativa a via PI3-K/Akt e então aumenta a expressão e translocação de Glut 4 nos músculos e tecido adiposo. Estas ações culminam na melhora da sensibilidade a insulina, maior absorção de glicose pelos tecidos periféricos, estímulo da captação do monossacarídeo, ativação da glicogênese hepática e redução da glicogenólise. Ou seja, o PL revoga as desordens metabólicas induzidas pela deficiência de insulina (SHEN *et al.*, 2017; NITHIYA; UDAYAKUMAR, 2016; BEHZAD *et al.*, 2017).

Outro estudo conduzido em animais diabéticos, o tratamento com a associação PL mais metformina melhorou a glicemia de jejum, a tolerância à glicose e a sensibilidade à insulina (SHEN *et al.*, 2020). A metformina é uma droga padrão, de primeira escolha muito utilizada em monoterapia de pacientes recém-diagnosticados. O mecanismo de ação da metformina não envolve estímulo da secreção de insulina pelas células beta do pâncreas, mas a inibição da produção de glicose hepática e aumento na sensibilidade à insulina pelos tecidos periféricos como músculos e tecidos adiposos (WRÓBEL *et al.*, 2017). Neste sentido, a associação estimulou a absorção de glicose pelos tecidos dependentes de insulina e o PL aumentou a translocação e expressão de Glut-4 na membrana plasmática. De acordo com os autores, a associação PL e metformina melhora prognóstico do tratamento do T2D em relação a

monoterapia, pois a mesma amplifica os efeitos gluco-reguladores fisiológicos (SHEN *et al.*, 2020).

Outra classe de transportadores de glicose compreende o cotransportador glicose/Na⁺, que catalisa um transporte ativo de glicose principalmente através das células do epitélio intestinal como também das células glomerulares. Há basicamente duas isoformas deste transportador: SGLT-1 expresso nas células intestinais, onde é responsável pelo transporte ativo de unidades monossacarídicas provenientes da digestão de carboidratos da dieta; e a isoforma SGLT-2 expressa basicamente nas células do epitélio renal, onde controla a reabsorção de glicose durante o processo de filtração glomerular. É bom deixar claro que, diferentemente dos Gluts, este tipo de transporte concentra glicose em um dos lados da membrana a partir da energia do gradiente eletroquímico de Na⁺. Neste sentido, os inibidores do cotransportador sódio-glicose (SGLT) apresentam-se como uma alternativa terapêutica baseada num mecanismo de ação que pode ultrapassar algumas limitações da terapêutica dependente da ação da insulina, e contribuir para um melhor controle glicêmico do diabetes.

Normalmente em pacientes diabéticos, a capacidade de reabsorção de glicose é aumentada através da superexpressão do transportador SGLT-2 renal, mecanismo este que contribui significativamente para manutenção da hiperglicemia persistente. O PL tem apresentado efeito inibidor direto sobre a isoforma de SGLT-2. Inibidores de SGLT-2 nos rins, reduzem a reabsorção de glicose renal e aumenta a eliminação de glicose na urina (ZHAO; KEATING, 2007). De fato, o PL é um inibidor específico e competitivo de cotransportadores de sódio/glicose (isoformas SGLT1 e SGLT2). A administração de PL, via subcutânea, demonstrou melhor controle da glicemia em modelos de roedores com diabetes tipo 1 e tipo 2. Avaliou-se que o PL inibiu a reabsorção da glicose renal e promoveu maior excreção de glicose na urina destes animais (SKOPEC; GREEN; KARASOV, 2010; NAJAFIAN *et al.*, 2011; ZHAO *et al.*, 2020).

Além do efeito direto do PL sobre o cotransportador de Na/glicose, acredita-se que o flavonóide também exerça efeitos secundários mediados por uma inibição metabólica induzida pelo PL que diminui o ATP celular com consequente limitação do sistema de extrusão de Na⁺, e subsequente trans-

inibição do transportador dependente de Na⁺. No geral este estudo apresentou resultados semelhantes para os flavonóides que apresentam similaridade estrutural com o PL (KIMMICH; RANDLES,1978).

3.2. Efeitos do phloretin sobre a atividades de enzimas digestivas

Amilase pancreática como também as dissacaridases intestinais são enzimas envolvidas na digestão de carboidratos da dieta. Há classes de medicamentos que atuam inibindo estas enzimas e assim contribuem para o controle da glicemia plasmática. Desse modo, algumas publicações relatam a ação do PL sobre estas enzimas.

Um estudo conduzido por Minami *et al.* (1993) avaliou-se a atividade da dissacaridase jejunal e o número de transportadores de glicose dependentes de Na⁺ em ratos mantidos em dieta com baixo e alto teor de amido como também o efeito de várias doses de PL (0,1% -0,9%) sobre estas. A atividade das dissacaridases jejunal aumentaram de maneira dependente da dose de PL. A estimulação da atividade da dissacaridase jejunal ocorreu apenas quando PL foi adicionado a dietas contendo amido, não quando foi adicionada a uma dieta sem carboidratos. No estudo em questão, o PL aumentou a atividade da dissacaridase e a expressão do transportador de glicose dependente de Na⁺. Eles concluíram que, o gatilho para essas mudanças pode ter sido devido a um aumento no conteúdo de glicose luminal (MINAMI *et al.*,1993).

De maneira oposta, Han *et al.* (2017) descreveu que o PL inibi a atividade da α -glicosidase. Conseqüentemente, o PL contribuiu para o controle glicêmico por restringir a absorção intestinal de unidades monossacarídicas. Esta inibição do PL na atividade da α -glicosidase foi testada *in vitro* nas concentrações de 0 à 200gmL⁻¹. A droga acarbose, inibidor clássico da α -glicosidase, mostrou uma inibição menor do que o próprio PL (HAN *et al.*, 2017). Este falvonóide tem quatro grupos hidroxila distribuídos no C-2, C-4, C-6 no anel A e 1 hidroxila C-4 no anel B, que desempenham um importante papel sobre esta inibição. Estudos computacionais tem sido realizado a fim de descrever as interações ótimas entre PL e o sitio ativo da enzima. Este fenólico liga-se diretamente a α -glicosidase, sendo facilmente inserido no sítio de ativo de α -glicosidase por cinco ligações de hidrogênio. Estas ligações são

consideradas a principal força de atração entre o PL e α -glicosidase (PARK *et al.*, 2008).

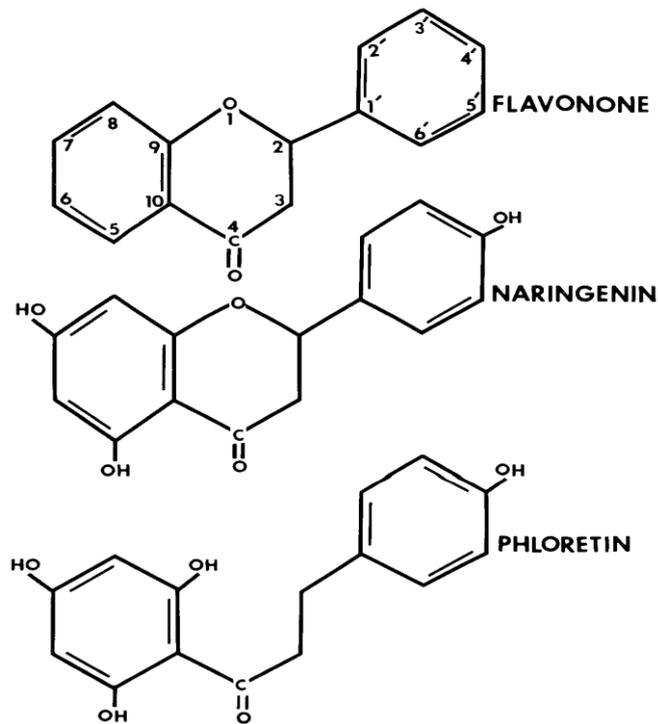


Figura 3. Relação estrutural entre phloretin e seus análogos. Fonte: Kimmich e Randles, 1978.

3.3. Efeitos do phloretin sobre marcadores do estresse oxidativo e inflamatório

É bastante clara a relação entre diabetes e obesidade. De fato, geralmente diabetes tipo 2 (T2D) acomete pessoas obesas. O acúmulo de gordura, principalmente a nível abdominal, estimula um quadro inflamatório como também de RI. Nesse contexto, moléculas que auxiliam no controle da obesidade, são moléculas em potencial que contribuem para o controle glicêmico. A obesidade possui origem multifatorial e está associada a um aumento no tecido adiposo, especialmente o tecido adiposo branco (WAT). Na obesidade induzida por dieta, a expansão do tecido adiposo é acompanhada por hipertrofia adiposa, infiltração de macrófagos, geração de ROS e liberação de citocinas pró-inflamação. As ROS que são geradas como um subproduto do metabolismo das células desempenham um importante papel sobre às complicações que envolvem esta doença.

No estudo de Alsanea, Gao e Liu (2017) avaliou-se o efeito da administração intraperitoneal do PL em modelos de obesidade induzida por dieta rica em gordura em ratos. A administração foi realizada duas vezes na semana em ratos saudáveis e obesos. Foi monitorado os efeitos do PL em relação ao peso corporal, teor de gordura no fígado, glicose, lipídeos plasmáticos e resistência à insulina. Observou-se que o PL bloqueou significativamente o ganho de peso induzido por dieta rica em gordura, mas não induziu perda de peso em animais obesos. Este falvonóide melhorou também a homeostase da glicose, a sensibilidade à insulina e o acúmulo de lipídeos hepáticos (ALSANEA; GAO; LIU, 2017). Estes efeitos foram justificados pela redução da expressão de marcadores de macrófagos (F4/80 e Cd68) e também de genes pró-inflamatórios (Mcp-1, Ccr2, PPAR- γ -2 e Mgat-1). Ou seja, o PL foi capaz de inibir a infiltração de macrófagos e aumentar a expressão do gene da adiponectina no tecido adiposo, e ativar vias antioxidantes endógenas envolvendo Nrf2, SOD e glutathione. Além disso, o tratamento preveniu a resistência à insulina, a hiperinsulinemia, e diminuiu a quantidade de gordura hepática como também plasmática. Esta última se deu principalmente pela supressão de alguns genes da envolvidos com a lipogênese, além é claro, da supressão da diferenciação dos adipócitos e diminuição da infiltração de macrófagos no tecido adiposo (ALSANEA; GAO; LIU, 2017).

Os experimentos *in vitro* realizados em camundongos por Ying *et al.*, 2018 mostraram que o PL pode reduzir o estresse oxidativo, hipertrofia e fibrose em cardiomiócitos, que são as principais alterações patológicas da cardiomiopatia diabética (DCM). O estresse oxidativo está associado ao aumento da fibrose cardíaca e morte celular, levando ao desenvolvimento de insuficiência cardíaca grave. Este estudo também avaliou os efeitos protetores do PL *in vivo* em paciente diabético e verificou que o composto fenólico inibiu significativamente a hiperglicemia. O PL diminuiu os níveis de LDH, AST, e creatina quinase (MB), atenuando o progresso de fibrose e estresse oxidativo via ECH associado à proteína Kelch1 (Keap1)/fator nuclear E2 (Nrf2) em camundongos diabéticos. Observa-se neste estudo também que o PL pode obstruir a interação entre Nrf2 e Keap1 por meio de ligação direta Keap 1 e promoveu a expressão de Nrf2. Com esses resultados há evidências que o PL

pode suprimir a alta oxidação de cardiomiócitos induzida por glicose e lesão por fibrose. A via de sinalização Keap1/ Nrf2 desempenha um papel importante na regulação do estresse oxidativo, regula a inflamação e fibrose, e a modulação da Keap1/ Nrf2 pode fornecer uma nova estratégia terapêutica para DCM em humanos futuramente (YING *et al.*, 2019).

3.5. Efeito do phloretin no metabolismo de carboidrato hepático

O fígado é um órgão central envolvido no controle da glicemia plasmática. Ele atua como tampão de glicose, armazenando a mesma, como glicogênio, quando os níveis glicêmicos estão elevados, mas de maneira oposta, o fígado libera glicose para corrente sanguínea quando a glicemia plasmática é reduzida. Neste último caso, o fígado é capaz de disponibilizar glicose a partir dos estoques de glicogênio, como também, é capaz de produzir glicose líquida a partir de substratos não carboidratos (gliconeogênese). Devido a deficiência dos níveis séricos ou da ação da insulina, o fígado de animais diabéticos encontra-se com o fluxo da gliconeogênese elevado, pois as enzimas reguladoras desta via, glicose-6-fosfatase, frutose,1,6-bifosfatase e piruvato carboxilase estão estimuladas. Simultaneamente esta condição reduz a atividade da hexoquinase, assim como também o fluxo da via glicolítica, o qual contribui para a deficiência no armazenamento de glicose, como glicogênio. Estas ações em associação permitem um aumento da liberação de glicose hepática e manutenção de um quadro de hiperglicemia persistente (LEHNINGER; NELSON; COX, 2014).

Deposição de glicogênio em tecidos periféricos e fígado de mamíferos ocorre após a refeição para manter a concentração fisiológica de glicose no sangue. O DM, mais precisamente a falta da ação da insulina, prejudica a capacidade normal do fígado em absorver glicose e sintetizar glicogênio. No estudo de Nithiya e Udayakumar (2016) a administração oral de PL aumentou significativamente o nível de glicogênio hepático que indica uma melhor atividade da insulina em ratos diabéticos.

O PL foi avaliado quanto ao efeito anti-hiperglicêmico em ratos diabéticos machos da linhagem Wistar induzidos com administração intraperitoneal de (60 mg/kg de peso corporal) estreptozotocina (STZ). O potencial antidiabético deste flavonóide foi avaliado através da análise das

mudanças no peso corporal, conteúdo de glicose plasmático, hemoglobina glicosilada, insulina, glicogênio hepático e atividade das enzimas envolvidas com o metabolismo de carboidratos (CHO) como hexoquinase, glicose-6-fosfato desidrogenase, glicose-6-fosfatase e frutose-1,6 bisfosfatase. PL (25 e 50 mg/kg de peso corporal) e glibenclamida foram administrados por via oral por 45 dias diariamente usando tubo intragástrico. Durante o período experimental o peso corporal diminuiu significativamente em ratos diabéticos em comparação a ratos saudáveis. Os níveis de glicose no sangue, hemoglobina total, hemoglobina glicada, insulina e glicogênio hepático foram extensivamente revertidos pela administração de PL na dose de 50 mg/kg de peso e glibenclamida em ratos diabéticos. A administração de PL aumentou significativamente as atividades da hexoquinase e glicose-6-fosfato desidrogenase. O PL quando associado à droga glibenclamida reduziu significativamente as atividades da glicose-6-fosfatase e frutose-1, 6-bisfosfatase no fígado de ratos diabéticos (NITHIYA; UDAYAKUMAR, 2016). Ou seja, o PL modula a atividade de enzimas envolvidas com o metabolismo de carboidratos muito provavelmente por aumentar a secreção da insulina em animais diabéticos. Muito embora, os autores não descartam a possível ação direta do PL sobre a modulação destas enzimas, além é claro da interferência do PL sobre a via de sinalização da insulina. Com isso, é possível concluir que, o PL pode ser utilizado no tratamento do diabetes devido a seu efeito antihiperlipidêmico, já que o mesmo além dos mecanismos de ação descritos acima, apresenta a capacidade de modificar enzimas chaves do metabolismo de carboidratos (NITHIYA; UDAYAKUMAR, 2016).

Estudos conduzidos em camundongos obesos, tem revelado que o PL contribui para melhora da doença hepática gordurosa não alcoólica (NAFLD). O tratamento com PL por injeção intraperitoneal por 12 semanas, reduziu significativamente o acúmulo excessivo de lipídios e diminuiu a ligação do elemento regulador de esterol bloqueando a expressão de ácido graxo sintase. O PL aumentou Sirt1 e fosforilação da proteína quinase ativada AMP e assim suprimiu a expressão da acetil-CoA carboxilase, reduzindo a síntese de ácidos graxos em hepatócitos. Além disso, o PL induziu aumento da lipólise e β -oxidação de ácidos graxos, e regulou os níveis de leptina sérica, adiponectina, triglicerídeos, lipoproteína de baixa densidade e níveis de ácidos

graxos livres em camundongos obesos. Como conclusão este estudo sugere que o PL melhora a esteatose hepática controlando a lipogênese, via Sirt-1/AMPK no fígado (LIOU *et al.*, 2020).

3.6. Outros efeitos do phloretin

O PL também modula o nível de Ca^{+2} , a secreção de IL-2 de linfócitos, como também a glicação avançada. Este flavonóide tem efeitos anti-inflamatórios, interferindo com a atividade das células imunológicas e inibindo a expressão e secreção de diversas moléculas pró-inflamatórias, tais como IL-6, IL-8 e TNF- α , quimiocinas e moléculas de adesão. O tratamento com PL diminui a expressão de outras proteínas pró-inflamatórias, como ciclooxigenase-2 (COX-2), e as isoformas induzíveis de óxido nítrico sintase (iNOS). Desta forma, este tratamento diminui a síntese de óxido nítrico e prostaglandina E_2 (PGE $_2$). O mecanismo de ação está relacionado à supressão do fator de transcrição NF-kB ativo, um regulador do processo inflamatório em células de mamíferos através de um mecanismo que envolve quinase1/2 regulada por sinal extracelular (ERK1/2), proteína quinase ativada por mitogênio p38 (p38 MAPK) e c-Jun N-terminal quinase (JNK). Muitos estudos evidenciaram uma atenuação significativa na resposta da inflamação induzida por IL-1, LPS, ou TNF- α em tratamento com PL, estando relacionado com os efeitos anti-inflamatórios do mesmo (TOMÁS-BARBERÁN; GONZÁLEZ-SARRÍAS; GARCÍA-VILLALBA, 2020).

Além de auxiliar no controle do metabolismo de carboidratos o PL também interferiu com metabolismo de lipídios no sangue de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina (STZ). Foi evidenciado redução do colesterol, via ação direta na HMG-CoA redutase pelo PL e aumento na hidrólise de triacilgliceróis por meio da inibição da fosfodiesterase e diminuição da quebra de cAMP pelo mesmo. Também foi observado um aumento na ingestão de água, diminuição da ingestão de ração em ratos normais e diabéticos após administração do PL. Estes resultados sugerem o potencial uso do PL como um agente eficaz para o tratamento e até mesmo na prevenção de obesidade, conseqüentemente no tratamento do diabetes e doenças relacionadas (NAJAFIAN *et al.*, 2011). Também foi observado uma redução dos níveis de glicose no sangue e melhora na dislipidemia induzida pelo diabetes. Entretanto,

os níveis de FFA, TG, TC, LDL e HDL apresentaram maior redução no grupo tratado com a associação PL mais metformina do que com a monoterapia (SHEN *et al.*, 2020).

O “Quadro 1” apresenta um resumo comparativo das atividades do PL no diabetes descritas pelos trabalhos utilizados nesta revisão.

Quadro 1. Organização do mecanismo de ação do phloretin no controle glicêmico do diabetes.

Autores	Administração do PL	Onde utilizou	Mecanismo de ação do PL
Alsanea, Gao e Liu, 2017	Via intraperitoneal (ip) de PL (10mg/kg e/ou solução de DMSO (20µl)	Camundongos C57BL	Ativação de vias antioxidantes endógenas envolvendo Nrf2, SOD e glutathiona
Behzad <i>et al.</i> , 2017	Via oral em diferentes concentrações	Humanos	Reduziu a expressão de proteínas pró inflamatórias e inibição de GLUT-2
Klötting, Bluher, Klötting, 2006	Via subcutânea	Ratos Wistar Karlburg	Diminuição da expressão do gene da adiponectina dos adipócitos e do gene PPAR- γ e aumento da expressão do gene Foxo1
Han <i>et al.</i> , 2017	Amostras de α -glicosidase titulada com PL	Espectrofotômetro para medição	Inibição da atividade da enzima α -glicosidase
Minami <i>et al.</i> , 1993	Dieta com baixo teor de amido e concentrações diferentes de PL	Ratos machos Sprague Dawley	Inibição da absorção de glicose e aumento das dissacaridases
Najafian <i>et al.</i> , 2011	PL via oral por gavagem nas doses de 5, 10, 20 e 40 mg/kg de peso corporal em animais diabéticos induzidos por STZ	Ratos Wistar adultos macho	Redução do colesterol via ação direta na HMG-CoA redutase, hidrólise de lipídeos por inibição da fosfodiesterase, diminuição da quebra de cAMP e atuou na inibição na secreção de TGC
Shen <i>et al.</i> , 2017	PL via oral diariamente de 100mg/kg	Ratos Sprague Dawley machos diabéticos induzidos por STZ	Indução dos genes Akt, P13k, IRS-1 e Glut 4
Shen <i>et al.</i> , 2020	PL (100mg/kg) + metformina	Ratos machos Sprague Dawley	Aumento na expressão de fatores envolvidos na

	(250mg/kg)		sinalização da insulina
Nithiya, Udayakumar, 2016	PL via oral em doses diferentes (25 mg e 50mg/kg de peso)	Ratos machos da linhagem Wistar	Redução da atividade da glicose 6-fosfatase e frutose1,6-bifosfatase
Ying <i>et al.</i> , 2018	Injeções ip de STZ 100mg/kg para induzir diabetes e após 8 dias injeções ip de PL 10mg/kg	Camundongos machos C57BL (células H9c2)	Aumento na atividade da enzima SOD e redução de estresse oxidativo, hipertrofia e fibrose em células H9c2

4. Conclusão

Com base no exposto, conclui-se que o phloretin é uma potente molécula envolvida no controle glicêmico. Este flavonoide apresenta efeitos pleiotrópicos, desde inibidores do transporte de glicose, controladores da expressão de fatores envolvidos na sinalização da insulina, interferência com enzimas do metabolismo de carboidratos hepático, como também ação antioxidante. Um resumo desses efeitos pode ser observado na tabela acima. Desse modo, considerando os efeitos descritos, associado à sua baixa toxicidade e alta biodisponibilidade, o PL pode ser considerado uma molécula promissora na prevenção ou mesmo no tratamento estratégico do diabetes.

5. Referências

ALSANEA, S.; GAO, M.; LIU, D. Phloretin Prevents High-Fat Diet- Induced Obesity and Improves Metabolic Homeostasis. **An Official Journal of the American Association of Pharmaceutical Scientists - AAPS Journal**, v. 19, n. 3, p. 797-805, may 2017. Doi: 10.1208/s12248-017-0053-0.

BEHZAD, S.; SUREDA, A.; BARRECA, D.; NABAVI, S. F.; RASTRELLI, L.; NABAVI, S. M. Health effects of phloretin: from chemistry to medicine. **Phytochem Reviews**, v. 16, p. 527-533, jun. 2017. Doi: 10.1007/s11101-017-9500-x.

DANDONA, P.; ALJADA, A.; CHAUDHURI, A.; MOHANTY, P.; GARG, R. Metabolic syndrome: a comprehensive perspective based on interactions between obesity, diabetes, and inflammation. **Circulation**, v. 111, n. 11, p. 1448-1454, mar. 2005. Doi: 10.1161/ 01.CIR.0000158483.13093.9D.

GONZALEZ-MENENDEZ, P.; HEVIA, D.; RODRIGUEZ-GARCIA, A.; MAYO, J. C.; SANZ, R. M. Regulation of GLUT transporters by flavonoids in androgen-sensitive and -insensitive prostate cancer cells. **Endocrinology**, v. 155, n. 9, p. 3238-3250, set. 2014. Doi: 10.1210/en.2014-1260.

GRAHAM, T. E.; KAHN, B. B. Tissue-specific alterations of glucose transport and molecular mechanisms of intertissue communication in obesity and type 2 diabetes. **Hormone and Metabolic Research**, Stuttgart, v. 39, n. 10, p. 717-721, oct. 2007. Doi: 10.1055/s-2007-985879.

HAN, L.; FANG, C.; ZHU, R.; PENG, Q.; LI, D.; WANG, M. Inhibitory effect of phloretin on-glucosidase: Kinetics, interaction mechanism and molecular docking. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 95, p. 520–527, 2017. Doi: 10.1016/j.ijbiomac.2016.11.089.

KIMMICH, G. A.; RANGLES, J. Phloretin-like action of bioflavonoids on sugar accumulation capability of isolated intestinal cells. **Membrane Biochemistry**, v. 1, n. 3-4, p. 221-237, 1978. Doi: 10.3109/09687687809063849.

KLÖTING, N.; BLUHER, M.; KLÖTING, I. The polygenetically inherited metabolic syndrome of WOKW rats is associated with insulin resistance and altered gene expression in adipose tissue. **Diabetes Metabolism Research and Reviews**, v. 22, n. 2, p. 146-154, 2006. Doi: 10.1002 / dmrr.582.

LEE, K. W.; KIM, Y. J.; KIM, D. O.; LEE, H. J.; LEE, C. Y. Major phenolics in apple and their contribution to the total antioxidant capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51, n. 22, p. 6516-6520, oct. 2003. Doi.org/10.1021/jf034475w.

LEHNINGER, T. M.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica**. 6 ed. Ed. Artmed. 2014. 1328 p.

LIU, R. H. Dietary bioactive compounds and their health implications. **Journal of Food Science**, v. 78, n. S1, p. A18-A25, 2013. Doi: 10.1111 / 1750-3841.12101.

LIU, Y.; DENG, J.; FAN, D. Ginsenoside Rk3 ameliorates high-fat-diet/streptozocin induced type 2 diabetes mellitus in mice via the AMPK/Akt

signalin pathway. **Food & Function**, v. 10, n. 5, p. 2538-2551, 2019. Doi: 10.1039/c9fo00095j.

LIU, C. J.; WU, S. J.; SHEN, S. C.; CHEN, L. C.; CHEN, Y. L.; HUANG, W. C. Phloretin ameliorates hepatic steatosis through regulation of lipogenesis and Sirt1/AMPK signaling in obese mice. **Cell & Bioscience**, v. 10, n. 114, sep. 2020. Doi: 10.1186/s13578-020-00477-1.

MACHADO, U. F.; SCHAAN, B. D.; SERAPHIM, P. M. Transportadores de glicose na síndrome metabólica. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 50, n. 2, p. 177-189, abr. 2006. Doi: 10.1590/S0004-27302006000200004.

MINAMI, H.; KIM, J. R.; TADA, K.; TAKAHASHI, F.; MIYAMOTO, K.; NAKABOU, Y.; SAKAI, K.; HAGIHARA, H. Inhibition of glucose absorption by phlorizin affects intestinal functions in rats. **Gastroenterology**, v. 105, n. 3, p. 692-697, sep. 1993. Doi: 10.1016/0016-5085(93)90884-f.

NAJAFIAN, M.; JAHROMI, M. Z.; NOWROZNEJHAD, M. J.; KHAJEAIAN, P.; KARGAR, M. M.; SADEGHI, M.; ARASTEH, A. Phloridzin reduces blood glucose levels and improves lipids metabolism in streptozotocin-induced diabetic rats. **Molecular Biology Reports**, v. 39, n. 5, p. 5299-5306, 2011. Doi: 10.1007/s11033-011-1328-7.

NITHIYA, T.; UDAYAKUMAR, R. Antihyperglycemic effect of an important phytochemical-phloretin on streptozotocin induced diabetes: an experimental study. **Journal of Advances in Medical and Pharmaceutical Sciences**, v. 7, n. 2, p. 1-10, 2016. Doi: 10.9734/JAMPS/2016/24114.

PATEL, A. K.; FONSECA, V. Turning glucosuria into a therapy: efficacy and safety with SGLT2 inhibitors. **Current Diabetes Reports**, v. 10, n. 2, p. 101-107, apr. 2010. Doi: 10.1007/s11892-010-0095-5.

PARK, H.; HWANG, K. Y.; OH, K. H.; KIM, Y. H.; LEE, J. Y.; KIM, K. Discovery of novel α -glucosidase inhibitors based on the virtual screening with the homology-modeled protein structure. **Bioorgan & Medical Chemistry**, v. 16, n. 1, p. 284-292, 2008. Doi: 10.1016/j.bmc.2007.09.036.

RAPHAELLI, C. O. **Bioatividade de extratos fenólicos de maçã (*Malus domestica* Borkh cv. Gala)**. Tese (Doutorado em Ciência e Tecnologia de Alimentos). Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia Agroindustrial, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, RS, 2019. 155f.

REA, S.; JAMES, D. E. Moving GLUT4: The biogenesis and trafficking of GLUT4 storage vesicles. **Diabetes**, v. 46, n. 11, p. 1667-1677, nov. 1997. Doi: 10.2337 / diab.46.11.1667.

REZK, B. M.; HAENEN, G. R.; VAN DER VIJGH, W. J.; BAST, A. The antioxidant activity of phloretin: the disclosure of a new antioxidant pharmacophore in flavonoids. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 295, p. 9-13, 2002. Doi: 10.1016 / s0006-291x (02) 00618-6.

SABINO-SILVA, R.; MORI, R. C.; DAVID-SILVA, A.; OKAMOTO, M. M.; FREITAS, H. S.; MACHADO, U. F. The Na⁺/glucose cotransporters: from genes to therapy. **Brazilian journal of medical and biological research**, v. 43, n. 11, p. 1019-1026, nov. 2010. Doi: 10.1590/S0100-879X2010007500115.

SANG, S.; ZHU, Y.; WANG, P.; ZHAO, Y.; SAMPATH, C.; AHMEDNA, M. Bioactive components from ginger, tea and apple prevent protein glycation by trapping methylglyoxal with potential in alleviation of diabetic complications. **Qatar Foundation Annual Research Conference Proceedings**, v. 2016, n. 1, mar. 2016. Doi: <https://doi.org/10.5339/qfarc.2016.HBPP1906>.

SAMPATH, C.; RASHID, M. R.; SANG, S.; AHMEDNA, M. Specific bioactive compounds in ginger and apple alleviate hyperglycemia in mice with high fat diet-induced obesity via Nrf2 mediated pathway. **Food Chemistry**, v. 226, p. 79–88, jul. 2017. Doi: 10.1016/j.foodchem.2017.01.056.

SKOPEC, M. M.; GREEN, A. K.; KARASOV, W. H. Flavonoids have differential effects on glucose absorption in rats (*Rattus norvegicus*) and American robins (*Turdus migratorius*). **Journal of chemical ecology**, v. 36, n. 2, p. 236-43, 2010. Doi: 10.1007/s10886-010-9747-9.

SHEN, X.; ZHOU, N.; MI, L.; HU, Z.; WANG, L.; LIU, X.; ZHANG, S. Phloretin exerts hypoglycemic effect in streptozotocin- induced diabetic rats and improves insulin resistance in vitro. **Drug Design, Development and Therapy**, v. 11, p. 313-324, feb. 2017. Doi: 10.2147/DDDT.S127010.

SHEN, X.; WANG, L.; ZHOU, N.; GAI, S.; LIU, S.; ZHANG, S. Beneficial effects of combination therapy of phloretin and metformin in streptozotocininduced diabetic rats and improved insulin sensitivity in vitro. **Food Funct.** v. 11, n. 1, p. 392-403, jan. 2020. Doi: 10.1039/c9fo01326a.

TEIXEIRA, S. S. **Mecanismos envolvidos na ação não genômica do hormônio tireoideano sobre a expressão e translocação da isoforma 4 do transportador de glicose (GLUT4): estudo no tecido muscular esquelético e adiposo.** 2010. Tese (Doutorado em Fisiologia Humana) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2010. Disponível em: <http://www.teses.usp.br/teses/disponiveis/42/42137/tde-13122010-103411/>.

TOMÁS-BARBERÁN, F. A.; GONZÁLEZ-SARRÍAS, A.; GARCÍA-VILLALBA, R. **Dietary polyphenols: metabolism and health effects.** Hoboken. 1 ed. NJ: Wiley-Blackwell. Technology & Engineering. dec. 2020. 560 p. ISBN: 978-1-119-56372-3.

WRÓBEL, M. P.; MAREK, B.; KAJDANIUK, D.; ROKICKA, D.; SZYMBORSKA-KAJANEK, A.; STROJEK, K. Metformin - a new old drug. **Endokrynologia Polska**, v. 68, n. 4, p. 482-496, 2017. Doi: 10.5603/EP.2017.0050.

YING, Y.; JIN, J.; YE, L.; SUN, P.; WANG, H.; WANG, X. Phloretin Prevents Diabetic Cardiomyopathy by Dissociating Keap1/Nrf2 Complex and Inhibiting Oxidative Stress. **Frontiers Endocrinology**, v. 9, n. 774, p. 1-11, dec. 2018. Doi: 10.3389/fendo.2018.00774.

ZHAO, F. Q.; KEATING, A. F. Expression and regulation of glucose transporters in the bovine mammary gland. **Journal of Dairy Science**, v. 90, n. 1, p. E76-86, jun. 2007. Doi: 10.3168/jds.2006-470.

ZHAO, Y. Y.; FAN, Y.; WANG, M.; WANG, J.; CHENG, J. X.; ZOU, J. B.; ZHANG, X. F.; SHI, Y. J.; GUO, D. Y. Studies on pharmacokinetic properties and absorption mechanism of phloretin: In vivo and in vitro. **Biomed Pharmacother**, v. 132, 110809, dec. 2020. Doi: 10.1016/j.biopha.2020.110809.

Autores

Thalita Faleiros Demito Santos^{1,*}, Gustavo Henrique Souza², Jurandir Fernando Comar³, Livia Bracht³, Rosane Marina Peralta³, Adelar Bracht³, Anacharis Babeto de Sá-Nakanishi⁴

1. Programa de Pós-graduação em Ciências de Alimentos, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, Brasil.
2. Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Estadual de Maringá, Avenida Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.
3. Departamento de Bioquímica Bloco I-89, sala 01, Universidade Estadual De Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.
4. Laboratório de Metabolismo Hepático, Universidade Estadual de Maringá, Av. Colombo, 5790, 87020-900, Maringá, PR, Brasil.

*Autor para correspondência: thalita.idealcurso@hotmail.com