

ANDREIA FILIPA FERREIRA SOUSA SANTOS

**AÇÃO ANTIDIABÉTICA DE COMPOSTOS DE
ORIGEM NATURAL**

Orientador: Professora Doutora Ana Sofia Fernandes

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2021

ANDREIA FILIPA FERREIRA SOUSA SANTOS

**AÇÃO ANTIDIABÉTICA DE COMPOSTOS DE
ORIGEM NATURAL**

Dissertação defendida em provas públicas para obtenção do Grau de Mestre no Curso de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas, conferido pela Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias, no dia 7 de Abril de 2021, com o Despacho de Nomeação de Júri N° 80/2021, de 18 de Março, com a seguinte composição:

Presidente: Prof. Doutor Luís Monteiro Rodrigues

Arguente: Prof. Doutor João Guilherme Costa

Orientadora: Prof^a. Doutora Ana Sofia Fernandes

Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias

Escola de Ciências e Tecnologias da Saúde

Lisboa

2021

Agradecimentos

Recordarei para sempre e com saudade estes cinco anos de percurso académico. Esta longa caminhada envolveu diversos sentimentos como a ansiedade, felicidade, divertimento, euforia e, acima de tudo, determinação.

Primeiramente, agradeço aos meus pais pelo acompanhamento e esforço realizado, pois foram eles os principais responsáveis por ter conseguido concluir esta grande etapa. Agradeço-lhes pela educação e determinação que me foram transmitidas e que me permitiram tornar a pessoa que sou hoje.

Agradeço igualmente às minhas irmãs, por todo o apoio e incentivo incondicional recebido ao longo destes anos. Aos meus sobrinhos, agradeço por terem contribuído com os seus sorrisos e alegrias.

Um forte e sincero agradecimento ao meu amigo e namorado, que ao longo destes cinco anos esteve sempre ao meu lado incondicionalmente e me proporcionou alegrias constantes.

À Professora Doutora Ana Sofia Fernandes, orientadora da dissertação, agradeço pela simpatia sempre demonstrada, pelo apoio e pelas valiosas contribuições para a elaboração da dissertação.

Um especial agradecimento a todos os docentes que conheci ao longo do percurso académico e que contribuíram para o meu crescimento como estudante e profissional.

Por último, mas não menos importante, deixo o meu agradecimento a todos aqueles que me acompanharam durante esta etapa e que contribuíram de algum modo quer a nível intelectual, como emocional.

Resumo

A Diabetes *mellitus* (Dm) é uma doença crónica de origem metabólica que é caracterizada por hiperglicemia resultante da deficiente produção e libertação de insulina pelo pâncreas, da resistência à ação da insulina ou ambas. A Dm pode ser classificada em três tipos principais: a Diabetes *mellitus* Tipo I (DMTI), a Diabetes *mellitus* Tipo II (DMTII) e a Diabetes *mellitus* gestacional (DMG). A DMTII é o tipo mais comum de diabetes. Ao longo das últimas décadas, tem havido um aumento da taxa de incidência da Dm em todo o mundo devido a fatores como o estilo de vida sedentário e a obesidade.

No tratamento farmacológico da Dm são utilizadas diversas classes farmacoterapêuticas administradas por via oral, incluindo os inibidores da alfa (α)-glicosidase intestinal.

O presente trabalho tem como principal objetivo avaliar a atividade inibitória da α -glicosidase de alguns compostos naturais presentes nas plantas do género *Plectranthus in vitro*, nomeadamente, a 7 α -Acetoxi-6 β -hidroxiroileanona (Roy), a 6,7-Desidroroileanona (Deroy) e a Coleona U (CU).

Segundo os resultados obtidos, os compostos Roy e CU revelaram baixa atividade inibitória da enzima α -glicosidase e, consequentemente, ação antidiabética diminuída. Relativamente a Deroy, este composto não apresentou atividade inibitória enzimática e, por isso, não mostrou atividade antidiabética por este mecanismo de ação.

Palavras-chave: Diabetes *mellitus*, Ação antidiabética, Atividade inibitória, Diterpenos, Alfa-glicosidase.

Abstract

Diabetes *mellitus* (Dm) is a chronic disease of metabolic origin that is characterized by hyperglycemia resulting from deficiency in the production and release of insulin by the pancreas, resistance to the action of insulin or both. Dm can be classified in three main types: Type I Diabetes *mellitus* (DMTI), Type II Diabetes *mellitus* (DMTII) and Gestational Diabetes *mellitus* (DMG). DMTII is the most common type of diabetes. Over the past few decades, there has been an increase in the incidence rate of Dm worldwide due to factors such as sedentary lifestyle and obesity.

In the pharmacological treatment of Dm several pharmacotherapeutic classes administered orally are used, including intestinal alpha (α)-glucosidase inhibitors.

The present work has as main objective to evaluate the inhibitory activity of α -glycosidase of some isolated natural compounds present in plants of the genus *Plectranthus in vitro*, namely, 7 α -acetoxy-6 β -hydroxyroyleanone (Roy), 6, 7-Dehydroroyleanone (Deroy) and Coleon U (CU).

According to the results obtained, the compounds Roy and CU showed low inhibitory activity of the enzyme α -glycosidase and, consequently, weak antidiabetic action. Regarding Deroy, this compound did not show enzyme inhibitory activity and, therefore, did not show antidiabetic activity by this mechanism of action.

Keywords: Diabetes *mellitus*, Antidiabetic action, Inhibitory activity, Diterpenes, Alpha-glicosidase.

Lista de Abreviaturas e Siglas

Aa – Absorvência da amostra real

a.C. – Antes de Cristo

ADA – American Diabetes Association

ADO – Antidiabético Oral

AVC – Acidente Vascular Cerebral

B – Branco

CN – Controlo Negativo

CU - Coleona U

d.C. – Depois de Cristo

DCV – Doença Cardiovascular

Deroy - 6,7-Desidroroileanona

DGS – Direção-Geral da Saúde

DI – Diabetes insípida

Dm – Diabetes mellitus

DMG – Diabetes *mellitus* gestacional

DMI – Diabetes *mellitus* Tipo I

DMII – Diabetes *mellitus* Tipo II

DPP-4 – Dipeptidilpeptidase-4

EUA – Estados Unidos da América

FID – Federação Internacional da Diabetes

GLP-1 – *Glucagon-like* peptídeo-1

GLUT-4 – Transportador de Glicose-4

HbA1c – Hemoglobina Glicada

HC – Hidratos de Carbono

IDPP-4 – Inibidores da Dipeptidilpeptidase-4

IL-2 – Interleucina – 2

IL-6 – Interleucina – 6

IMC – Índice de Massa Corporal

Met – Metformina

OMS – Organização Mundial da Saúde

PTGO – Prova de Tolerância à Glicose Oral

Roy - 7 α -Acetoxi-6 β -hidroxiroileanona

SGLT-2 - Inibidores do co-transportador-2-sódio-glucose

Su – Sulfonilureias

TAGP – Teste Aleatório de Glicose Plasmática

TGPJ – Teste de Glicose Plasmática em Jejum

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa

VIH – Vírus da Imunodeficiência Humana

WHO – World Health Organization

2-hGP – Glicose Plasmática de 2 horas

%AE – Percentagem de Atividade Enzimática

%I – Percentagem de Inibição

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABELAS	9
ÍNDICE DE FIGURAS	10
INTRODUÇÃO.....	11
CAPÍTULO I – DIABETES <i>MELLITUS</i>	13
1.1. HISTÓRIA	14
1.2. CARACTERIZAÇÃO E ETIOLOGIA	15
1.3. EPIDEMIOLOGIA	17
1.4. FISIOPATOLOGIA	20
1.5. DIAGNÓSTICO E CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO.....	21
1.5.1. CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO.....	23
1.5.2. DIAGNÓSTICO EM PORTUGAL.....	24
1.6. CLASSIFICAÇÃO	25
1.7. DIABETES <i>MELLITUS</i> TIPO 2	27
1.7.1. SINAIS E SINTOMAS.....	28
1.7.2. FATORES DE RISCO	29
1.7.3. COMPLICAÇÕES	33
1.7.4. TERAPÊUTICA	37
CAPÍTULO II – ESTUDO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ALFA-GLICOSIDASE DE COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL	47
2.1. OBJETIVO.....	48
2.2. AMOSTRAS	49
2.3. MATERIAL E REAGENTES.....	50
2.3.1. MATERIAL DE LABORATÓRIO.....	50
2.3.2. REAGENTES	50
2.4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL	51
2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	53

CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	57

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Critérios para o diagnóstico da Diabetes <i>mellitus</i> . Adaptado de (ADA, 2020).	22
Tabela 2. Procedimento para a realização da Prova de Tolerância à Glicose Oral de acordo com as <i>guidelines</i> da OMS. Adaptado de (Petersmann <i>et al.</i> , 2019).	23
Tabela 3. Complicações desenvolvidas pela Diabetes <i>mellitus</i> . Adaptado de (Guthrie & Guthrie, 2004) (Khan <i>et al.</i> , 2019).	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Trajeto da insulina no corpo humano. Reproduzido de (Tokarz <i>et al.</i> , 2018).	17
Figura 2. Estimativa do número de adultos com diabetes no mundo. Reproduzido de (FID, 2019c).	18
Figura 3. Partes do corpo humano afetadas pelas complicações desenvolvidas pela Diabetes mellitus. Reproduzido de (Khan <i>et al.</i> , 2019).	37
Figura 4. Representação do mecanismo de ação dos fármacos inibidores da α -glicosidase intestinal. Adaptado de (Padhi <i>et al.</i> , 2020).	48
Figura 5. Estrutura química dos compostos de origem natural isolados de plantas do género <i>Plectranthus</i> : a 7 α -Acetoxi-6 β -hidroxiroileanona (Roy) (1), a 6,7-Desidroroileanona (Deroy) (2) e a Coleona U (CU) (3). Adaptado de (Matias <i>et al.</i> , 2019b) (Śliwiński <i>et al.</i> , 2020).	50
Figura 6. Representação do ensaio de inibição da α -glicosidase.	51
Figura 7. Esquema das diluições realizadas para Roy, Deroy e CU.	52
Figura 8. Ilustração da preparação da microplaca de 96 poços para a realização do ensaio de inibição enzimática	53
Figura 9. Representação gráfica da atividade inibitória da enzima α -glicosidase dos três compostos de origem natural estudados.	54

INTRODUÇÃO

A Diabetes *mellitus* é uma doença crónica de origem metabólica que é caracterizada por hiperglicemia constante devido a uma deficiência na produção e libertação de insulina, resistência à ação da insulina ou ambos, resultante do declínio da função e/ou destruição das células beta (β) pancreáticas. Os níveis elevados de glicose sanguínea a longo prazo são responsáveis por desencadear diversas complicações como doenças cardiovasculares, nefropatia, retinopatia e neuropatia. Assim, a Dm é responsável por desencadear complicações crónicas macrovasculares, microvasculares e neuropáticas (Kharroubi & Darwish, 2015) (Padhi *et al.*, 2020).

Considerada a epidemia do século, a Dm é um problema de saúde pública, uma vez que afeta mais de 400 milhões de pessoas em todo o mundo, sendo o estilo de vida sedentário uma das principais razões para o aumento exponencial do número de doentes com diabetes em todo o mundo (Kharroubi & Darwish, 2015) (Padhi *et al.*, 2020).

Apesar de estarem descritos diversos tipos de Dm, destacam-se três tipos principais: a Diabetes *mellitus* Tipo I, a Diabetes *mellitus* Tipo II e a Diabetes *mellitus* gestacional, sendo que ao longo da presente dissertação é dado mais ênfase à Diabetes *mellitus* Tipo II (Kharroubi & Darwish, 2015).

As principais classes farmacoterapêuticas utilizadas no tratamento oral da DMTII incluem biguanidas, as sulfonilureias, os inibidores da dipeptilpeptidase-4, as tiazolidinedionas, os derivados da fenilalanina, os inibidores do co-transportador-2-sódio-glucose e os inibidores da α -glucosidade intestinal (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016) (Padhi *et al.*, 2020).

No presente trabalho serão apresentados os conteúdos mais relevantes relacionados com a Diabetes *mellitus*, sendo dada mais relevância à DMTII. Assim, é descrita a sua etiologia e fisiopatologia, os principais fatores de risco e complicações derivadas da Dm, bem como a sua tendência epidemiológica a nível global. As principais classes farmacoterapêuticas utilizadas no tratamento da DMTII são também exploradas, sendo dado algum destaque aos inibidores da α -glicosidase intestinal.

Considerando os aspetos mencionados anteriormente, a presente dissertação tem como objetivo estudar potenciais metabolitos secundários biologicamente ativos que se encontram presentes em plantas medicinais do género *Plectranthus*. Este estudo é realizado através da

avaliação da atividade inibitória da enzima α -glicosidase de alguns compostos de origem natural.

CAPÍTULO I – DIABETES *MELLITUS*

1.1. HISTÓRIA

A Diabetes *mellitus* foi pela primeira vez reconhecida nos anos de 1500 a.C, pelos antigos Egípcios. Esta era uma doença caracterizada por ser uma condição rara em que havia uma grande eliminação de urina e perda de peso (Polonsky, 2012).

Por sua vez, os Médicos Indianos (400-500 a.C.) designaram a diabetes como urina de mel, uma vez que esta atraía as formigas. Posteriormente, o Médico Grego Arataeus (80-138 d.C.) inventou o termo “diabetes” que vem da palavra grega “sifão”, remetendo para o facto de os doentes não conseguirem saciar a sede que sentiam por perderem quantidades excessivas de líquidos através da urina. Mais tarde, o Médico Indiano Sushruta e o Cirurgião Charaka (400-500 d.C.) conseguiram identificar os dois tipos de diabetes que, anos mais tarde, foram designados de Diabetes *mellitus* Tipo I e Diabetes *mellitus* Tipo II. Por seu tempo, o Médico Persa Avicena (980-1037 d.C.) descreveu as características clínicas da Dm na sua conhecida enciclopédia “*The Canon of Medicine*”, referindo o apetite anormal e complicações como a gangrena (Lakhtakia, 2013).

A concentração de glicose na urina foi medida pela primeira vez em 1776 por Matthew Dobson, que verificou que o nível de glicose estava aumentado em alguns doentes (Polonsky, 2012).

Em 1798, o Cirurgião Geral Britânico John Rollo criou o termo *mellitus* que remete para “doce como o mel”. Este termo foi usado para distinguir a Dm da Diabetes insípida (DI), uma vez que neste tipo de diabetes a urina não é doce (Lakhtakia, 2013).

A Dm foi reconhecida como patologia clínica pelo “*New England Journal of Medicine and Surgery*” em 1812. Na época não se sabia quais os mecanismos que eram responsáveis pela Dm e não havia um tratamento eficaz. Assim, a Dm era considerada uma doença fatal podendo levar à morte semanas a meses após o seu diagnóstico (Polonsky, 2012).

Em 1869, foram descobertos os ilhéus na região pancreática, sendo designados de Langerhans. Posteriormente, em 1910, Sharpey-Schafer descobriu que as pessoas com diabetes não produziam uma substância nos ilhéus de Langerhans do pâncreas à qual deram o nome de insulina. O primeiro caso de um doente com Dm a ser tratado com sucesso foi em 1922, através da insulina purificada do pâncreas bovino, havendo redução dos níveis de glicose. Entre as décadas de 1920 e 1930, foi estudada a possibilidade de existirem diferentes formas de diabetes. Assim, surgiu a distinção entre “glicosúria hepática” que era incomum nos jovens e a “diabetes

verdadeira” que afetava os jovens e que apenas era tratada com insulina. Na década de 1950, através da técnica de radioimunoensaio, distinguiu-se de forma clara a diferença entre *Dm* “insulinodependente” e *Dm* “não-insulinodependente” (Zaccardi *et al.*, 2015).

Grandes avanços científicos foram fundamentais para compreender a doença e as suas causas, o que permitiu aumentar a expectativa de vida para os doentes com diabetes através de tratamentos eficazes para tratar a hiperglicemia e as suas complicações (Polonsky, 2012).

1.2. CARACTERIZAÇÃO E ETIOLOGIA

A *Dm* é uma doença crónica de origem metabólica caracterizada por níveis elevados de glicose no sangue - hiperglicemia - resultante da deficiente produção e libertação de insulina pelo pâncreas, da diminuição da resposta periférica pelos órgãos à insulina ou ambos. No desenvolvimento da *Dm* estão envolvidos vários processos patogénicos, desde a destruição autoimune das células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, tendo como consequência a deficiente produção e libertação de insulina, até anormalidades que originam resistência à ação da insulina, como referido anteriormente. A ação deficiente de insulina nos tecidos-alvos, resultante da produção e libertação inadequada de insulina e/ou diminuição da resposta periférica dos tecidos à insulina – resistência à insulina, contribui para o anormal metabolismo dos hidratos de carbono, proteínas e lípidos e para um aumento anormal dos níveis de glicose no sangue (American Diabetes Association (ADA), 2014).

Assim, existem diversos mecanismos que podem causar um decréscimo na função das células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas ou conduzir até à sua destruição completa, uma vez que o pâncreas humano é incapaz de renovar este tipo de células depois dos ~30 anos de idade, deixando de ser substituídas. Como tal, os mecanismos responsáveis pelo declínio da função e/ou destruição das células β pancreáticas são a resistência à insulina, processo autoimune, a predisposição genética, processos epigenéticos, doenças concomitantes, inflamação e fatores ambientais (World Health Organization (WHO), 2019).

A *Dm* está associada a uma hiperglicemia crónica que é responsável por desencadear danos a longo prazo como a disfunção e falência dos diversos órgãos, principalmente, os vasos sanguíneos, o coração, sistema nervoso, rins e olhos (ADA, 2014). A elevação a longo prazo dos níveis de glicose sanguínea é, assim, responsável por desencadear doenças cardiovasculares, acidente vascular cerebral (AVC), retinopatia com perda potencial de visão,

cataratas, doenças renais como a nefropatia levando a insuficiência renal, úlceras nos pés, doenças hepáticas, obesidade e disfunção erétil (ADA, 2014) (WHO, 2019).

Paralelamente à hiperglicemia, existem outros fatores que aumentam o risco de complicações como a hipertensão, a hiperlipidemia e o *stress* oxidativo (Asmat *et al.*, 2016).

A poliúria, polidipsia, polifagia e perda de peso são sintomas de uma hiperglicemia marcada, podendo ter ainda associado a visão turva. A hiperglicemia crónica pode também ser acompanhada de diminuição do crescimento e suscetibilidade a certas infeções (ADA, 2014). A cetoacidose ou um estado hiperosmolar não-cetónico responsável por desencadear desidratação, coma ou morte, são as manifestações clínicas mais graves (WHO, 2019).

No que diz respeito à insulina, esta é uma hormona proteica sintetizada nas células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas endócrino em resposta a vários estímulos, nomeadamente, aos elevados níveis de glicose em circulação, sendo o principal determinante para a produção desta hormona (Asmat *et al.*, 2016). Esta é uma hormona que possui diversas funções em diferentes tecidos, como o adiposo, o muscular e o hepático, sendo responsável pela regulação do metabolismo energético e pela utilização adequada de glucose (Tokarz *et al.*, 2018).

Através da circulação portal a insulina é transportada para o fígado, sendo mais do que metade da insulina eliminada pelos hepatócitos. A restante insulina sai do fígado pela veia hepática, seguindo a circulação venosa até ao coração. Posteriormente, a insulina é distribuída para o resto do corpo através da circulação arterial, promovendo a vasodilatação. De seguida, a insulina atinge o tecido muscular esquelético e o tecido adiposo, ligando-se aos seus recetores que se encontram na superfície dos miócitos e adipócitos, respetivamente, levando à estimulação da translocação do transportador de glucose-4 (GLUT-4) e à captação de glucose. A insulina que ainda se encontra em circulação vai ser degradada e excretada pelos rins. Assim, o fígado é o primeiro órgão que a insulina encontra após ser biossintetizada pelo pâncreas, sendo o tecido hepático exposto a maiores concentrações de insulina do que os tecidos muscular e adiposo (Tokarz *et al.*, 2018) (Triplitt, 2012). Na figura 1 observa-se o trajeto da insulina no corpo humano.

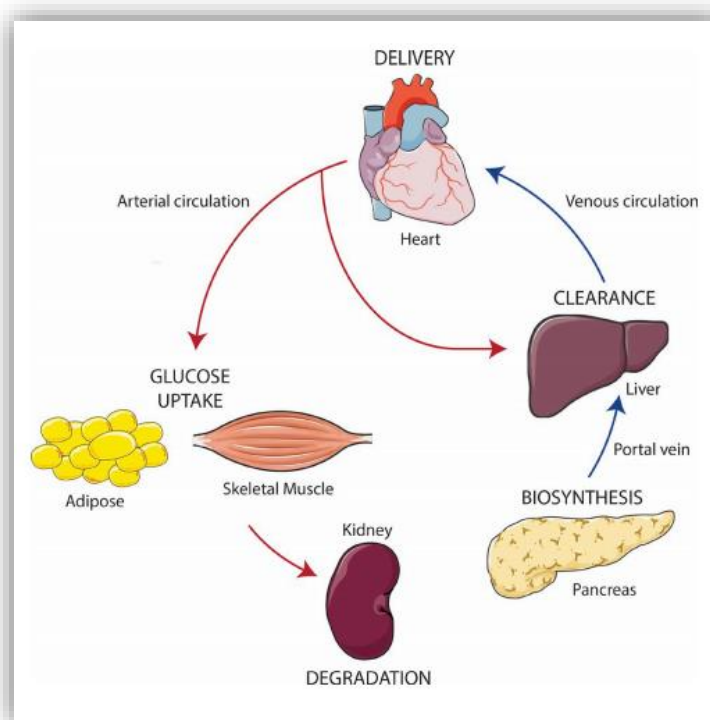


Figura 1. Trajeto da insulina no corpo humano. Reproduzido de (Tokarz *et al.*, 2018).

O fígado é, assim, responsável por promover a libertação de glicose para a circulação sanguínea, acelerando o seu metabolismo. No entanto, se existir excesso de glicose na circulação sanguínea, esta vai ser armazenada no fígado na forma de glicogénio e, como referido anteriormente, a glicose que se encontra na circulação sanguínea vai ser captada para o interior das células musculares esqueléticas e células adiposas, de modo a haver diminuição dos níveis de glicose sanguínea. Esta captação de glicose para o interior das células ocorre por ligação da insulina aos recetores que se encontram à superfície das células. A ligação da insulina a estes recetores vai promover a sua ativação e induz ações metabólicas que facilitam a entrada de glucose que se encontra na circulação sanguínea para o interior das células (Aronoff *et al.*, 2004) (Tokarz *et al.*, 2018).

1.3. EPIDEMIOLOGIA

A Dm é uma doença que existe em todas as populações do mundo e em todas as regiões, estando incluídas as zonas rurais de países de baixo a médio rendimento, havendo um aumento acentuado da doença nesses países, comparativamente a países com um rendimento superior (WHO, 2020b) (WHO, 2019).

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2014 havia 422 milhões de adultos com diabetes a nível mundial. Em 2016, a *Dm* foi a sétima causa de morte, equivalente a 1,6 milhões de mortes por diabetes (WHO, 2020b). Mais recentemente, em 2019, verificou-se que a *Dm* foi uma das principais causas de morte a nível mundial. Assim, a *Dm* foi a décima causa de morte nos homens, correspondendo a 730 mil de mortes por diabetes. Relativamente à população feminina, a *Dm* foi a oitava causa de morte, o equivalente a 766 mil mortes por diabetes (WHO, 2021).

De acordo com a Federação Internacional da Diabetes (FID), em 2019, 463 milhões de pessoas tinham *Dm* a nível mundial, o equivalente a 1 em cada 11 pessoas adultas com idade entre os 20 e os 79 anos, sendo que 79% destas pessoas vivem em países de baixo a médio rendimento. No entanto, cerca de metade das pessoas com *Dm* não são diagnosticadas, o equivalente a 1 em cada 2 pessoas que têm a doença e que não são diagnosticadas, correspondendo a 232 milhões de pessoas (Federação Internacional da Diabetes (FID), 2019c).

De acordo com as previsões futuras da FID estima-se que até 2030 haverá 578 milhões de pessoas com *Dm* e cerca de 700 milhões até 2045 (FID, 2019c). Na figura 2 pode-se observar a estimativa do número de adultos com diabetes a nível mundial.

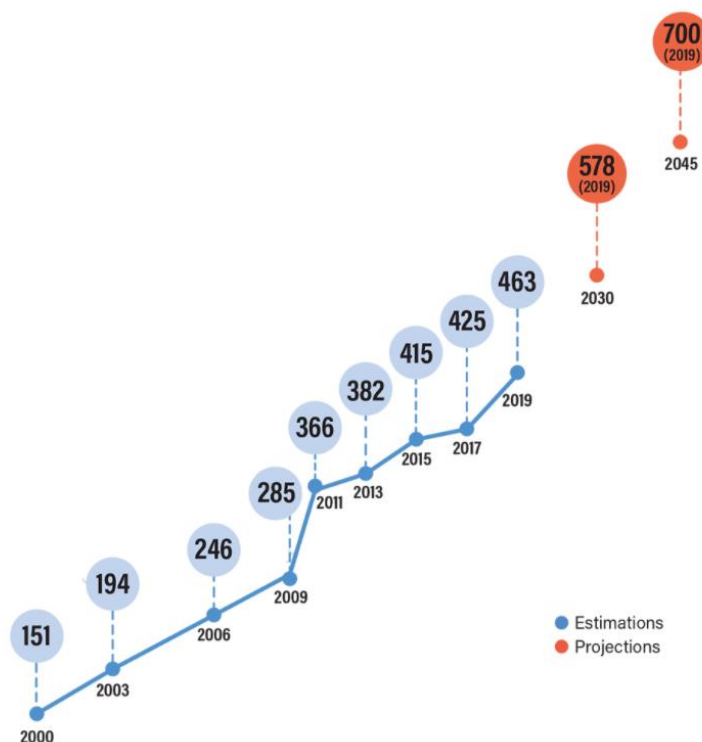


Figura 2. Estimativa do número de adultos com diabetes no mundo. Reproduzido de (FID, 2019c).

Como se pode verificar, existe uma crescente prevalência da *Dm* em todo o mundo. O aumento da DMTII tem contribuído para o aumento da prevalência da diabetes, estando relacionado com fatores de risco como dietas não saudáveis, aumento dos níveis de obesidade e inatividade física. Como tal, o estilo de vida sedentário, o aumento do consumo de alimentos processados e o maior consumo calórico são fatores que contribuem para o aumento da prevalência da DMTII. Para além do referido, a urbanização crescente também tem contribuído para o aumento da prevalência da *Dm*. Assim, segundo a FID, nas zonas urbanas a prevalência global de *Dm* é superior às zonas rurais, o equivalente a 10,8% e a 7,2%, respetivamente (FID, 2019c).

De acordo com a OMS, todos os anos morrem cerca de 1,6 milhões de pessoas com diabetes, havendo uma taxa de mortalidade elevada atribuída à doença (WHO, 2020a).

Segundo a FID o elevado número de mortes, incapacidade e complicações de saúde derivadas da doença têm impacto económico nos países, uma vez que os gastos anuais dos serviços de saúde associados à *Dm* são elevados, correspondendo a 35%. Assim, para além de ter efeitos nos doentes, a diabetes pode também ter impacto a nível social e económico (FID, 2019b).

A *Dm* é, assim, uma doença que pode afetar todas as idades, comunidades e continentes. No que diz respeito à idade, estima-se que 3 em cada 4 pessoas que têm *Dm* encontram-se entre os 20 e os 64 anos, o equivalente a 352 milhões de pessoas que têm diabetes e que estão em idade de trabalho. De acordo com a FID, prevê-se que este número aumente para 417 milhões em 2030 e para 486 milhões até 2045. Relativamente a pessoas com mais de 65 anos, no ano de 2019 o número de pessoas com *Dm* estimado foi de 111 milhões. Estima-se que até 2030 o número de pessoas com a doença dentro dessa faixa etária aumente para 195 milhões, sendo que em 2045 poderá chegar a 276 milhões de pessoas com *Dm*. Na faixa etária inferior aos 20 anos, correspondente a crianças e adolescentes, segundo a FID estima-se que 1,1 milhões tenha DMTI. No entanto, existem evidências que a DMTII tem aumentado nesta faixa etária. A nível geográfico, de acordo com a FID, os países com maior número de pessoas adultas com *Dm* em 2019 foram os Estados Unidos da América (EUA), China e a Índia, sendo a tendência para permanecer assim até 2030. Assim, a tendência nos próximos 25 anos é o aumento da prevalência da *Dm* em todos os países, havendo um aumento acentuado nos países de baixo a médio rendimento (FID, 2019a).

Em Portugal, segundo a OMS, no ano de 2016 a prevalência da *Dm* na população foi de 9,2%, sendo mais prevalente no sexo masculino que no feminino correspondendo a 10,7% e a 7,8%, respetivamente. Da totalidade da população com *Dm*, 59,8% apresentava excesso de peso, 22,1% obesidade e 37,3% inatividade física, sendo os principais fatores de risco para o desenvolvimento da *Dm*. Durante este ano, morreram 11.460 pessoas devido à diabetes e a fatores relacionados com níveis elevados de glicemia, o equivalente a 5% das mortes ocorridas no ano de 2016 (WHO, 2016). No ano de 2018, na população portuguesa com idades entre os 20 e os 79 anos, a prevalência de *Dm* foi de 13,6%, o equivalente a mais de 1 milhão de portugueses com *Dm*, neste grupo etário (Raposo, 2020).

Entre o ano de 2009 e 2018, devido ao impacto do envelhecimento no grupo etário referido, a taxa de prevalência da *Dm* teve um crescimento na ordem dos 16,3%. Estima-se que em 2018 ocorreram entre 605 e 618 novos casos de *Dm* por cada 100 000 habitantes (Raposo, 2020).

1.4. FISIOPATOLOGIA

Nos indivíduos saudáveis, após a ingestão de alimentos, ocorre a digestão e a absorção ao longo do trato gastrointestinal, nomeadamente a digestão de hidratos de carbono (HC) e absorção de glicose. Posteriormente, a glicose que é absorvida no trato intestinal é conduzida para a circulação sanguínea, resultando no aumento dos níveis de glicose no sangue (Asmat *et al.*, 2016) (Guthrie & Guthrie, 2004).

Este aumento de glicose no sangue promove a secreção de insulina, por estimulação das células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, promovendo um aumento do transporte, biotransformação e armazenamento de glicose no tecido muscular e adiposo (Asmat *et al.*, 2016).

No entanto, em jejum, uma vez que os níveis de glicose sanguínea diminuem, ocorre a quebra de glicogénio pelo fígado - glicogenólise - havendo a libertação de glicose para o sangue, de forma a normalizar os níveis de glicose sanguínea. A glicose formada pela quebra de glicogénio é também usada pelo cérebro independentemente da insulina (Asmat *et al.*, 2016). A glicogenólise é um processo desencadeado por uma hormona que é produzida pelas células alfa pancreáticas, o glucagon. Esta hormona é produzida quando há uma diminuição dos níveis de glicose no sangue, sendo então responsável por normalizar os níveis de glicose sanguínea (Mayo, 2016).

A insulina é importante tanto para o transporte de glicose nas células como para o seu armazenamento. No entanto, para além de promover o armazenamento de glicose na forma de glicogénio no fígado, a insulina é responsável por inibir a secreção de glucagon havendo uma diminuição da produção de glicose no fígado (Asmat *et al.*, 2016).

Assim, quando os níveis de glicose sanguínea estão elevados, o cérebro reconhece e conduz uma mensagem através dos impulsos nervosos ao pâncreas e aos outros órgãos para haver uma diminuição dos níveis elevados de glicose no sangue (Baynest, 2015).

Na Dm estamos perante uma situação em que há falta de insulina e/ou resistência à insulina, conduzindo a uma reversão dos processos mencionados. A falta de insulina e/ou resistência à insulina leva a uma redução da captação de glicose pelos tecidos, originando hipoglicemia intracelular e hiperglicemia extracelular. A hipoglicemia intracelular é responsável por causar cetoacidose diabética, originada pela metabolização de gordura resultante da glicogénese e da gliconeogénese. Também, é responsável por causar polifagia, caquexia e dificuldade de cicatrização das feridas, devido à diminuição da síntese de proteínas e gamaglobulinas. A hiperglicemia extracelular pode conduzir ao coma hiperglicémico e poliúria (Asmat *et al.*, 2016).

A Dm é uma doença que está relacionada tanto com a disponibilidade da insulina, quer com a sua eficácia. Quando existe um défice na produção e secreção de insulina, os níveis de glicose sanguíneos mantêm-se elevados, conduzindo a um menor transporte e armazenamento de glicose nas células musculares e adiposas. A regulação da secreção de glucagon vai também ser afetada pela deficiente produção de insulina, contribuindo para níveis elevados de glicose no sangue (Moini, 2019).

No entanto, quando existe resistência à insulina, apesar desta hormona estar presente em níveis elevados, o corpo reage como se a insulina não estivesse presente havendo uma diminuição da resposta periférica dos tecidos à insulina. Assim, existe menor captação de glicose para o interior das células musculares esqueléticas e adiposas, uma vez que deixa de existir reconhecimento da insulina pelos seus recetores, que se encontram à superfície das células (ADA, 2014) (Moini, 2019).

1.5. DIAGNÓSTICO E CRITÉRIOS DE DIAGNÓSTICO

O diagnóstico da Dm é realizado tendo como base valores de glicose plasmática tais como o valor do Teste de Glicose Plasmática em Jejum (TGPI), o valor de Glicose Plasmática

de 2 horas (2-h GP) durante a Prova de Tolerância à Glicose Oral (PTGO) de 75 g e o valor do teste de Hemoglobina Glicada (HbA1c) (ADA, 2020). Perante um doente que apresente sintomas clássicos como hiperglicemia ou uma crise hiperglicémica deverá ser realizado um Teste Aleatório de Glicose Plasmática (TAGP) (ADA, 2020) (Khan *et al.*, 2019).

Todos os testes referidos anteriormente são usados para diagnosticar a Dm. No entanto, o teste de HbA1c é mais vantajoso comparativamente ao TGPI e PTGO, uma vez que não é necessário estar em jejum e existe maior estabilidade pré-analítica e menos perturbações do dia-a-dia como o *stress*, a dieta e determinadas doenças. Em contrapartida este teste pode apresentar menor sensibilidade, ser mais caro e pode não estar disponível em todas as regiões do mundo. Para além do referido, pode não haver correlação entre a glicose média, em certas pessoas, e a HbA1c. Assim, quando se usa o teste da HbA1c para realizar o diagnóstico da Dm é fundamental ter em conta que HbA1c é uma medida indireta dos níveis médios de glicose no sangue. Como tal, deve-se ter em consideração diversos fatores que podem ter impacto na glicação da hemoglobina, independentemente dos níveis de glicose no sangue, como a hemodiálise, tratamentos para o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH), a gravidez, a idade, a raça, anemia/hemoglobinopatias e história genética (ADA, 2020).

Na tabela 1 encontram-se referidos os diferentes testes de diagnóstico para a Dm e os seus respetivos critérios.

Tabela 1. Critérios para o diagnóstico da Diabetes *mellitus*. Adaptado de (ADA, 2020).

Testes de Diagnóstico	Critérios de Diagnóstico para Dm
TGPJ*	≥ 126 mg/dl (7,0 mmol/L)
PTGO**	2-h GP ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/L) durante a PTGO.
HbA1c	$\geq 6,5\%$ (48 mmol/mol)
TAGP	≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/L)

TGPJ, Teste Glicose Plasmática em Jejum; PTGO, Prova de Tolerância à Glicose Oral; HbA1c, Hemoglobina Glicada; TAGP, Teste Aleatório de Glicose Plasmática. *É considerado jejum quando não há nenhuma ingestão calórica durante pelo menos 8 horas (ADA, 2020) (Khan *et al.*, 2019). ** Este teste deve ser realizado conforme descrito pela OMS, utilizando-se uma quantidade de glicose equivalente a 75 gramas de glicose anidra dissolvida em água. A glicose sanguínea é medida após 8 horas em jejum e 2 horas após a ingestão da solução xarope de glicose (ADA, 2020) (Khan *et al.*, 2019).

Relativamente à PTGO, esta deverá de ser realizada de acordo com as *guidelines* da OMS (Petersmann *et al.*, 2019). Na tabela 2 encontram-se especificados os procedimentos para a realização da PTGO.

Tabela 2. Procedimento para a realização da Prova de Tolerância à Glicose Oral de acordo com as *guidelines* da OMS. Adaptado de (Petersmann *et al.*, 2019).

Realizar o teste de manhã	Após 8 a 12 horas de jejum (sem ingestão calórica); Após 3 ou mais dias com dieta rica em hidratos de carbono, correspondendo a ≥ 150 g de HC por dia; Deve ser realizado sentado ou deitado, não havendo esforço muscular; Não fumar antes nem durante a realização do teste.
Momento 0	Dissolver 75 g de glicose em 250/300 ml de água e ingerir; Nas crianças utiliza-se uma quantidade de glicose equivalente a 1,75 g/kg (máximo de 75 g); Realizar a colheita de sangue no tempo 0 e 120 minutos; O processamento e armazenamento das amostras deverão ser realizados de forma adequada.
Contraindicações	Doenças gastrointestinais; Diabetes <i>mellitus</i> diagnosticado.

1.5.1. CONFIRMAÇÃO DO DIAGNÓSTICO

No que diz respeito à confirmação do diagnóstico da *Dm*, é necessário que haja dois resultados anormais para a mesma amostra ou em duas amostras diferentes, a não ser que se esteja perante um diagnóstico de *Dm* evidente. Considera-se que se está perante um diagnóstico evidente quando o doente apresenta crise hiperglicémica ou hiperglicemia juntamente com

TAGP igual ou superior a 200 mg/dl. No entanto, quando se utilizam duas amostras separadamente é recomendado realizar um segundo teste, que pode ser igual ao inicial ou diferente. Se através da mesma amostra ou de duas amostras diferentes forem realizados dois testes diferentes, como por exemplo TGPJ e HbA1c, e estes se encontrarem dentro dos critérios de diagnóstico para *Dm*, confirma-se o diagnóstico. No entanto, se o doente apresentar nos dois testes diferentes resultados discordantes, deve ser repetido o teste de diagnóstico que se encontra dentro dos critérios de diagnóstico (ADA, 2020).

Assim, para a confirmação do diagnóstico na diabetes é necessário a realização de pelo menos dois testes, uma vez que os diferentes testes de diagnósticos apresentam vantagens e desvantagens. No que diz respeito ao TGPJ este é considerado um teste com baixa sensibilidade para o diagnóstico da *Dm*. O teste da HbA1c, como já foi referido, é considerado um teste de medida indireto da glicose sanguínea. A PTGO é considerada um método preciso, no entanto, pode apresentar tolerância à glicose diminuída, em vez de diabetes (Khan *et al.*, 2019).

1.5.2. DIAGNÓSTICO EM PORTUGAL

Em Portugal, segundo a norma da Direção-Geral da Saúde (DGS), o diagnóstico da diabetes é realizado seguindo os seguintes parâmetros e valores para o plasma venoso (Direção-Geral da Saúde (DGS), 2011):

- a) Glicemia em jejum ≥ 126 mg/dl ($\geq 7,0$ mmol/L); ou
- b) Sintomas clássicos (hiperglicemia ou crise hiperglicémica) + glicemia ocasional ≥ 200 mg/dl ($\geq 11,1$ mmol/L); ou
- c) Glicemia ≥ 200 mg/dl (11,1 mmol/L) às 2 horas na PTGO com 75 g de glicose; ou
- d) HbA1c $\geq 6,5\%$.

Segundo a norma referida, no caso de pessoa assintomática o diagnóstico da diabetes não deverá ser realizado com apenas um valor anormal de glicemia em jejum ou HbA1c, sendo realizada uma segunda análise, após uma a duas semanas, para confirmação do diagnóstico. Para o diagnóstico da diabetes apenas é necessário utilizar um parâmetro. No entanto, quando os níveis de glicemia no sangue são avaliados com o teste de glicemia em jejum e de HbA1c ao mesmo tempo, considera-se que há confirmação do diagnóstico quando os valores de ambos se encontram dentro dos parâmetros de diagnóstico. Caso apresentem valores discordantes, o teste que apresente o parâmetro anormal deverá ser repetido (DGS, 2011).

1.6. CLASSIFICAÇÃO

Dos vários tipos de *Dm* descritos, destacam-se três principais. O tipo I que está associado à deficiência total de insulina, sendo considerada uma forma de doença autoimune. O tipo II que ocorre quando não há uma resposta à insulina que é produzida, estando também associado à progressiva deficiência de insulina (Khan *et al.*, 2019) (Okur *et al.*, 2017). Por último, a *Diabetes mellitus* gestacional que é diagnosticada entre o segundo e o terceiro trimestre de gravidez. Embora a DMTI não possa ser prevenida, pode haver prevenção para a DMTII seguindo um estilo de vida saudável, praticando exercício físico e uma dieta saudável (Okur *et al.*, 2017).

Assim, pode-se dividir a *Dm* em três categorias principais:

1. Diabetes mellitus do Tipo I. Este tipo de diabetes resulta da destruição das células β pancreáticas, tendo como consequência a insuficiência de insulina. Antes de ser classificada como tipo I era conhecida como diabetes insulino dependente, juvenil ou de início na infância. A destruição das células β pancreáticas ocorre devido a uma reação autoimune, em que o próprio sistema imunitário atua destruindo as células, afetando a produção de insulina, tendo como consequência uma deficiente produção de insulina (Okur *et al.*, 2017).

A destruição destas células pode ocorrer desde meses a anos, causando a diminuição das células β de modo a que a quantidade de insulina que é secretada não é suficiente para controlar os níveis de glicose (Petersmann *et al.*, 2019).

Assim, os doentes com este tipo de *Dm* necessitam de administração diária de insulina para conseguirem normalizar os níveis de glicose sanguínea (Okur *et al.*, 2017).

Apesar de ainda não se conhecer concretamente as razões pelas quais ocorre a DMTI, acredita-se que existem fatores predisponentes que podem estar relacionados com o seu aparecimento como fatores de risco ambientais e infeções virais, fatores genéticos e a autoimunidade (Mayo, 2016) (Okur *et al.*, 2017). Os principais sintomas deste tipo de *Dm* são poliúria, polidipsia, polifagia, perda de peso, fadiga e perda de visão (Okur *et al.*, 2017).

O processo de destruição das células β das ilhotas de Langerhans do pâncreas ocorre gradualmente e lentamente ao longo dos anos. No momento do diagnóstico deste tipo de diabetes estima-se que já terão sido destruídas entre 70 e 80% de células β pancreáticas (Mayo, 2016).

2. Diabetes mellitus do Tipo II. Este tipo de diabetes era conhecido como diabetes não-insulinodependente ou de início em idade adulta e caracteriza-se por haver uma deficiência progressiva na secreção de insulina e por existir resistência à insulina. Na DMTII as células β pancreáticas são capazes de produzir insulina. No entanto, a quantidade de insulina produzida pode ser insuficiente e a sua ação torna-se ineficaz. Assim, a deficiente produção e resistência à insulina são os grandes causadores dos níveis elevados de glicose sanguínea. Os sintomas deste tipo de diabetes coincidem com os da DMTI. No entanto, os sintomas na DMTII são menos perceptíveis ou ausentes. A DMTII, durante muitos anos, caracterizava-se apenas por ser observada em adultos, mas atualmente também já é diagnosticada em crianças (Mayo, 2016).

As causas exatas para o desenvolvimento deste tipo de diabetes ainda não são conhecidas. No entanto, acredita-se que pode estar relacionado com fatores de risco como o sedentarismo, excesso de peso e má nutrição. Considera-se que fatores como a história familiar de Dm, a etnia, história de DMG e idade avançada possam ter impacto neste tipo de diabetes (Mayo, 2016).

A DMTII é o tipo de diabetes mais comum (Okur *et al.*, 2017). Cerca de 75% a 80% dos doentes com este tipo de diabetes são obesas, sendo a DMTII predominante em pessoas com esta comorbidade (Mayo, 2016).

3. Diabetes mellitus gestacional. Este tipo de diabetes é diagnosticada entre o segundo e o terceiro trimestre de gravidez e caracteriza-se por haver um distúrbio provisório que ocorre na gravidez, mas que pode conduzir a DMTII (Okur *et al.*, 2017). Assim, a DMG caracteriza-se por haver um aumento da resistência à insulina e por defeitos nas células β pancreáticas (McIntyre *et al.*, 2019).

Como tal, as mulheres grávidas que se encontrem com níveis de glicose sanguínea ligeiramente elevados são diagnosticadas como DMG. No caso de mulheres grávidas que apresentem níveis de glicose sanguínea substancialmente elevadas são diagnosticadas como tendo DMTII na gravidez. Este tipo de diabetes pode surgir a partir da vigésima quarta semana de gravidez (Okur *et al.*, 2017).

Para diagnosticar este tipo de diabetes é realizado a PTGO. Este teste deve ser realizado no início da gravidez para mulheres consideradas de alto risco e entre a vigésima quarta e vigésima oitava semana de gravidez para todas as outras mulheres grávidas (Okur *et al.*, 2017) (Petersmann *et al.*, 2019). No entanto, se a mulher grávida apresentar fatores de risco

para o desenvolvimento de *Dm*, o teste é realizado durante o primeiro trimestre de gravidez. Assim, são considerados fatores de risco a história familiar de diabetes, história de glicosúria persistente, perda inexplicada de um feto e gravidez anterior com DMG ou recém-nascido com peso superior a 4500 gramas ao nascer (Petersmann *et al.*, 2019).

Os níveis de glicose sanguínea elevados durante a gravidez podem levar a consequências como elevada pressão arterial, macrosomia fetal (peso acima dos 4500 gramas) e tornar um parto normal difícil (Okur *et al.*, 2017). O controlo inadequado da glicémia durante as dez primeiras semanas de gestação pode ter como consequências o aborto espontâneo e o risco de malformações congénitas graves. Para além do referido, o recém-nascido aquando do nascimento pode apresentar dificuldade respiratória, hipocalcemia, hipoglicemia, hiperviscosidade, hiperbilirrubinemia e policitemia (Petersmann *et al.*, 2019).

Para o tratamento deste tipo de diabetes pode ser prescrito insulina ou medicamentos orais, juntamente com uma dieta controlada e atividade física (Okur *et al.*, 2017) (Petersmann *et al.*, 2019).

Normalmente, a DMG desaparece após o parto. No entanto, mulheres que foram diagnosticadas com este tipo de diabetes apresentam o risco de tornar a ter DMG nas próximas gestações. Para além disso, podem vir a ser diagnosticadas mais tarde com DMTII. Os bebés provenientes de mulheres com DMG têm maior risco de desenvolver DMTII, tanto na adolescência como na idade adulta (Okur *et al.*, 2017).

1.7. DIABETES MELLITUS TIPO 2

Como já foi referido anteriormente, a DMTII é o tipo mais comum de diabetes, correspondendo entre 80% e 90% dos casos de *Dm*. Este tipo de diabetes ocorre devido a uma disfunção nas células β pancreáticas, tendo como consequência uma diminuição progressiva da produção de insulina. Para além disso, a ação da insulina também é prejudicada pelo processo de resistência à insulina (Baynest, 2015) (Mayo, 2016). Este processo é caracterizado por existir uma diminuição da captação de glicose pelos tecidos, nomeadamente, o tecido músculo-esquelético, tecido adiposo e hepático, tendo como consequência níveis elevados de glicose no sangue (Baynest, 2015) (Zheng *et al.*, 2018).

Considera-se que este tipo de diabetes está relacionado com a obesidade, sendo que entre 75% e 80% das pessoas com DMTII já foram ou são obesas (Mayo, 2016). Assim, a maioria dos doentes com DMTII apresentam, normalmente, gordura visceral abdominal central,

conhecida como obesidade abdominal (Baynest, 2015) (Mayo, 2016). Esta é caracterizada por ser metabolicamente ativa e por libertar ácidos gordos não esterificados que, por sua vez, prejudicam a função normal da insulina que é produzida e libertada pelas células β pancreáticas, ocorrendo o processo designado de “resistência à insulina” que tem como consequência o aumento dos níveis de glicose sanguínea. Assim, a obesidade tem como consequência a infiltração de células de gordura nas células β dos ilhéus de Langerhans do pâncreas, afetando a capacidade destas células para produzirem e libertarem insulina (Mayo, 2016).

Por sua vez, a secreção de glucagon também está relacionada com a DMTII. Em jejum, quando os níveis de glicose sanguínea estão diminuídos, ocorre a produção e libertação de glucagon pelas células α pancreáticas, sendo esta hormona responsável por normalizar a glicose sanguínea e evitar que ocorra hipoglicemia. A produção e libertação desta hormona termina quando os níveis de glicose no sangue se encontram normalizados. No entanto, na DMTII deixa de ocorrer a interrupção de produção e libertação de glucagon pelas células α pancreáticas, ocorrendo de forma contínua a libertação de glucagon pós-prandial. Este acontecimento resulta num aumento dos níveis de glicose sanguínea e consequente provoca um maior esforço sobre as células β pancreáticas (Mayo, 2016).

Com o aumento constante dos níveis de glicose sanguínea, os doentes com este tipo de diabetes começam a desenvolver os sinais e sintomas típicos. Considera-se que doentes com DMTII possam ter a doença até 12 anos antes de aparecerem os sinais e sintomas típicos (Mayo, 2016).

A DMTII está associada, para além da obesidade, ao sedentarismo, idade avançada e a história familiar de diabetes (Baynest, 2015). Como tal, tanto os fatores genéticos, como os fatores ambientais e epigenéticos contribuem para o aumento da prevalência de DMTII (Baynest, 2015) (Javeed & Matveyenko, 2018).

É possível a prevenção deste tipo de diabetes através de mudanças no estilo de vida e na dieta, de forma a reduzir o risco de obesidade e, consequentemente, a resistência à insulina (Mayo, 2016).

1.7.1. SINAIS E SINTOMAS

No que diz respeito aos sinais e sintomas da *Dm*, estes variam consoante a gravidade da doença e o seu tempo de início. Como já foi referido anteriormente, os doentes com diabetes podem ter a doença muito tempo antes de aparecerem os primeiros sinais e sintomas e,

inicialmente, por vezes, estes são ignorados pelo doente com *Dm* (Mayo, 2016). Assim, ao contrário de muitas doenças, os sinais e sintomas provocados por níveis elevados de glucose sanguínea ao longo do tempo não se manifestam imediatamente. Como tal, os danos provocados pela *Dm* podem começar muitos anos antes do aparecimento dos primeiros sinais e sintomas. Considera-se, assim, essencial que na fase inicial da DMTII os doentes sejam alertados para os seus sinais e sintomas, uma vez que o reconhecimento destes na fase inicial da doença permite controlar a diabetes imediatamente e prevenir complicações que possam advir da doença (Ramachandran, 2014).

Na maioria dos doentes são identificados os sintomas clássicos da *Dm* conhecidos como os 3P's, sendo estes a polidipsia, a poliúria e polifagia. Estes sintomas estão associados ao aumento da ingestão de líquidos provocado pelo aumento da sede, com a frequente micção e com a vontade para comer constantemente, respetivamente (Adinortey, 2017)

No entanto, existem outros sintomas associados à *Dm*, como a glicosúria, sendo este um dos sintomas mais frequente, indicando a presença de glucose na urina. Também são considerados sinais e/ou sintomas da DMTII a perda de peso, a desidratação e pele seca, a fadiga, a taquicardia, nictúria, hálito cetónico, boca seca e dormência nos membros inferiores. Para além dos referidos, os constantes níveis elevados de glucose sanguínea podem desencadear infeções a nível cutânea e genital e, até mesmo, causar impotência ou disfunção erétil. A visão turva ou diminuída também é um dos muitos sinais de alerta da DMTII (Adinortey, 2017) (Mayo, 2016) (Ramachandran, 2014). Todos estes sintomas são frequentes quando existem níveis muito elevados de glucose no sangue (Adinortey, 2017).

1.7.2. FATORES DE RISCO

Existem diversos fatores que contribuem para uma maior predisposição para a DMTII, sendo estes:

Fatores genéticos

Considera-se que os fatores genéticos contribuem para o desenvolvimento da doença, uma vez que foram identificados genes que estão relacionados com o aparecimento da DMTII. No entanto, estudos de identificação destes genes encontram-se ainda numa fase inicial. Este tipo de diabetes está associado a história familiar e, portanto, considera-se que filhos que tenham pais com DMTII possuem maior probabilidade de desenvolver diabetes, havendo 40% de possibilidade para desenvolver a doença (Khan *et al.*, 2019). No entanto, considera-se que o

aumento da prevalência de pessoas diagnosticadas com diabetes é demasiado elevado para ser atribuído apenas a fatores genéticos. Assim, a predisposição para uma pessoa desenvolver DMTII pode estar associada a fatores genéticos e ambientais (Mayo, 2016).

Para além do referido, os fatores genéticos podem também estar associados a certas etnias que podem ter maior probabilidade de desenvolver DMTII do que outras (Khan *et al.*, 2019).

Etnia

Comparativamente à população caucasiana, a população negra ocidental possui uma probabilidade seis vezes maior de desenvolver DMTII. Esta população tem tendência a desenvolver resistência à insulina, apesar de apresentar um Índice de Massa Corporal (IMC) e circunferência da cintura inferior à dos europeus, uma vez que armazenam a gordura de forma diferente. Esta população negra ocidental armazena mais gordura a nível abdominal, enquanto a população caucasiana tende a armazenar a gordura em locais com menor metabolização ativa, como as nádegas e as coxas. Assim, o aumento da obesidade abdominal aumenta a resistência à insulina e, consequente, conduz a maior predisposição para o desenvolvimento da DMTII (Mayo, 2016).

Obesidade

A obesidade é um dos fatores de risco para o desenvolvimento de DMTII. Este é um fator que está relacionado com a disfunção das células β pancreáticas e com a resistência à insulina. A presença de obesidade faz com que haja um aumento dos níveis de adipócitos, citocinas, nomeadamente interleucina-1(IL-1) e interleucina-6(IL-6), e Fator de Necrose Tumoral alfa (TNF- α), conduzindo a um processo de inflamação do tecido adiposo e, posteriormente, causando resistência à insulina (Khan *et al.*, 2019).

Estilo de Vida Sedentário

O sedentarismo é uma das principais causas do desenvolvimento da DMTII, uma vez que está relacionado com a obesidade. Considera-se que ver televisão é pior do que qualquer outra atividade sedentária, como por exemplo, ler, escrever, conduzir, costurar ou até mesmo jogar jogos de tabuleiro. Isto acontece porque a taxa metabólica de todas as atividades descritas anteriormente é mais elevada que a taxa metabólica ao ver televisão (Khan *et al.*, 2019).

A atividade física é essencial para a prevenção da DMTII, uma vez que realizar atividade física de forma moderada a elevada pode prevenir a resistência à insulina (Zheng *et al.*, 2018).

Estilo de Vida Ocidental

A este estilo de vida está associado o sedentarismo e dietas com elevada energia, devido ao consumo de alimentos processados com elevado índice de gordura e açúcar. Este estilo de vida contribui para o desenvolvimento de obesidade e, consequentemente, para o desenvolvimento da DMTII (Mayo, 2016).

Dieta

Existem evidências de que a ingestão de determinados alimentos contribui para o desenvolvimento da DMTII. Assim, uma dieta rica em gordura e hidratos de carbono é um fator de risco para a diabetes. Através de uma dieta saudável e equilibrada é possível prevenir o desenvolvimento da doença. Como tal, recomenda-se seguir uma dieta rica em frutas, vegetais, leguminosas, cereais integrais e evitar a carne vermelha, alimentos processados e bebidas com açúcar. Considera-se que a dieta mediterrânea está associada a um risco mais reduzido de desenvolver DMTII (Zheng *et al.*, 2018).

Idade

Considera-se que o risco de desenvolvimento da DMTII aumenta com o aumento da idade, uma vez que o corpo humano à medida que envelhece fica com menor sensibilidade à insulina e as células β pancreáticas sofrem alterações produzindo insulina de forma insuficiente (Khan *et al.*, 2019). Estas alterações podem estar relacionadas com o facto do pâncreas perder a capacidade de renovar as células β que se encontram danificadas após os 30 anos de idade. No entanto, ao longo do tempo tem se observado um aumento do número de crianças que são diagnosticadas com este tipo de diabetes. Considera-se que este aumento esteja relacionado com o aumento do índice de obesidade nas crianças (Mayo, 2016).

Sexo

O desenvolvimento da DMTII não é igual entre homens e mulheres, sendo que existem mais homens diagnosticados com este tipo de diabetes do que mulheres. No entanto, a obesidade é mais prevalente nas mulheres do que nos homens, sendo esta uma das principais causas de DMTII. Tanto a distribuição da gordura corporal, como o valor de IMC é diferente

nos homens e nas mulheres. Quanto à distribuição da gordura corporal, as mulheres apresentam maior deposição de tecido adiposo nas pernas, enquanto os homens possuem mais gordura a nível do tronco, incluindo gordura visceral e hepática. No que diz respeito ao valor de IMC, o valor que indica risco para a diabetes é mais baixo para os homens. Estas duas razões podem ser a explicação para a diferença na prevalência da DMTII entre homens e mulheres. Considera-se que o estilo de vida, o estado socioeconómico, o *stress* psicossocial e a privação do sono, possam ter efeitos diferentes entre homens e mulheres e, por isso, efeitos sobre a prevalência da diabetes (Khan *et al.*, 2019).

Tabagismo

Relativamente ao tabagismo, considera-se que os fumadores crónicos têm maior probabilidade de desenvolver a DMTII, comparativamente aos não fumadores. Isto ocorre devido à presença da nicotina, sendo esta um composto químico presente nos cigarros que tem a capacidade de reduzir a sensibilidade à insulina. Este composto químico pode ser, também, responsável por causar a apoptose das células β do pâncreas. Assim, considera-se que a nicotina é um composto químico que está relacionado com o desenvolvimento da diabetes (Khan *et al.*, 2019) (Zheng *et al.*, 2018).

No entanto, os fumadores passivos ao estarem demasiado expostos ao fumo do tabaco podem ter maior risco de desenvolver DMTII, comparativamente aos não fumadores (Zheng *et al.*, 2018).

Para além do referido, considera-se que os fumadores apresentam maior obesidade abdominal do que os não fumadores, sendo a obesidade um fator de risco para a diabetes (Khan *et al.*, 2019).

Álcool

Considera-se que o álcool é um fator de risco para o desenvolvimento da DMTII quando é consumido acima de um determinado valor. Segundo um estudo realizado para encontrar a relação entre o consumo de álcool e o desenvolvimento de DMTII, apenas existe risco para o desenvolvimento deste tipo de diabetes quando o consumo de álcool é superior a 63 gramas por dia (Khan *et al.*, 2019).

No entanto, a relação álcool-DMTII pode ser diferente entre o sexo feminino e masculino, uma vez que existem diferenças no processamento e eliminação do álcool, dependendo da composição do corpo nos dois sexos (Zheng *et al.*, 2018).

Químicos desreguladores endócrinos

Existem produtos químicos que são responsáveis por causar efeitos adversos e que têm a capacidade de alterar a função do sistema endócrino, sendo responsáveis pelo desenvolvimento da DMTII. Neste grupo estão incluídos os conservantes alimentares e cosméticos, os pesticidas, os compostos utilizados na indústria dos plásticos e os produtos e subprodutos resultantes da incineração de resíduos (Mayo, 2016).

Diabetes mellitus gestacional

Como já foi referido anteriormente, as mulheres que desenvolvam DMG durante a gravidez apresentam maior risco de tornar a ter DMG nas próximas gestações e, para além disso, podem mais tarde desenvolver DMTII. Para além das grávidas, os bebés provenientes de mulheres com DMG podem desenvolver, mais tarde, DMTII (Okur *et al.*, 2017)

Assim, considera-se que as mulheres que apresentam níveis elevados de glicose durante a gravidez possuem um risco elevado de desenvolver DMTII. Portanto, as mulheres grávidas com DMG possuem uma probabilidade sete vezes maior de desenvolver DMTII, após a gravidez, comparativamente a mulheres grávidas que apresentam níveis de glicemia sanguínea normais. Logo, o desenvolvimento de DMG na gravidez é considerado um fator de risco para o desenvolvimento da DMTII (McIntyre *et al.*, 2019).

1.7.3. COMPLICAÇÕES

Os doentes com Dm possuem um risco elevado para desenvolver complicações, nomeadamente se a diabetes não for detetada e tratada precocemente. As complicações da Dm podem ser divididas em duas categorias: as complicações macrovasculares e as complicações microvasculares. Nas primeiras podem-se agrupar doenças como AVC, doença cardiovascular (DCV) e a doença arterial periférica. Enquanto que nas segundas fazem parte complicações que afetam a retina, os rins e o sistema nervoso como, a retinopatia e cataratas, a nefropatia e a neuropatia, respetivamente. O pé diabético é uma das complicações macro e microvasculares associada à diabetes (Khan *et al.*, 2019) (Zheng *et al.*, 2018). Para além das complicações referidas, uma elevada proporção de doentes com DMTII pode vir a desenvolver hipertensão e hiperlipidemia (Khan *et al.*, 2019).

Na tabela 3 podem-se observar as diversas complicações que podem decorrer da Dm.

Tabela 3. Complicações desenvolvidas pela Diabetes *mellitus*. Adaptado de (Guthrie & Guthrie, 2004) (Khan *et al.*, 2019).

Aterosclerose	É comum na maioria dos doentes com diabetes; É uma das causas mais comuns de morte nos diabéticos; Nos doentes com diabetes, esta doença pode aparecer em idade mais jovem, comparativamente à população em geral; Atinge tanto homens como mulheres; Esta doença desenvolve-se rapidamente nos diabéticos; Os níveis elevados de glicose no sangue aceleram o desenvolvimento de placas ateroscleróticas.
Cancro pancreático	80% dos doentes apresenta tolerância à glicose diminuída; Associação com a DMTII, uma vez que existe uma disfunção das células β pancreáticas; Este tipo de cancro pode também ser a cauda da Dm, uma vez que há perda de função do pâncreas.
Depressão	É mais provável pessoas com diabetes desenvolverem depressão, comparativamente a pessoas não diabéticas; Podem estar associadas anormalidades na função neuro hormonal e neurotransmissora; A associação entre a Dm e a depressão ainda é pouco estudada;

	Esta complicação patológica pode dificultar a adesão à terapêutica da diabetes promovendo as suas complicações.
Doença de Alzheimer	Estudos indicam que existem maior risco de desenvolver esta doença em pessoas com Dm, devido à ação insuficiente da insulina; No entanto, a DMTII não é suficiente para causar esta doença, sendo considerado um fator de progressão.
Doenças diabéticas oculares	Inclui a retinopatia diabética que é considerada uma das grandes causas de cegueira; Outras doenças diabéticas oculares associadas são o desenvolvimento de cataratas, papilopatia diabética, distúrbios do movimento ocular, glaucoma, síndrome ocular isquémico.
Perda de sabor	Considerado um indicador de flutuações dos níveis de glicose no sangue; Níveis de glicose sanguíneos normalizados, revertem parcialmente a perda de sabor.
Doenças Cardiovasculares	São uma das principais causas de morte e invalidez nos doentes com Dm; Nos doentes com Dm, estão presentes diversos fatores de riscos associados a estas doenças como a obesidade, a dislipidemia e a hipertensão.
Doenças renais	Está relacionada com a nefropatia diabética, sendo esta uma complicação microvascular;

Disfunção sexual	Tem maior incidência em doentes com DMTII do que do tipo I, uma vez que o diagnóstico da DMTII é mais tardio. Esta ocorre tanto em homens como em mulheres com <i>Dm</i>; Nos homens ocorre devido a disfunção fisiológica; Nas mulheres está associado a fatores sociais e psicológicos.
Doenças de pele	Inclui xerose, infeções cutâneas e doenças inflamatórias da pele; É mais comum em doentes diabéticos mal controlados.
Neuropatia Diabética	É uma das complicações mais comuns da <i>Dm</i>; A síndrome mais comum é a polineuropatia diabética, sendo esta definida por ocorrer uma disfunção no nervo periférico; Caracteriza-se por causar dor, sensação de queimação e formigueiros nos membros inferiores; Pode ter como consequências o pé diabético, podendo mesmo levar a amputação; A dor pode estar associada à depressão, uma vez que diminui a qualidade de vida do doente com <i>Dm</i>, tendo influência no humor.

Como tal, para evitar complicações associadas à *Dm* é necessário que haja um diagnóstico precoce da doença. Para além disso, é necessário haver adesão à terapêutica de modo a que os níveis de glicémia sanguínea sejam controlados, uma vez que o controlo da

glicémia pode reduzir as complicações da diabetes. A perda de peso e um estilo de vida saudável, incluindo uma dieta equilibrada e exercício físico, contribuem para o tratamento da diabetes e para a diminuição das suas complicações (Zheng *et al.*, 2018). Na figura 3 podem-se observar as partes do corpo humano que são afetadas pelas complicações desenvolvidas pela Dm.

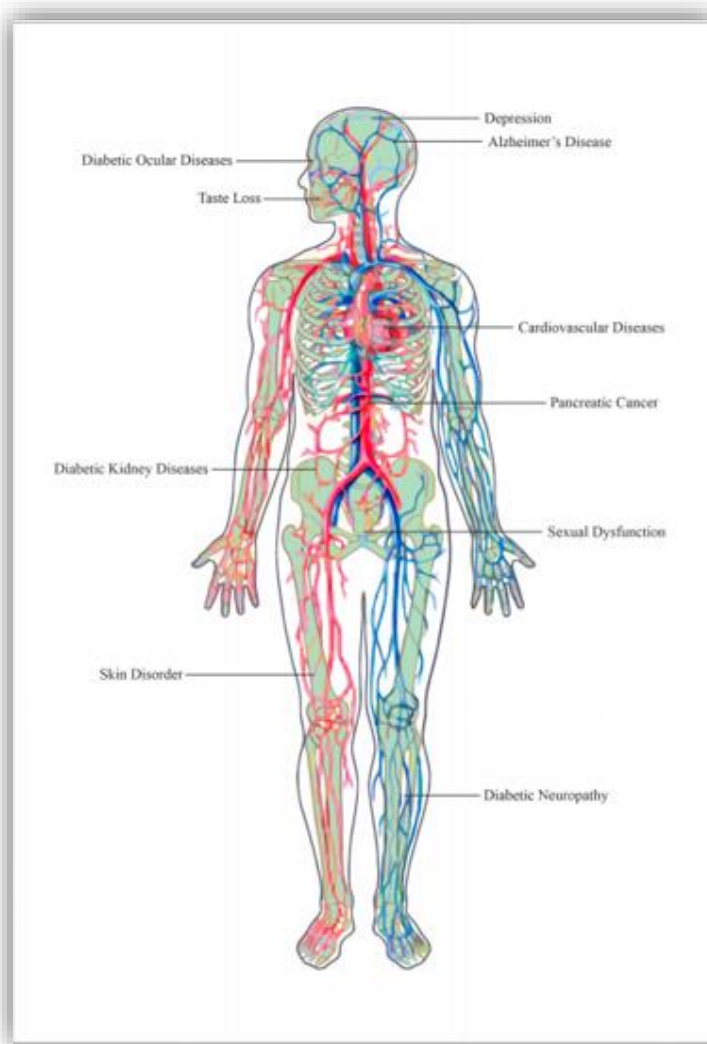


Figura 3. Partes do corpo humano afetadas pelas complicações desenvolvidas pela Diabetes *mellitus*. Reproduzido de (Khan *et al.*, 2019).

1.7.4. TERAPÊUTICA

O tratamento farmacológico da diabetes tem como principal objetivo controlar os níveis de glicémia sanguíneos de modo a prevenir e/ou retardar o desenvolvimento de complicações relacionadas com a Dm. A seleção da terapêutica é realizada tendo em conta a situação clínica do doente e, para além disso, são considerados fatores que incluem ganho

de peso, risco de hipoglicemia, comorbidades, potenciais efeitos secundários, a eficácia e o custo (Chaudhury *et al.*, 2017). No entanto, o tratamento farmacológico para a DMTII só deverá ser prescrito se o doente, após um período de pelo menos de três meses em que houve alteração do estilo de vida, incluindo a restrição de hidratos de carbono e proteínas e aumento de exercício físico, apresentar níveis de glicémia sanguínea não controlados ou se a HbA1c for igual ou superior a 6,5% (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

O tratamento farmacológico não dispensa alterações do estilo de vida, uma vez que os fármacos usados para o tratamento da DMTII são usados para potenciar os efeitos de um estilo de vida saudável, como a prática de dieta saudável e exercício físico, e não para os substituir (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

No tratamento da DMTII, existem diferentes fases consoante a situação clínica de cada doente.

A primeira fase corresponde ao tratamento em monoterapia. Nesta fase, o antidiabético oral (ADO) utilizado na DMTII é a Metformina (Met), sendo este o fármaco de primeira linha neste tipo de diabetes. Juntamente com a Met são prescritas medidas conducentes à correção do estilo de vida. Se necessário, durante esta fase pode ser realizada a otimização da terapêutica, sendo a dose máxima aprovada da Met de 3000 mg por dia (DGS, 2015).

Se após três meses de tratamento em monoterapia, com medidas não farmacológicas otimizadas, com a otimização da terapêutica e confirmação de adesão à terapêutica, os níveis de HbA1c forem inadequados, o médico deve adicionar um segundo fármaco. A adição de um segundo fármaco faz parte da segunda fase de tratamento, sendo este designado de tratamento com terapia dupla (DGS, 2015) (Okur *et al.*, 2017).

No tratamento de terapia dupla a classe de fármacos prescrita preferencialmente é as Sulfonilureias (Su), incluindo a glicazida, a glimepirida ou a glipizida. No entanto, estes fármacos também são prescritos como substituição da Met, quando o doente com DMTII apresenta intolerância ou contraindicação para o uso da mesma (DGS, 2015).

No caso de doentes com DMTII, quando medicados com Su, apresentarem história de hipoglicemia ou em caso de contraindicações ou características que não aconselhem a utilização de Su, como ter idade superior a 75 anos, omissão de refeições ou determinadas profissões, como por exemplo trabalhar em alturas, deve-se considerar a prescrição de outro

fármaco. Assim, o médico pode optar por prescrever um Inibidor da α -glicosidase intestinal, como a Acarbose, ou um Inibidor da Dipeptidilpeptidase-4 (IDPP-4). Para situações em que o doente com este tipo de diabetes apresenta omissão frequente de refeições ou em que apresenta resistência marcada à insulina deverá ser prescrito a nateglinida e a pioglitazona, respetivamente (DGS, 2015).

Se ao fim de três a seis meses, o doente com DMTII a realizar um tratamento com dois ADO, não apresentar um controlo dos níveis de glicémia adequado, deverá ser iniciado um tratamento com terapia tripla. Este tratamento consiste na adição de um terceiro fármaco diferente à terapêutica. Nesta fase é importante ter em conta o objetivo de redução de HbA1c. Assim, se o objetivo é redução de HbA1c inferior a 1% então adiciona-se um terceiro fármaco, sendo este um ADO. Durante esta adição, não se deve associar uma sulfonilureia juntamente com a nateglinida. Se o objetivo é uma redução superior a 1% de HbA1c, o prescritor deverá associar insulina basal à terapêutica com ADO que já estava a ser realizada (DGS, 2015) (Okur *et al.*, 2017). Em último caso, se os níveis de HbA1c se mantiverem acima do desejado, o tratamento consiste em continuar com a terapêutica antidiabética oral em curso, como a Met ou outro ADO, a insulina basal e um análogo do “Glucagon-like peptídeo-1” (GLP-1) (Okur *et al.*, 2017).

Durante a seleção do tratamento farmacológico podem existir razões para o médico se desviar das normas mencionadas anteriormente. Uma das razões é quando o doente com DMTII apresenta alguma reação alérgica a algum medicamento. Outra é quando o doente, para além de ter DMTII, sofre de outras doenças e, por isso, não pode receber determinada classe de fármacos por apresentar contraindicação para essa doença (Okur *et al.*, 2017).

Como tal, as principais classes farmacoterapêuticas administradas por via oral incluem as biguanidas, as sulfonilureias, os inibidores da dipeptidilpeptidase-4, as tiazolidinedionas, os derivados da fenilalanina, os inibidores do co-transportador-2-sódio-glucose e os inibidores da α -glucosidase intestinal (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016). Para além dos ADO, foram introduzidos recentemente na terapêutica da DMTII fármacos com administração por via subcutânea, sendo estes denominados de análogos do GLP-1 (Infarmed, 2016).

Biguanidas

Dentro desta classe de fármacos encontra-se a Met, sendo este o fármaco de primeira linha de escolha no tratamento da DMTII, como já foi mencionado anteriormente (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

Esta está indicada para doentes com DMTII acima dos dez anos de idade que não apresentem contraindicações para a sua utilização como hipersensibilidade à Met ou aos excipientes, compromisso da função renal, compromisso da função hepática, cetoacidose diabética, gravidez e aleitamento. Para além de ser utilizada em monoterapia, a Met pode ser associada a outras classes de fármacos antidiabéticos (Nunes, 2014).

A Met permite atrasar o desenvolvimento da DMTII, sendo responsável por inibir a absorção gastrointestinal de glicose, a neoglicogénese hepática e por aumentar a utilização periférica de glicose, não atuando por modificação da secreção de insulina (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016). Assim, a utilização deste fármaco no tratamento deste tipo de diabetes permite reduzir as taxas de mortalidade dos doentes e o risco de desenvolvimento de complicações (Chaudhury *et al.*, 2017). Esta apenas é eficaz em diabéticos em que o pâncreas endócrino ainda se encontra funcional, atuando apenas na presença de insulina endógena (Infarmed, 2016).

Este é um fármaco altamente tolerado e apresenta baixo risco de hipoglicemia e pouca probabilidade de aumentar o peso nos doentes com diabetes, sendo a Met um fármaco considerado útil nos doentes obesos (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2020). No entanto, esta classe de fármacos é contraindicada em doentes com insuficiência renal de estado avançado, sendo que a sua principal via de eliminação é a renal na forma não metabolizada (Chaudhury *et al.*, 2017).

Embora a Met seja considerada um fármaco com um perfil de segurança excelente, esta pode causar algumas reações adversas como acidose láctica, perturbações gastrointestinais, incluindo vômitos, náuseas, flatulência e diarreia, redução da agregação plaquetária e má absorção, quer de aminoácidos, vitamina B12 ou ácido fólico (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

Sulfonilureias

Esta classe de fármacos é responsável por reduzir os níveis de glicose sanguínea através da sua ação estimulante da secreção de insulina, apresentando assim uma ação hipoglicemiante (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

As Su são, assim, responsáveis por aumentar a secreção de insulina no pâncreas, sendo eficazes nos doentes com DMTII que apresentem um mínimo de função pancreática (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016). Para além do referido, também são responsáveis por diminuir a degradação dos lípidos a ácidos gordos e por reduzir a *clearance* da insulina no fígado (Chaudhury *et al.*, 2017).

Como já foi referido anteriormente, esta classe de fármacos é a segunda linha de escolha no tratamento da DMTII, podendo ser também prescrita como um fármaco complementar (Chaudhury *et al.*, 2017).

As Su podem ser divididas em dois grupos, as de primeira geração e as de segunda geração. Nas Su de primeira geração encontram-se incluídas a tolbutamida, tolazamida, a acetoxamida e a cloropropamida (Okur *et al.*, 2017). Nas de segunda geração, sendo estas cem vezes mais potentes que as de primeira geração, incluem-se a glicazida, a glipizida e a glimepirida (Okur *et al.*, 2017). Estas têm maior uso terapêutico que as de primeira geração, sendo mais prescritas, uma vez que as de primeira geração possuem um tempo de semivida maior e, por isso, existe maior risco de hipoglicemia. Para além do referido, as Su de segunda geração possuem um início de ação mais rápido do que a primeira geração (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

O principal efeito adverso desta classe de fármacos é a hipoglicemia, sendo este o acidente mais grave nos idosos que são tratados com Su. Assim, nesta faixa etária o médico deve de optar por prescrever outra classe de fármacos (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016). Para além da hipoglicemia, existem outros efeitos adversos que podem ser causados como tonturas, dor de cabeça, náuseas, reações de hipersensibilidade e aumento de peso (Chaudhury *et al.*, 2017).

Existem medicamentos que podem potenciar a ação hipoglicémica das Su tais como o alopurinol, a aspirina, os fibratos e as sulfonamidas. Para além do referido, o risco de hipoglicemia pode ser elevado ao associar as Su com outros ADO's ou insulina

(Chaudhury *et al.*, 2017). O exercício físico, o *stress* e o álcool são fatores que podem aumentar o risco de hipoglicemia (Infarmed, 2016).

Dentro desta classe de fármacos a glipizida é a sulfonilureia de eleição nos doentes com insuficiência renal, uma vez que ao contrário das restantes Su esta não dá origem a metabolitos ativos. Todas são metabolizadas pelo fígado e eliminadas por via renal. As Su são contraindicadas na presença de cetoacidose (Infarmed, 2016).

Inibidores da Dipeptidilpeptidase-4

Os IDPP-4 são também conhecidos como gliptinas e têm um mecanismo de ação inovador. A Dipeptidilpeptidase-4 (DPP-4) é uma enzima responsável por reduzir as incretinas, sendo estas hormonas responsáveis por estimular a síntese e a secreção de insulina, por preservarem a função das células β pancreáticas e por inibirem a secreção de glucagon (Infarmed, 2016). Assim, esta classe de fármacos atua inibindo a DPP-4, conduzindo ao aumento das incretinas e, por isso, ao aumento da secreção de insulina e diminuição da secreção de glucagon (Okur *et al.*, 2017). Para além do referido, diminuem os níveis lipídicos pós-prandiais e não provocam hipoglicemia, sendo uma classe de fármacos bem tolerada (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

Dentro desta classe de fármacos incluem-se a sitagliptina, a saxagliptina, a alogliptina, a linagliptina e a vildagliptina (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

Apesar de serem fármacos bem tolerados, existem três reações adversas frequentes como a cefaleia, nasofaringite e infeções do trato respiratório. Os IDPP-4 são fármacos considerados seguros em doentes com insuficiência renal moderada a grave (Chaudhury *et al.*, 2017).

Tiazolidinedionas

As Tiazolidinedionas podem ser também designadas de glitazonas. Estas são responsáveis por aumentar a captação de glicose pelos tecidos, nomeadamente, o tecido músculo-esquelético, o tecido adiposo e o hepático. Para além do referido, diminuem a acumulação de ácidos gordos livres, aumentam os níveis de adiponectina, reduzem as citocinas inflamatórias e preservam a integridade e função das células β pancreáticas (Chaudhury *et al.*, 2017). Esta classe de fármacos é utilizada em casos de elevada resistência à insulina, quando outras classes de fármacos antidiabéticos orais não são adequados (Infarmed, 2016).

A pioglitazona é o fármaco com maior interesse terapêutico, sendo considerada mais segura que a rosiglitazona e a troglitazona, uma vez que estes dois fármacos provocam graves problemas cardiovasculares e elevada toxicidade hepática, respetivamente (Khan *et al.*, 2019) (Infarmed, 2016).

Quanto às reações adversas da pioglitazonas são as seguintes: cefaleias, anemia, perturbações gastrointestinais, perturbações da visão, aumento de peso, impotência, hematúria e artralgias (Infarmed, 2016).

Derivados da Fenilalanina

Atualmente, nesta classe de fármacos, o fármaco mais prescrito é a nateglinida (Infarmed, 2016).

A nateglinida é um fármaco que pode ser usado no lugar das Su, uma vez que possui um mecanismo de ação semelhante ao das Su (Chaudhury *et al.*, 2017) (Okur *et al.*, 2017). Esta classe de fármacos é, geralmente, prescrita nos doentes em que existe omissão de refeições ou em doentes que desenvolvem hipoglicemia pós-prandial tardia com o uso de Su (Chaudhury *et al.*, 2017).

O seu mecanismo de ação depende do funcionamento das células β pancreáticas, uma vez que se liga às mesmas para estimular a secreção de insulina (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

Esta classe de fármacos é prescrita em associação com a Met. As reações adversas mais comuns são a hipoglicemia e reações de hipersensibilidade cutânea, incluindo prurido, urticaria e *rash* cutâneo (Infarmed, 2016).

Inibidores do co-transportador-2-sódio-glucose

Esta classe de fármacos é usada quando a Met ou as Su são contraindicadas ou mal toleradas ou quando existe risco de hipoglicemia. Nesta classe incluem-se os seguintes fármacos: a emagliflozina, a canagliflozina e a dapagliflozina (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016). Estes são considerados fármacos inovadores, uma vez que inibem reversivelmente o SGLT2 na porção proximal do túbulo contornado distal do nefrónio, reduzindo a reabsorção de glicose independente da insulina, conduzindo ao aumento da excreção urinária da glicose e, conseqüentemente, diminuem os níveis de glicose sanguínea (Okur *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016). Para além da excreção urinária da glicose, promove a

excreção de sódio pela urina, tendo como consequência uma diurese osmótica. Esta última pode causar uma diminuição da tensão arterial, podendo ser um risco em doentes com problemas cardiovasculares que usem anti-hipertensores. Também pode ser um risco em doentes com idade igual ou superior a 75 anos (Infarmed, 2016).

No caso de sintomas de cetoacidose como náuseas, vômitos, dores abdominais, anorexia, sede excessiva, fadiga ou sonolência invulgar, o doente deve suspender de imediato a terapêutica (Chaudhury *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

Inibidores da α -glicosidase intestinal

Esta classe de fármacos caracteriza-se por prolongar o tempo de digestão de uma refeição que contenha hidratos de carbono, retardando, assim, a digestão do amido e da sacarose contidas nessa refeição. Consequentemente, este atraso na digestão, reduz a sua absorção conduzindo a uma diminuição da taxa de absorção de glicose e, por isso, uma redução dos níveis de glicemia pós-prandial (Khan *et al.*, 2019) (Infarmed, 2016). Esta classe de fármacos caracteriza-se por inibir a α -glicosidase. Esta é uma enzima que se encontra localizada no epitélio do intestino delgado, sendo responsável por converter os hidratos de carbono polissacarídeos em monossacarídeos. Assim, esta enzima ao ser inibida vai retardar a absorção da glicose, uma vez que ocorre a inibição da conversão dos hidratos de carbono e, consequentemente, ocorre a redução dos níveis de glicose no sangue (Bhatia *et al.*, 2019) (Okur *et al.*, 2017).

O fármaco responsável por este mecanismo de ação é a Acarbose, atuando localmente no intestino. Assim, a Acarbose apenas é ativa quando administrada por via oral e deve ser administrada antes das refeições (Okur *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016).

Os principais efeitos adversos da Acarbose estão relacionados com perturbações a nível do sistema gastrointestinal como a flatulência, diarreia, aerofagia e distensão abdominal (Bhatia *et al.*, 2019) (Khan *et al.*, 2019) (Infarmed, 2016). No entanto, este fármaco quando associado às Su pode levar a situações de hipocaliemia. A Acarbose está ainda associada a efeitos adversos ocasionais como tonturas, cefaleias, sonolência e redução da trigliceridemia (Infarmed, 2016).

Análogos do GLP-1

Os Análogos do GLP-1 são uma classe de fármacos em que o seu mecanismo de ação se assemelha ao do glucagon (Okur *et al.*, 2017) (Infarmed, 2016). Assim, o seu mecanismo de ação caracteriza-se por agonizar o recetor GLP-1 (Okur *et al.*, 2017).

Com o aumento dos níveis de glicose sanguínea, estes fármacos são responsáveis por aumentar a secreção de insulina, nas células β pancreáticas, e por reduzir a secreção de glucagon, uma vez que se ligam aos recetores de GLP-1 nas células α pancreáticas (Carvalho *et al.*, 2016). Esta classe de fármacos, caracteriza-se ainda por atrasar o esvaziamento gástrico, reduzindo os níveis de glicose sanguínea e por isso, acredita-se que tenham efeitos na redução de peso (Carvalho *et al.*, 2016) (Infarmed, 2016).

Nesta classe de fármacos incluem-se o dulaglutido, o liraglutido e o exenatido, sendo estes administrados por via subcutânea (Infarmed, 2016). Estes fármacos, normalmente, são utilizados no tratamento da DMTII quer em associação dupla, quer em associação tripla com ADO ou insulina, quando este tipo de diabetes não se encontra devidamente controlado (Carvalho *et al.*, 2016).

Relativamente às reações adversas, estão descritos efeitos cardiovasculares e perturbações gastrointestinais como diarreia, náuseas e vómitos (Carvalho *et al.*, 2016) (Infarmed, 2016).

Insulina Basal

Como já foi referido anteriormente, se ao fim de três a seis meses a realizar um tratamento de terapia dupla, o doente com DMTII não apresentar um controlo dos níveis de glicemia sanguíneos, deverá ser iniciado um tratamento com terapia tripla. Nesta fase, quando se pretende uma redução superior a 1% de HbA1c, deverá ser associada insulina basal à terapêutica com ADO. Como tal, a insulina basal é, geralmente, associada à Met e/ou a outro ADO (Okur *et al.*, 2017).

Existem diversas preparações disponíveis de insulina e que diferem quanto à sua duração de ação. Assim, as insulinas podem ser classificadas em insulinas de ação ultracurta, de ação curta, de ação intermédia, de ação lenta e de ação ultralenta. A sua ação varia consoante as suas características farmacocinéticas, considerando o início de ação, a sua duração de ação e o tempo que é necessário para atingir a concentração máxima (Infarmed, 2016).

A insulina é administrada por via subcutânea, uma vez que é inativada pelas enzimas gastrointestinais, não podendo ser administrada por via oral. A administração de insulina através de injeções subcutâneas é considerada segura. No entanto, é necessário recomendar os doentes para a alternância dos locais de injeção para evitar que ocorram situações de lipodistrofia. Para além do referido, é necessário informar os doentes dos cuidados e precauções durante a administração de insulina de modo a diminuir os riscos da sua utilização, a obter um aumento da eficácia da terapêutica com insulina e a evitar que ocorram efeitos adversos, podendo estes ser locais, metabólicos e imunológicos (Infarmed, 2016).

CAPÍTULO II – ESTUDO DA ATIVIDADE INIBITÓRIA DA ALFA-GLICOSIDASE DE COMPOSTOS DE ORIGEM NATURAL

2.1. OBJETIVO

A realização do presente trabalho tem como objetivo estudar potenciais metabolitos secundários biologicamente ativos que se encontram presentes nas plantas medicinais do género *Plectranthus*, podendo estes contribuir para o tratamento da Dm, através da sua atividade inibitória enzimática. Assim, o principal objetivo é avaliar a atividade inibitória da α -glicosidase de alguns compostos de origem natural presentes nas plantas do género *Plectranthus in vitro*, de modo a confirmar a sua atividade antidiabética.

A α -glicosidase ao ser inibida promove uma redução da absorção de glicose devido à inibição da conversão dos hidratos de carbono, sucedendo-se uma redução dos níveis de glicemia pós-prandial (Bhatia *et al.*, 2019) (Khan *et al.*, 2019) (Okur *et al.*, 2017).

Atualmente, o fármaco utilizado para o tratamento da DMTII e que é responsável por inibir a α -glicosidase é a Acarbose, atuando localmente no intestino (Okur *et al.*, 2017). No entanto, apesar deste fármaco ser bastante eficaz no controlo da DMTII, possui diversos efeitos adversos, nomeadamente, perturbações a nível do sistema gastrointestinal (Bhatia *et al.*, 2019) (Infarmed, 2016) (Okur *et al.*, 2017).

Devido aos seus efeitos adversos é necessário a investigação de alternativas que apresentem inibição da α -glicosidase e que possuam menos efeitos adversos (Yin *et al.*, 2014). Como tal, uma das alternativas é o estudo de produtos naturais de origem vegetal que, para além de terem ação preventiva e terapêutica, poderão apresentar menor toxicidade e efeitos adversos (Bhatia *et al.*, 2019).

Na figura 4 encontra-se o mecanismo de ação dos fármacos inibidores da α -glicosidase intestinal.



Figura 4. Representação do mecanismo de ação dos fármacos inibidores da α -glicosidase intestinal. Adaptado de (Padhi *et al.*, 2020).

2.2. AMOSTRAS

Em todo o mundo são utilizadas plantas na medicina tradicional, nomeadamente, em populações asiáticas e africanas. O uso de plantas medicinais na saúde, em comunidades em desenvolvimento, promoveu a descoberta dos compostos responsáveis pelas propriedades farmacológicas, pela comunidade científica (Garcia *et al.*, 2018).

Para estudar a atividade antidiabética de compostos naturais na terapêutica da Dm, foram utilizados compostos de origem natural que se encontram nas plantas do género *Plectranthus*. Este género de plantas possui mais de 300 espécies distribuídas por todo o mundo, nomeadamente, Austrália, Ásia, Oceânia, América do Sul e África Tropical, sendo muito utilizado na medicina tradicional, uma vez que é uma fonte rica de compostos bioativos (Garcia *et al.*, 2018) (Matias *et al.*, 2019a).

O género *Plectranthus* pertence à família *Lamiaceae* (Garcia *et al.*, 2018). As diferentes espécies de *Plectranthus* são conhecidas pela sua etnofarmacologia, sendo utilizadas como plantas medicinais para o tratamento de patologias infecciosas, dermatológicas e gastrointestinais. Os principais metabolitos secundários biologicamente ativos presentes nas plantas medicinais do género *Plectranthus* são diterpenos quinonas, coleonas e roileanonas, apresentando as propriedades farmacológicas referidas anteriormente (Garcia *et al.*, 2020). As propriedades farmacológicas das plantas medicinais do género *Plectranthus* estão associadas à presença dos diterpenos (Matias *et al.*, 2019a).

Os diterpenos são o grupo de metabolitos secundários biologicamente ativos que se encontram em quantidades elevadas no género *Plectranthus* (Garcia *et al.*, 2018). Este grupo de metabolitos biologicamente ativos possui diversas atividades farmacológicas, apresentando propriedades antibacterianas, antifúngicas, anti-plasmáticas, antioxidantes, anti-inflamatórias, antidiabéticas, anti-tumorais e ação repelente contra insetos (Garcia *et al.*, 2018) (Sitarek *et al.*, 2020).

Assim, as amostras utilizadas para a realização do presente trabalho dizem respeito a compostos de origem natural isolados de plantas medicinais do género *Plectranthus*, sendo estes a 7 α -Acetoxi-6 β -hidroxiroileanona (Roy), a 6,7-Desidroroileanona (Deroy) e a Coleona U (CU). Os compostos naturais mencionados foram isolados no *Research Center for Biosciences and Health Technologies* (CBIOS) da Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologias.

Estes compostos encontram-se em diferentes espécies de *Plectranthus* conhecidas como o *P. amboinicus*, *P. bishipianus*, *P. forsteri*, *P. grandidentatus*, *P. madagascariensis*, *P. punctatus*, *P. sanguineus*, entre outros (Garcia *et al.*, 2018). Na figura 5 encontram-se as estruturas químicas dos compostos de origem natural isolados de plantas do género *Plectranthus* em estudo no presente trabalho.

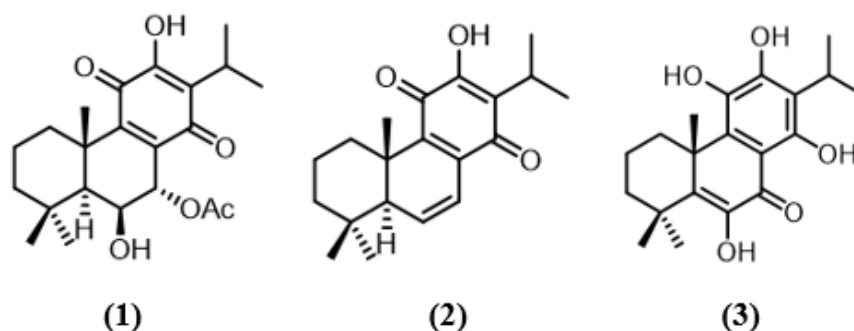


Figura 5. Estrutura química dos compostos de origem natural isolados de plantas do género *Plectranthus*: a 7α-Acetoxy-6β-hidroxiroileanona (Roy) (1), a 6,7-Desidroroileanona (Deroy) (2) e a Coleona U (CU) (3). Adaptado de (Matias *et al.*, 2019b) (Śliwiński *et al.*, 2020).

Relativamente à sua atividade antidiabética, considera-se que as plantas medicinais do género *Plectranthus* poderão apresentar capacidade de inibir a enzima α -glicosidase, uma vez que são uma fonte rica em diterpenos que possuem diversas atividades inibitórias enzimáticas (Etsassala *et al.*, 2020) (Kubínová *et al.*, 2014).

2.3. MATERIAL E REAGENTES

2.3.1. MATERIAL DE LABORATÓRIO

Para a realização do trabalho experimental foram usados os seguintes materiais e equipamentos: Tubos de *ependorf* de 2 mL; Micropipetas da marca Gilson®; Micropipetas Multicanal da marca Gilson®; Microplacas de 96 poços da marca Thermo Scientific® Nunc; um Espectrofotómetro da marca Thermo Scientific® modelo Multiskan FC Microplate Photometer; uma Incubadora da marca ESCO® CCL-170B-8.

2.3.2. REAGENTES

Para o presente trabalho utilizaram-se os seguintes reagentes: Solução α -glicosidase 4 U/mL preparada em água esterilizada, a partir de α -glicosidase de *Saccharomyces cerevisiae*

14,5U/mg sólido lote SLBX6245 fornecida pela Sigma®; substrato α -NPG lote BH09C12 fornecido pela Sigma®; Tampão PBS; Veículo contendo 180 μ L de PBS e 20 μ L de DMSO.

2.4. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

O ensaio de inibição da α -glicosidase permite avaliar *in vitro* a atividade inibitória da enzima pelos compostos de origem natural isolados de plantas do género *Plectranthus*. Este ensaio foi adaptado dos métodos descritos por *Bhatia et al* e *Elya et al* com algumas alterações no procedimento experimental (*Bhatia et al.*, 2019) (*Elya et al.*, 2012).

O ensaio realizado consiste na reação enzimática de degradação de um substrato, nomeadamente, o α -NPG que pode ser monitorizado espectrofotometricamente a 405 nm, uma vez que ao ser degradado origina p-nitrofenol, passando a solução que é inicialmente transparente a amarela. Considerando o efeito inibitório na enzima, quanto menor for o efeito inibitório sobre a enzima pelos compostos naturais, maior será a intensidade da cor amarela da solução e maior será a absorvência a 405 nm (*Bhatia et al.*, 2019) (*Elya et al.*, 2012) (*Kubínová et al.*, 2014).

Na figura 6 encontra-se esquematizado o ensaio de inibição da α -glicosidase.

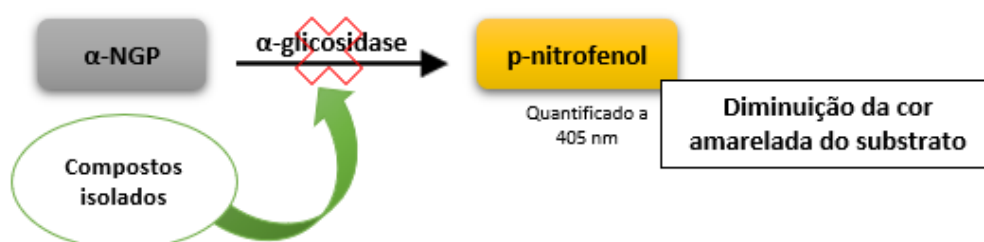


Figura 6. Representação do ensaio de inibição da α -glicosidase.

Para a realização do ensaio procedeu-se, primeiramente, às devidas diluições dos compostos de origem natural isolados, de acordo com o limite de solubilidade de cada composto (Figura 7). As concentrações finais dos compostos que foram testadas foram de 200 μ M, 50 μ M e 100 μ M para Roy, Deroy e CU, respetivamente. O ensaio de inibição da enzima α -glicosidase foi realizado numa microplaca de 96 poços (Figura 8), sendo este ensaio realizado em triplicado para cada amostra. Assim, adicionou-se 160 μ L de tampão PBS, 20 μ L de amostra e 10 μ L de enzima. Paralelamente, para cada amostra de composto natural, preparou-se o controlo da amostra, sendo este preparado em triplicado. Assim, o controlo da amostra foi preparado adicionando-se 170 μ L de tampão PBS e 20 μ L da respetiva amostra. Também foi

preparado em triplicado o branco (B) e o controlo negativo (CN), contendo 170 μL de tampão PBS, 20 μL de veículo PBS/DMSO e 160 μL de tampão PBS, 20 μL de veículo PBS/DMSO, 10 μL de enzima, respetivamente. Como controlo positivo usou-se a Acarbose.

De seguida, incubou-se a 37 °C durante 15 minutos. Posteriormente, adicionou-se 10 μL de substrato α -NPG e incubou-se por 30 minutos a 37 °C. Após os 30 minutos de incubação a 37 °C foram lidas, espectrofotometricamente ao comprimento de onda de 405 nm, as absorvências dos diferentes poços. A avaliação da inibição da enzima α -glicosidase foi realizada em dois ensaios independentes para se obter resultados mais fidedignos.

Através da diferença entre a absorvência da amostra e do respetivo controlo, obteve-se a absorvência da amostra real (Aa), retirando o efeito da cor do composto natural isolado na quantificação da atividade enzimática. A percentagem de atividade enzimática (%AE) pode ser calculada pela seguinte expressão:

$$\%AE = \frac{Aa \times 100}{CN - B}$$

Relativamente à percentagem de inibição (%I) esta é dada pela seguinte expressão:

$$\%I = 100 - \%AE$$

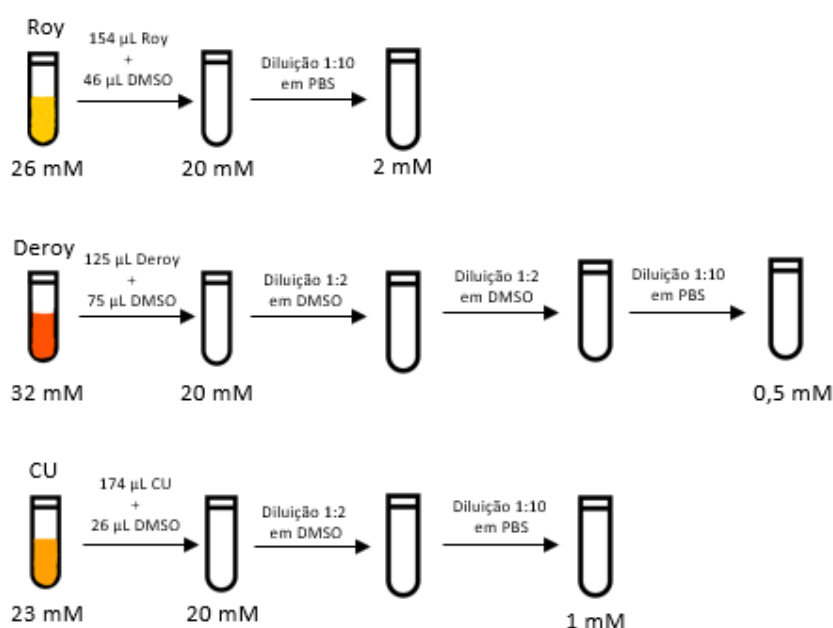


Figura 7. Esquema das diluições realizadas para Roy, Deroy e CU.

A	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
B	B	C _D	N	S _D	S _A							
C	B	C _D	N	S _D	S _A							
D	B	C _D	N	S _D	S _A							
E	C _R	C _C	S _R	S _C	C _A							
F	C _R	C _C	S _R	S _C	C _A							
G	C _R	C _C	S _R	S _C	C _A							
H												

Figura 8. Ilustração da preparação da microplaca de 96 poços para a realização do ensaio de inibição enzimática. B – Branco; C_R – Controlo do Roy; C_D – Controlo do Deroy; C_C – Controlo do CU; N – controlo negativo; S_R – Ensaio do Roy; S_D – Ensaio do Deroy; S_C – Ensaio do CU; S_A – Ensaio da Acarbose (controlo positivo); C_A – Controlo da Acarbose.

2.5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Como já foi referido anteriormente, a enzima α -glicosidase é responsável por converter os hidratos de carbonos complexos em simples, facilitando a sua absorção para a corrente sanguínea. Assim, após a ingestão de uma refeição que contenha hidratos de carbono, ocorre a elevação dos níveis de glicémia pós-prandial. A exposição prolongada a níveis elevados de glicose no sangue após as refeições, contribui para o declínio da função e/ou destruição das células β pancreáticas.

A Acarbose é um fármaco que pertence à classe dos inibidores da α -glicosidase, sendo utilizado para o tratamento da DMTII. No entanto, como já foi mencionado, este fármaco possui diversos efeitos adversos, havendo a necessidade de investigação de novas alternativas. Assim, recorreu-se ao ensaio de inibição da enzima α -glicosidase para determinar a potencial atividade antidiabética dos compostos de origem natural em estudo.

Os resultados da %I são expressos em média $\pm$ desvio padrão, resultando da realização de dois ensaios de inibição da enzima α -glicosidase. Assim, maiores valores de %I estão associados a melhores atividades inibitórias da enzima.

Como se pode observar na representação gráfica do ensaio da atividade inibitória da α -glicosidase (Figura 9), existem diferenças relativamente à atividade antidiabética nos diferentes compostos estudados. Os resultados obtidos indicam que a Deroy, na concentração

de 50 μM , não apresenta atividade inibitória da enzima α -glicosidase, apresentando uma inibição em % de 0 ± 0 . Por sua vez, os compostos naturais Roy (200 μM) e CU (100 μM) destacam-se por apresentar atividade inibitória da enzima α -glicosidase idêntica, correspondendo a sua inibição em % a 6 ± 9 e 7 ± 10 , respetivamente.

No que diz respeito à atividade antidiabética, por inibição da enzima α -glicosidase, pode-se afirmar que os compostos naturais isolados Roy e CU nas condições experimentais utilizadas revelam, devido ao seu baixo valor de %I, uma atividade diminuída.

A Acarbose, foi o fármaco modelo testado na enzima α -glicosidase, tendo-se verificado que a enzima é bastante sensível a este fármaco, uma vez que apresentou uma inibição enzimática de 88%. Assim, a Acarbose é um inibidor bastante eficaz da atividade enzimática da α -glicosidase.

No presente trabalho, como já foi referido nos parágrafos anteriores, os compostos naturais estudados apresentaram uma fraca inibição da enzima α -glicosidase, comparativamente ao controlo positivo.

Apesar dos compostos estudados apresentarem fraca inibição, deverão ser estudadas outras concentrações e outros possíveis mecanismos de ação, de modo a obter uma caracterização completa da sua potencial atividade antidiabética.

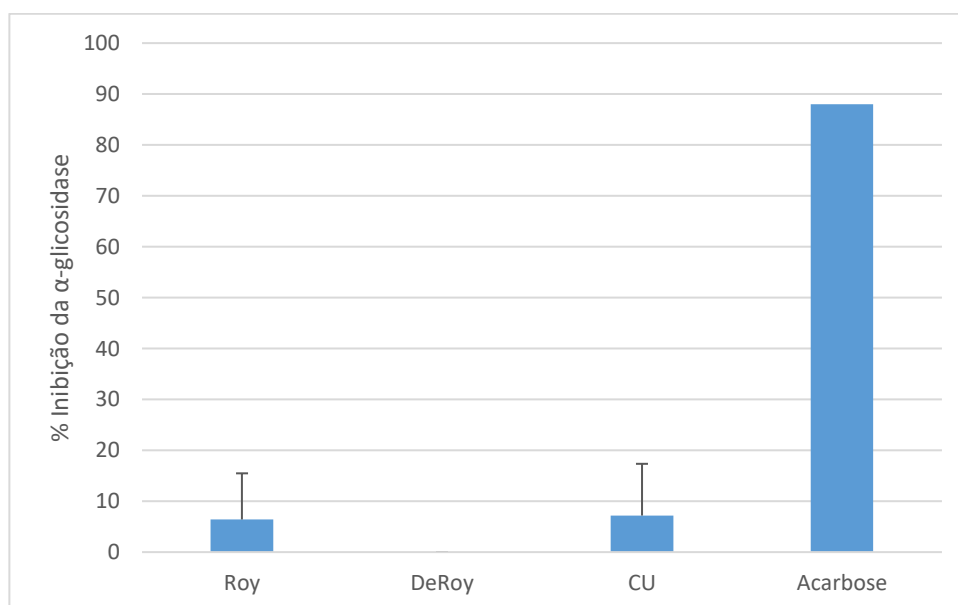


Figura 9. Representação gráfica da atividade inibitória da enzima α -glicosidase dos três compostos de origem natural estudados. Os resultados são apresentados como média $\pm$ desvio-padrão ($n=2$).

CONCLUSÃO

O uso de plantas na medicina tradicional em diversas populações do mundo, nomeadamente, asiáticas e africanas tem apresentado benefícios para a saúde, incluindo no tratamento de doenças. Assim, o uso de plantas medicinais na saúde tem promovido a descoberta de compostos com atividade biológica, nomeadamente com impacto no metabolismo dos hidratos de carbono. Portanto, o presente trabalho teve como objetivo estudar *in vitro* a potencial atividade antidiabética de compostos de origem natural de plantas do género *Plectranthus*. Para concretizar este objetivo, foi avaliada a capacidade de inibição da enzima α -glicosidase dos compostos de origem natural.

O conhecimento de compostos de origem natural com potencial no tratamento da Dm é importante, uma vez que poderá permitir o desenvolvimento e a formulação de novos medicamentos antidiabéticos naturais à base de plantas que poderão vir a ser utilizados na terapêutica farmacológica da DMTII, permitindo manter a doença controlada. Este tipo de medicamentos poderá constituir uma alternativa aos fármacos já utilizados no tratamento da Dm, por exemplo a Acarbose. Apesar de ser um fármaco bastante eficaz no tratamento da DMTII, a Acarbose, possui diversos efeitos adversos, principalmente a nível gastrointestinal. Assim, a utilização de medicamentos de origem natural poderá ser uma alternativa ao tratamento da DMTII, eventualmente com menos efeitos adversos.

Como tal, neste trabalho pretendeu-se estudar de forma simples e concisa a atividade inibitória da enzima α -glicosidase *in vitro* de compostos de origem natural, nomeadamente, a Roy, a Deroy e a CU. Assim, verificou-se que dos compostos naturais isolados das plantas do género *Plectranthus*, a Roy e a CU foram os que apresentaram alguma inibição da enzima α -glicosidase, correspondendo a uma inibição em % de 6 ± 9 e 7 ± 10 , respetivamente. Perante os resultados obtidos, pode-se afirmar que estes dois compostos apresentam atividade antidiabética diminuída, uma vez que a sua atividade inibitória enzimática foi menor que o controlo positivo de Acarbose. Relativamente a Deroy, esta não apresentou atividade antidiabética por este mecanismo de ação, uma vez que a sua % de inibição enzimática foi nula.

Apesar dos compostos de origem natural estudados, nomeadamente, Roy e CU, apresentarem atividade antidiabética diminuída, para avaliar de forma conclusiva o seu potencial farmacológico no tratamento da DMTII, é necessária a realização de estudos adicionais. Deverão avaliar-se outras condições experimentais, nomeadamente outras

concentrações. Também deverão ser avaliados outros mecanismos de ação antidiabética. Por fim, estes compostos poderão constituir a base para a síntese de novas moléculas cuja estrutura seja otimizada de modo a aumentar o efeito farmacológico.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Adinortey, M. B. (2017). Biochemicophysiological Mechanisms Underlying Signs and Symptoms Associated with Diabetes mellitus. *Advances in Biological Research*, 11(5), 233–241.
- American Diabetes Association (2020). 2. Classification and diagnosis of diabetes: Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*, 43(SUPPL.1), 14–31.
- American Diabetes Association (2014). Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, 37(SUPPL.1), 81–90.
- Aronoff, S. L., Berkowitz, K., Shreiner, B., & Want, L. (2004). Glucose Metabolism and Regulation: Beyond Insulin and Glucagon. *Diabetes Spectrum*, 17(3), 183–190.
- Asmat, U., Abad, K., & Ismail, K. (2016). Diabetes mellitus and oxidative stress—A concise review. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(5), 547–553.
- Baynest, H. W. (2015). Classification, Pathophysiology, Diagnosis and Management of Diabetes Mellitus. *Journal of Diabetes & Metabolism*, 06(05).
- Bhatia, A., Singh, B., Arora, R., & Arora, S. (2019). In vitro evaluation of the α -glucosidase inhibitory potential of methanolic extracts of traditionally used antidiabetic plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 19(1), 1–9.
- Carvalho, D., Nunes, J. S., Raposo, J. F., Medina, J. L., Jácome De Castro, J., & Carrilho, F. (2016). Agonistas dos Receptores do GLP-1 no Tratamento da Diabetes Tipo 2 GLP-1 Receptor Agonists in Type 2 Diabetes Treatment. *Revista Portuguesa de Diabetes*, 11(4), 154–166.
- Chaudhury, A., Duvoor, C., Reddy Dendi, V. S., Kraleti, S., Chada, A., Ravilla, R., Marco, A., Shekhawat, N. S., Montales, M. T., Kuriakose, K., Sasapu, A., Beebe, A., Patil, N., Musham, C. K., Lohani, G. P., & Mirza, W. (2017). Clinical Review of Antidiabetic Drugs: Implications for Type 2 Diabetes Mellitus Management. *Frontiers in Endocrinology*, 8(January).
- Direção-Geral da Saúde. (2015). Abordagem Terapêutica Farmacológica na Diabetes Mellitus Tipo 2 no Adulto. *Norma Da Direção-Geral Da Saúde Nº 052/2011*, 1–28. Acedido a

10 de Dezembro de 2020 em <https://www.dgs.pt/directrizes-da-dgs/normas-e-circulares-normativas/norma-n-0522011-de-27122011-atualizada-a-30072013-jpg.aspx>

Direção-Geral da Saúde. (2011). Diagnóstico e Classificação da Diabetes *Mellitus*. *Norma Da Direção Geral Da Saúde (002/2011)*, 1–13. Acedido a 4 de Dezembro de 2020 em <https://www.dgs.pt/programa-nacional-para-a-diabetes/circulares-normas-e-orientacoes/norma-da-direccao-geral-da-saude-n-0022011-de-14012011-pdf.aspx>

Elya, B., Basah, K., Mun’Im, A., Yulastuti, W., Bangun, A., & Septiana, E. K. (2012). Screening of α -glucosidase inhibitory activity from some plants of Apocynaceae, Clusiaceae, Euphorbiaceae, and Rubiaceae. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012.

Etsassala, N. G. E. R., Ndjoubi, K. O., Mbira, T. J., Pearce, B., Pearce, K., Iwuoha, E. I., Hussein, A. A., & Benjeddou, M. (2020). Glucose-Uptake Activity and Cytotoxicity of Diterpenes and Triterpenes Isolated from Lamiaceae Plant Species. *Molecules*, 25(18).

Federação Internacional da Diabetes (2019a). *Demographic and geographic outline*. Acedido a 24 de outubro de 2020 em <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/demographic-and-geographic-outline.html>

Federação Internacional da Diabetes (2019b). *Individual, social and economic impact*. Acedido a 24 de outubro de 2020 em <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/individual-social-and-economic-impact.html>

Federação Internacional da Diabetes(2019c). *Worldwide toll of diabetes*. Acedido a 24 de outubro de 2020 em <https://www.diabetesatlas.org/en/sections/worldwide-toll-of-diabetes.html>

Garcia, C., Isca, V. M. S., Pereira, F., Monteiro, C. M., Ntungwe, E., Sousa, F., Dinic, J., Holmstedt, S., Roberto, A., Díaz-Lanza, A., Reis, C. P., Pesic, M., Candeias, N. R., Ferreira, R. J., Duarte, N., Afonso, C. A. M., & Rijo, P. (2020). Royleanone Derivatives From *Plectranthus* spp. as a Novel Class of P-Glycoprotein Inhibitors. *Frontiers in Pharmacology*, 11(November), 1–10.

Garcia, C., Teodósio, C., Oliveira, C., Oliveira, C., Díaz-Lanza, A., Reis, C., Duarte, N., & Rijo, P. (2018). Naturally Occurring *Plectranthus*-derived Diterpenes with Antitumoral Activities. *Current Pharmaceutical Design*, 24(36), 4207–4236.

Guthrie, Richard A., & Guthrie, Diana W. (2004). Pathophysiology of diabetes. *CRITICAL CARE NURSING QUARTERLY: Volume 1*, 27(2), 113-125.

Infarmed (2016). Prontuário terapêutico – 8. *Hormonas e medicamentos usados no tratamento de doenças endócrinas*. Acedido a 16 de dezembro de 2020 em <https://app10.infarmed.pt/prontuario/frameprimeiracapitulos.html>

Javeed, N., & Matveyenko, A. V. (2018). Circadian etiology of type 2 diabetes mellitus. *Physiology*, 33(2), 138–150.

Khan, R. M. M., Chua, Z. J. Y., Tan, J. C., Yang, Y., Liao, Z., & Zhao, Y. (2019). From pre-diabetes to diabetes: Diagnosis, treatments and translational research. *Medicina (Lithuania)*, 55(9), 1–30.

Kharroubi, A. T., Darwish, H. M. (2015). Diabetes mellitus: The epidemic of the century. *World Journal of Diabetes*, 6(6), 850.

Kubínová, R., Pořízková, R., Navrátilová, A., Farsa, O., Hanáková, Z., Bačinská, A., Čížek, A., & Valentová, M. (2014). Antimicrobial and enzyme inhibitory activities of the constituents of *Plectranthus madagascariensis* (Pers.) Benth. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 29(5), 749–752.

Lakhtakia, R. (2013). The History of Diabetes Mellitus. *Textbook of Diabetes: Fourth Edition*, 13(August), 1–23.

Matias, D., Nicolai, M., Fernandes, A. S., Saraiva, N., Almeida, J., Saraiva, L., Faustino, C., Díaz-Lanza, A. M., Reis, C. P., & Rijo, P. (2019a). Comparison study of different extracts of *plectranthus madagascariensis*, p. *Neochilus* and the rare p. *porcatus* (lamiaceae): Chemical characterization, antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities. *Biomolecules*, 9(5), 1–13.

Matias, D., Nicolai, M., Saraiva, L., Pinheiro, R., Faustino, C., Diaz Lanza, A., Pinto Reis, C., Stankovic, T., Dinic, J., Pesic, M., & Rijo, P. (2019b). Cytotoxic Activity of Royleanone Diterpenes from *Plectranthus madagascariensis* Benth. *ACS Omega*, 4(5), 8094–8103.

Mayo, P. (2016). An overview of diabetes. *Nursing Standard (Royal College of Nursing (Great Britain))* : 1987, 30(46), 53–63.

McIntyre, H. D., Catalano, P., Zhang, C., Desoye, G., Mathiesen, E. R., & Damm, P. (2019). Gestational diabetes mellitus. *Nature Reviews Disease Primers*, 5(1).

Moini, J. (2019). Pathophysiology of Diabetes. *Epidemiology of Diabetes*, 25–43.

Nunes, J. S. (2014). Aspectos Práticos na Terapêutica com Metformina Practical Aspects on the Therapy with Metformin. *Revista Portuguesa de Diabetes*, 9(3), 127–132.

Okur, M. E., Karantas, I. D., & Siafaka, P. I. (2017). Diabetes mellitus: A review on pathophysiology, current status of oral medications and future perspectives. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 55(1), 61–82.

Padhi, S., Nayak, A. K., & Behera, A. (2020). Type II diabetes mellitus: a review on recent drug based therapeutics. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 131, 110708.

Petersmann, A., Müller-Wieland, D., med D., Müller, Ulrich A., Landgraf, R., Nauck, M., Freckmann, G., Heinemann, L. & Schkeicher, E. (2019). Definition, Classification and Diagnosis of Diabetes Mellitus. *Diabetologe*, 15(2), 128–134.

Polonsky, K. S. (2012). The Past 200 Years in Diabetes. *New England Journal of Medicine*, 367(14), 1332–1340.

Ramachandran A. (2014). Conheça os sinais e sintomas da diabetes. *A revista indiana de pesquisa médica*, 140(5), 579-581.

Raposo, J. F. (2020). *Diabetes : Factos e Números betes – Prevalência betes – Prevalência*. 15(1), 19–27.

Sitarek, P., Toma, M., Ntungwe, E., Kowalczyk, T., Skała, E., Wieczfinska, J., Śliwiński, T., & Rijo, P. (2020). Insight the biological activities of selected abietane diterpenes isolated from *Plectranthus* spp. *Biomolecules*, 10(2), 1–13.

Śliwiński, T., Sitarek, P., Skała, E., Isca, V. M. S., Synowiec, E., Kowalczyk, T., Bijak, M., & Rijo, P. (2020). Diterpenoids from *Plectranthus* spp. As potential chemotherapeutic agents via apoptosis. *Pharmaceuticals*, 13(6), 1–16.

Tokarz, V. L., MacDonald, P. E., & Klip, A. (2018). The cell biology of systemic insulin function. *Journal of Cell Biology*, 217(7), 1–17.

Triplitt, C. L. (2012). Examining the mechanisms of glucose regulation. *The American Journal of Managed Care*, 18(1 Suppl), 4–10.

World Health Organization (2021). *Leading causes of death and disability*. Acedido a 30 de janeiro de 2021 em <https://www.who.int/data/stories/leading-causes-of-death-and-disability-2000-2019-a-visual-summary>.

World Health Organization (2020a). *Diabetes*. Acedido a 24 de outubro de 2020 em https://www.who.int/health-topics/diabetes#tab=tab_1

World Health Organization (2020b). *Diabetes*. Acedido a 24 de outubro de 2020 em <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>.

World Health Organization (2019). Classification of diabetes mellitus. In *Clinics in Laboratory Medicine* (Vol. 21, Issue 1).

World Health Organization (2016). *Perfil da Diabetes em Portugal*. Acedido a 6 de Novembro de 2020 em http://www.who.int/diabetes/country-profiles/prt_en.pdf?ua=1

Yin, Z., Zhang, W., Feng, F., Zhang, Y., & Kang, W. (2014). α -Glucosidase inhibitors isolated from medicinal plants. *Food Science and Human Wellness*, 3(3–4), 136–174.

Zaccardi, F., Webb, D. R., Yates, T., & Davies, M. J. (2016). Pathophysiology of type 1 and type 2 diabetes mellitus: A 90-year perspective. *Postgraduate Medical Journal*, 92(1084), 63–69.

Zheng, Y., Ley, S. H., & Hu, F. B. (2018). Global aetiology and epidemiology of type 2 diabetes mellitus and its complications. *Nature Reviews Endocrinology*, 14(2), 88–98.