



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA MARIA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMACOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DO POSSÍVEL EFEITO ANTIOXIDANTE
DO ARROZ BRANCO E DO ARROZ PARBOILIZADO
SOBRE O DANO RENAL EM RATOS COM DIABETES
INDUZIDO POR ESTREPTOZOTOCINA**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Isabela Andres Finamor

Santa Maria, RS, Brasil, 2011

**AVALIAÇÃO DO POSSÍVEL EFEITO ANTIOXIDANTE DO
ARROZ BRANCO E DO ARROZ PARBOILIZADO SOBRE O
DANO RENAL EM RATOS COM DIABETES INDUZIDO POR
ESTREPTOZOTOCINA**

por

Isabela Andres Finamor

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM, RS), como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Farmacologia**.

Orientadora: Prof^a Dr^a Maria Amália Pavanato

Santa Maria, RS, Brasil, 2011

**Universidade Federal de Santa Maria
Centro de Ciências da Saúde
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia**

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**AVALIAÇÃO DO POSSÍVEL EFEITO ANTIOXIDANTE DO ARROZ
BRANCO E DO ARROZ PARBOILIZADO SOBRE O DANO RENAL EM
RATOS COM DIABETES INDUZIDO POR ESTREPTOZOTOCINA**

elaborada por
Isabela Andres Finamor

como requisito parcial para obtenção do grau de
Mestre em Farmacologia

COMISSÃO EXAMINADORA

Maria Amália Pavanato, Dr^a
(Presidente/Orientadora)

Luiz Carlos Rios Kucharski, Dr.
(UFRGS)

Nilda Berenice Vargas Barbosa, Dr^a
(UFSM)

Roselei Fachinetto, Dr^a
(UFSM)

Santa Maria, 13 de janeiro de 2011.

Aos meus familiares

AGRADECIMENTOS

Aos meus familiares, que enchem minha vida de energia e alegria, pelo carinho, amor, incentivos e investimentos que sempre recebi;

Ao meu irmão Gustavo Finamor, que me acompanhou durante a realização deste curso, pela amizade, companherismo, compreensão e paciência;

Em especial, à minha orientadora Prof^a Dr^a Maria Amália Pavanato pelo apoio, confiança, conhecimentos, dedicação, orientação, incentivos e esforços cedidos a mim e, principalmente, por sua amizade;

À Prof^a Dr^a Susana Llesuy pelas discussões, sugestões e imensos conhecimentos que recebi;

À Prof^a Dr^a Signorá Peres Konrad, fundamental para a realização deste trabalho, pelos valiosos ensinamentos a mim cedidos;

Aos colegas Ana Paula Riffel, Diogo Gabriel, Etiane Saccol e Giovana Ourique pela amizade, companheirismo, conhecimentos compartilhados e apoio prestado na realização dos experimentos;

Ao Prof. Dr. Bernardo Baldisserotto pelas sugestões e incentivos e ao Prof. Ms. João Régis Miollo por suas colaborações;

À Prof^a Dr^a Maria Flavia Marques Ribeiro e ao Prof. Dr. Alex Sander da Rosa Araújo pelos conhecimentos e disponibilidade a mim dispensados;

À Prof^a Dr^a Wânia Aparecida Partata e à Prof^a Dr^a Adriane Belló-Klein pelas sugestões e auxílios prestados;

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Farmacologia, que de alguma forma contribuíram para minha formação;

Ao Sr. Alfredo Treichel pela disponibilidade e gentileza de me receber em seu Engenho;

Ao funcionário Sr. Florindo Duarte pela dedicação e competência com que realizou seu trabalho;

À Colorcon e à Valdequímica, empresas que gentilmente me cederam amostras de produtos essenciais para as dietas experimentais;

Aos meus amigos, em especial à Bruna Barreto, que me acompanhou durante a realização deste curso, pelo carinho, amizade e companherismo;

À Odelta dos Santos pelos incentivos e influências que recebi durante minha formação acadêmica;

Ao FIPE, pelo apoio financeiro;

À Universidade Federal de Santa Maria e ao Programa de Pós-Graduação em Farmacologia pela oportunidade de realização deste curso.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Farmacologia
Universidade Federal de Santa Maria

AVALIAÇÃO DO EFEITO ANTIOXIDANTE DO ARROZ BRANCO E DO ARROZ PARBOILIZADO SOBRE O DANO RENAL EM RATOS COM DIABETES INDUZIDO POR ESTREPTOZOTOCINA

AUTORA: ISABELA ANDRES FINAMOR
ORIENTADORA: DR^a MARIA AMÁLIA PAVANATO

Data e Local da Defesa: Santa Maria, 13 de janeiro de 2011.

O efeito antioxidante de dietas suplementadas com arroz branco e do arroz parboilizado foi investigado em rins de ratos com diabetes induzido por estreptozotocina (40 mg/kg, i.v.). Essas dietas foram oferecidas após confirmação da hiperglicemia aos 9 dias após a indução. O consumo alimentar foi monitorado diariamente e o peso corporal determinado semanalmente. Os animais dos grupos experimentais (n=8) (controle alimentado com dieta padrão; controle alimentado com arroz parboilizado; controle alimentado arroz branco; grupo diabético alimentado com dieta padrão; diabético alimentado com arroz parboilizado; diabético alimentado arroz branco), foram anestesiados e exsanguinados antes da retirada dos rins, os quais foram usados na determinação da lipoperoxidação (TBARS), da atividade de antioxidantes enzimáticos, como a superóxido dismutase (SOD), a catalase (CAT), a glutaciona peroxidase (GPx), a glutaciona redutase (GR), e a glutaciona-S-transferase (GST), e dos níveis de antioxidantes não-enzimáticos, como a glutaciona (GSH). O diabetes induziu aumento na lipoperoxidação (LPO), a qual foi maior no grupo tratado com arroz branco (118% comparada ao grupo controle e 26% comparada ao grupo com dieta de arroz parboilizado). A dieta de arroz branco reduziu a atividade da SOD (30%), CAT (25%), GR (29%) e os níveis de GSH (24%) em relação ao grupo controle. A dieta de arroz parboilizado aumentou a GPx (25%) e a GSH (29%) em relação ao grupo controle. Foi observado ainda que nos ratos diabéticos os valores de GSH foram mais elevados no grupo alimentado com arroz parboilizado. Assim, o consumo de arroz não melhora a LPO do tecido renal de ratos diabéticos, mas o arroz parboilizado melhora os parâmetros antioxidantes muito mais do que o arroz branco.

Palavras-chave: diabetes, rins, arroz branco, arroz parboilizado, antioxidantes.

ABSTRACT

Dissertation of Master's Degree
Post-Graduating Program in Pharmacology
Federal University of Santa Maria

EVALUATION OF THE ANTIOXIDANT EFFECT OF WHITE AND PARBOILED RICE ON RENAL DAMAGE IN RATS WITH STREPTOZOTOCIN-INDUCED DIABETES

AUTHOR: ISABELA ANDRES FINAMOR
ADVISER: DR^a MARIA AMÁLIA PAVANATO

Date and Place of Defense: January 13th, 2011, Santa Maria.

The antioxidant effect of diets supplemented with white rice and parboiled rice was investigated in the kidneys of rats with streptozotocin-induced diabetes (40 mg/kg, iv). These diets were offered after confirmed hyperglycemia 9 d after induction. Food consumption was monitored on a daily basis and body weight was determined weekly. The experimental groups (n=8) (control fed standard diet; control fed parboiled rice; control fed white rice; diabetic fed standard diet; diabetic fed parboiled rice; diabetic fed white rice), were anesthetized and exsanguinated before removal of kidneys, which were used to determine lipoperoxidation concentration (TBARS), enzymatic antioxidant activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) and glutathione-S-transferase (GST) as well as non-enzymatic antioxidant levels of glutathione (GSH). Diabetes induced increase in lipid peroxidation (LPO), which was higher in the group treated with white rice (118% as compared to the control group and 26% as compared to the parboiled rice group). The white rice diet reduced SOD (30%), CAT (25%), GR (29%) activities and GSH (24%) levels as compared to the control group. The parboiled rice diet increased GPx (25%) and GSH (29%) values as compared to the control group. GSH values in diabetic rats were found to be higher in the parboiled rice group. Thus, rice consumption does not improve LPO in the renal tissue of diabetic rats, but parboiled rice improves antioxidant parameters much more than white rice does.

Keyword: diabetes, kidney, white rice, parboiled rice, antioxidants.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

FIGURA 1 - Relação entre o estresse oxidativo e as diferentes vias que estão implicadas na nefropatia diabética.....	21
FIGURA 2 - Metabolização do oxigênio na mitocôndria com a formação de ATP.....	23
FIGURA 3 - Formação das espécies reativas de oxigênio a partir da redução parcial do oxigênio.....	24
FIGURA 4 - Secção longitudinal de um grão de arroz.....	28
FIGURE 1 - Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels in kidney of control and diabetic rats fed for 30 d.....	55

LISTA DE TABELAS

TABLE 1 - Composition (g/kg) of the diets.....	52
TABLE 2 - Effects of different diets of rice on body weight, kidney weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio of control and diabetic rats fed for 30 d.....	53
TABLE 3 - Effects of different diets of rice on plasmatic glucose, cholesterol, triglycerides, and creatinine of control and diabetic rats fed for 30 d.....	54
TABLE 4 - Effects of different rice diets on superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activities and glutathione levels in kidney of control and diabetic rats fed for 30.....	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ALX	Aloxano
ANOVA	Análise de variância
ATP	Adenosina trifosfato
CAT	Catalase
CDNB	1-cloro-2,4-dinitrobenzeno
DM	Diabetes mellitus
DM1	Diabetes mellitus tipo 1
DM2	Diabetes mellitus tipo 2
DN	Nefropatia diabética
DNA	Ácido desoxirribonucléico
DNP-SG	Dinitrofenil-S-glutationa
FER	Quociente de eficiência alimentar
GPx	Glutationa peroxidase
GR	Glutationa redutase
GSH	Glutationa reduzida
GSSG	Glutationa oxidada
GST	Glutationa-S-transferase
H ₂ O	Água
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogênio
HClO ₄	Ácido perclórico
i.v.	Intravenoso
KCl	Cloreto de potássio
LPO	Lipoperoxidação
MAPK	Proteína cinase ativada por mitógeno
MDA	Malondialdeído

NADPH	Nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato reduzido
NaOH	Hidróxido de sódio
O ₂	Oxigênio molecular
O ₂ ^{•-}	Radical ânion superóxido
OH [•]	Radical hidroxila
OS	Estresse oxidativo
PBS	Tampão fosfato salino
PGAs	Produtos da glicação avançada
PKC	Proteína cinase C
PMSF	Fluoreto de fenilmetilsulfonil
ROS	Espécies reativas de oxigênio
SED	Erro padrão da diferença entre as médias
SOD	Superóxido dismutase
STZ	Estreptozotocina
TBA	Ácido tiobarbitúrico
TBARS	Substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico
TCA	Ácido tricloroacético
TFG	Taxa de filtração glomerular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	14
2 OBJETIVOS.....	16
2.1 Objetivo Geral.....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	17
3.1 Diabetes mellitus.....	17
3.2 Fisiologia Renal.....	18
3.3 Nefropatia Diabética.....	20
3.4 Estresse Oxidativo.....	22
3.5 Diabetes Experimental.....	25
3.6 Alimentos Funcionais.....	26
3.6.1 Arroz.....	26
3.6.1.1 Estrutura e Composição do Grão.....	27
3.6.1.2 Processamento.....	28
3.6.1.3 Arroz Parboilizado.....	29
4 MANUSCRITO.....	33
5 CONCLUSÕES.....	57
6 REFERÊNCIAS.....	58

1 INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus (DM) é considerado um problema de saúde pública, não apenas em países desenvolvidos, mas também nos países em desenvolvimento (MORAES et al., 2010). Os dados trazidos por WILD et al. (2004) indicam que a prevalência global do DM está aumentando em proporções epidêmicas. Conforme estimativa desses autores, a prevalência do DM no mundo inteiro foi avaliada em 2,8% em 2000 e será de 4,4% em 2030. Os resultados desse estudo também indicam que o número total de indivíduos acometidos de DM deverá aumentar de 171 milhões em 2000 para 366 milhões em 2030. Além disso, é mostrado que o DM, que no ano de 2000, contava com 4,6 milhões de casos no Brasil, em 2030 passará a contar com 11,3 milhões de casos diagnosticados.

A incidência crescente do DM em indivíduos jovens é particularmente preocupante, pois essa doença pode evoluir por anos, levando às complicações diabéticas (ASBUN e VILLARREAL, 2006), como retinopatia, neuropatia e nefropatia diabética (DN) (ADA, 2009). Existem evidências de que as complicações diabéticas são agravadas pelo estresse oxidativo (OS), o que indica o envolvimento desse na gênese e no desenvolvimento da doença (MEHTA et al., 2006).

A DN se desenvolve em até 40% dos pacientes com DM e é considerada a principal causa da insuficiência renal crônica naqueles indivíduos que ingressam em programa de tratamento para a substituição renal persistente (MELLO et al., 2005). Os principais fatores de risco para o desenvolvimento da DN são a hiperglicemia e a hipertensão associadas à predisposição genética. Sendo assim, os fatores dietéticos são importantes para a obtenção de um controle glicêmico próximo à normalidade. Essa medida tem sido utilizada para a prevenção e desaceleração da progressão das complicações da DN (GROSS et al., 2005).

Considerando que as taxas de doenças crônicas continuam a aumentar, é crescente também o aumento do interesse por uma dieta balanceada, que inclua alimentos funcionais e que possa contribuir para a prevenção e a redução dos sintomas clínicos do DM. Dessa maneira, está aumentando o número de indivíduos que inclui alimentos funcionais à sua dieta a fim de auxiliar o controle glicêmico (RUDKOWSKA, 2009) e amenizar o OS (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999). Os alimentos funcionais são aqueles destinados a serem consumidos como parte de uma dieta normal e que contém componentes biologicamente ativos que ofereçam algum potencial benéfico à saúde (JEW et al., 2009).

Nesse contexto, o arroz (*Oryza sativa* L.) apresenta características de um alimento funcional, uma vez que além de produzir baixo índice glicêmico em indivíduos diabéticos quando comparado ao pão branco (LARSEN et al., 1996; PARVIN et al., 2008), é constituído de compostos antioxidantes, que poderiam complementar aqueles provenientes de outras fontes, auxiliando no combate de doenças relacionadas ao OS, como o DM (GOFFMAN e BERGMAN, 2004).

O potencial antioxidante do arroz foi demonstrado em presença do pericarpo e na variedade da coloração do pigmento localizado nessa estrutura, sendo que a maior capacidade foi atribuída àqueles pretos e vermelhos e menor aos de pericarpo marrom-claro (GOFFMAN e BERGMAN, 2004; NAM et al., 2005; SHEN et al., 2009). Além disso, a utilização do farelo do arroz e o consumo de arroz integral como importantes fontes de compostos antioxidantes na prevenção e tratamento de doenças crônicas está bem elucidado (QURESHI et al., 2002; NAM et al., 2005; KIM et al., 2006). Dessa forma, a maioria dos estudos a respeito do arroz tratam dos efeitos benéficos exercidos por suas frações e formas ricas em compostos antioxidantes e não avaliam as propriedades do grão na forma em que ele é consumido, preferencialmente, branco e cozido.

O consumo do arroz parboilizado também está em crescimento (HEINEMANN et al., 2006). Esse possui características funcionais e nutricionais especiais quando comparado ao arroz branco e pode, assim, ser considerado um produto de valor acrescentado. O seu poder antioxidante não foi completamente explorado, merecendo, portanto, maior atenção de indústrias, pesquisadores e profissionais de nutrição (HEINEMANN et al., 2005).

Sendo assim, o presente estudo visa avaliar o efeito de uma dieta com arroz branco e arroz parboilizado sobre os parâmetros de OS renal em de ratos com DM induzido por estreptozotocina (STZ), com a finalidade de determinar a possível capacidade antioxidante do arroz parboilizado e compará-la com a do arroz branco e também de avaliar os possíveis benefícios que possam decorrer do uso do arroz parboilizado como alimento funcional nesse modelo experimental de DM.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Comparar os efeitos de diferentes dietas de arroz, branco e parboilizado, sobre a função renal e parâmetros indicativos de OS em rins de ratos com DM induzido por STZ.

2.2 Objetivos Específicos

Verificar o efeito das dietas de arroz branco e de parboilizado sobre parâmetros como: peso corporal, peso renal, ganho de peso, consumo alimentar e eficiência alimentar em ratos com DM;

Avaliar o efeito das dietas de arroz branco e de parboilizado sobre os níveis de glicose, colesterol total, triglicérides e creatinina de animais com DM;

Determinar os níveis de lipoperoxidação (LPO) renal através da medida de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), em ratos diabéticos que receberam as dietas com arroz branco e parboilizado;

Analisar a atividade das enzimas antioxidantes superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) e glutathione-S-transferase (GST) em rins dos animais dos diferentes grupos experimentais;

Analisar o conteúdo de grupamentos sulfidrílicos não-protéicos, nos animais dos diferentes grupos experimentais.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Diabetes mellitus

O DM é uma síndrome de etiologia múltipla, sendo principalmente decorrente de defeitos na secreção de insulina, ação da insulina, ou ambos. Ele é caracterizado pela hiperglicemia crônica com distúrbios no metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas (WHO, 1999; ADA, 2009). Os tipos de DM podem ser classificados em quatro categorias: tipo 1 (DM1) ou insulino-dependente; tipo 2 (DM2) ou não insulino-dependente; diabetes gestacional e outros tipos de diabetes. Dentre outros tipos de DM estão aqueles associados aos defeitos genéticos das células beta; aos defeitos genéticos que resultam em anormalidades da ação da insulina; às doenças do pâncreas exócrino; às endocrinopatias; à indução química ou por drogas; às infecções; à mediação do sistema imune; a outras síndromes. Contudo, a vasta maioria dos casos de DM caem dentro de duas amplas categorias: DM1 e DM2 (ADA, 2009).

O DM1 representa de 5 a 10% dos casos de DM e é caracterizado pela deficiência absoluta da secreção de insulina, que resulta da destruição auto-imune das células beta pancreáticas (ADA, 2009). Esse tipo de DM predomina em crianças e é incomum depois dos 30 anos de idade (KYLLO e NUTTAL, 1978). O DM2 é o tipo mais comum de DM, totalizado 90 a 95% dos casos, e é ocasionado pela combinação da resistência à ação da insulina e uma inadequada resposta compensatória de secreção de insulina (ADA, 2009). Esse tipo de DM acomete, especialmente, os adultos, todavia, sua incidência está em crescimento na infância (ROSENBLOOM et al., 1999).

Os principais sintomas do DM são a poliúria; a polidipsia; a perda de peso, às vezes associada à polifagia; e a visão turva (ADA, 2009). MALERBI e FRANCO (1992) estimaram que 8% da população brasileira é portadora de DM, sendo que 50% dessa desconhece esse fato. O quadro do DM pode progredir durante os anos e resultar em complicações decorrentes da exposição prolongada à hiperglicemia (BROWNLEE, 2005).

A hiperglicemia crônica leva à superprodução do radical aniôn superóxido ($O_2^{\bullet-}$) através de diversas fontes, como a cadeia de transporte de elétrons mitocondrial, a auto-oxidação da glicose, a reação de Fenton catalisada por metais de transição, a atividade aumentada da xantina oxidase, de peroxidases e da óxido nítrico sintase e da NADPH oxidase (FORBES et al., 2008). As quantidades excessivas de espécies reativas de oxigênio (ROS) que são formadas a partir do $O_2^{\bullet-}$ são capazes de modular a ativação da proteína cinase C

(PKC), da proteína cinase ativada por mitógenos (MAPK), de várias citocinas e de fatores de transcrição, causando, dessa forma, o aumento da expressão de genes que levam à progressão da doença (FORBES et al., 2007). A superprodução dessas espécies é concomitante à redução dos mecanismos antioxidantes, sendo assim, o OS pode desempenhar um importante papel no desenvolvimento das complicações diabéticas (BAYNES e THORPE, 1999; NISHIKAWA, 2000; BROWNLEE, 2005).

As principais complicações diabéticas são a retinopatia com a perda potencial da visão; a nefropatia levando a insuficiência renal terminal; a neuropatia periférica com risco de ulcerações nos pés e amputações; a neuropatia autonômica causando sintomas gastrointestinais, geniturinários, cardiovasculares e disfunções sexuais (ADA, 2009). Por esses motivos, o DM está ligado à redução da expectativa de vida, alta taxa de morbidade e diminuição da qualidade de vida (WHO, 2006).

3.2 Fisiologia Renal

Os rins são órgãos pares situados na parede posterior do abdome, externos à cavidade peritoneal, sendo, por isso, considerados estruturas retroperitoniais. Cada um deles pesa de 130 a 150 g e ambos representam 0,5 % do peso corporal total (WIDMAIER et al., 2006).

Os rins constituem o principal meio para a eliminação dos produtos de degradação do metabolismo, os quais são desnecessários ao organismo. Além disso, desempenham um importante papel na regulação do equilíbrio hidroeletrólítico através do controle do volume e da composição dos líquidos corporais. Dessa forma, exercem atividade homeostática ao manter o ambiente estável para que as células possam executar suas atividades. Dentre as demais funções atribuídas aos rins estão a regulação da osmolalidade e das concentrações de eletrólitos dos líquidos corporais; a regulação do equilíbrio ácido-básico; a regulação da pressão arterial; a secreção, metabolismo e excreção de hormônios; e a gliconeogênese (GUYTON e HALL, 2003).

Cada rim é dividido em duas regiões, o córtex e a medula, e contém cerca de 1 milhão de néfrons, sendo cada um deles constituído pelo corpúsculo renal e por um túbulo. Cada corpúsculo renal é formado pela combinação de duas estruturas, um glomérulo e uma cápsula de Bowman, e é responsável pela formação de um filtrado do sangue (GUYTON e HALL, 2003; WIDMAIER et al., 2006).

O glomérulo é um tufo compacto de alças capilares interconectadas, suprido de sangue pela arteríola aferente. Esse sofre uma protrusão para dentro de uma cápsula repleta de líquido, a cápsula de Bowman, que é formada por duas camadas, a parietal ou externa, que se encontra diretamente ligada ao túbulo renal e a visceral ou interna, apoiada em uma lâmina basal. Entre ambas as camadas existe um pequena fenda, o espaço de Bowman. A camada visceral é revestida pelos podócitos, que são células epiteliais muito diferentes daquelas encontradas no restante da cápsula. Esses podócitos estão aderidos aos capilares glomerulares e restringem a passagem protéica para a urina, portanto, lesões que os afetem, como a DN, podem levar ao aparecimento de proteinúria (WIDMAIER et al., 2006).

Existe, ainda, outro tipo celular que apesar de não participar do processo de filtração glomerular, também é importante e está relacionado a DN, as células mesangiais. Essas são células musculares lisas modificadas que circundam as alças capilares glomerulares e que produzem a matriz mesangial; e possuem propriedades contráteis (WIDMAIER et al., 2006).

A filtração é dependente do gradiente das pressões que se estabelecem entre o glomérulo e a cápsula de Bowman. Normalmente, a pressão de filtração final é positiva e favorece a formação de urina. Cerca de 20% do plasma é filtrado dos glomérulos para dentro da cápsula de Bowman e o sangue restante, então, deixa o glomérulo pela arteríola eferente. O filtrado glomerular normalmente não contém células, porém é constituído por todas as substâncias plasmáticas, à exceção das proteínas, praticamente nas mesmas concentrações do plasma (GUYTON e HALL, 2003).

O volume de líquido filtrado dos glomérulos para dentro do espaço de Bowman por unidade de tempo é a taxa de filtração glomerular (TFG). Ela é regulada pelo sistema renina-angiotensina-aldosterona, pela retroalimentação tubuloglomerular, pelo reflexo miogênico e por fatores extra-renais. Essa TFG é uma medida eficiente para a avaliação da função renal e se encontra alterada em casos de doenças renais (SCHWARTZ e FURTH, 2007), como a DN (VORA et al., 1994).

Conforme o líquido filtrado deixa a cápsula de Bowman e passa pelos túbulos, ele é modificado pela reabsorção de água e solutos específicos de volta para os capilares peritubulares ou pela secreção de outras substâncias dos capilares peritubulares para os túbulos. O líquido remanescente sai dos rins sob a forma de urina, sendo transportada para a bexiga, onde é armazenada até ser eliminada (GUYTON e HALL, 2003; CÓRDOVA, 2006; WIDMAIER et al., 2006).

3.3 Nefropatia Diabética

A DN é uma síndrome clínica caracterizada pela microalbuminúria persistente, concomitante com o DM. Essa é uma das mais importantes complicações do DM e a principal causa da insuficiência renal terminal (FIORETTO e MAUER, 2007). Essa complicação atinge indivíduos com ambos os tipos de DM e está presente em cerca de 30 a 40% dos casos de DM1 e em 20% dos casos de DM2 (ADA, 2004).

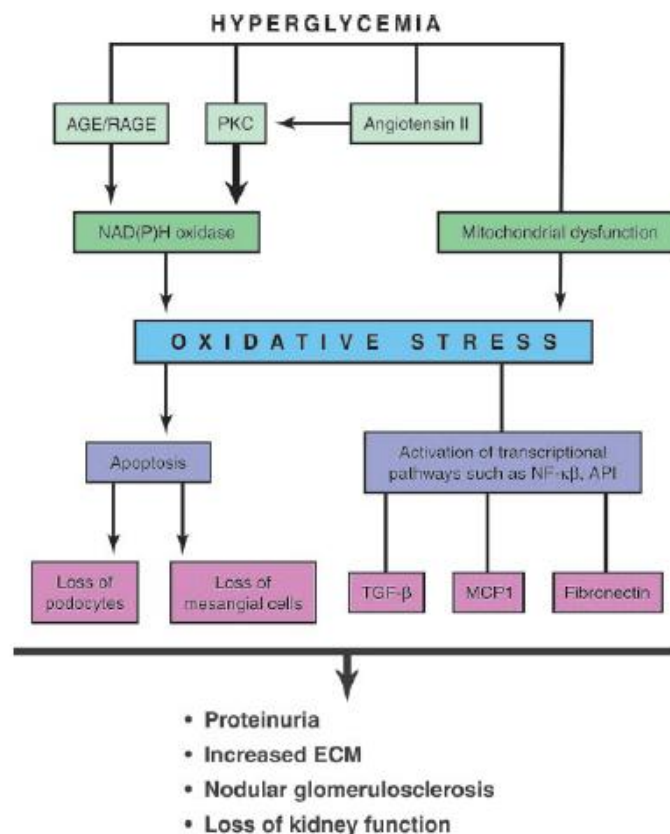
A DN possui algumas características que estão relacionadas ao seu desenvolvimento. Primeiramente, são observadas a hipertrofia, tanto renal, quanto glomerular, e a hiperfiltração. Essa hiperfiltração pode ser evidenciada por valores elevados da TFG, próximos ao dobro dos normais e está ligada ao espessamento da membrana basal glomerular. Posteriormente, outras características que marcam sua evolução podem ser detectadas, como é o caso da albuminúria, que ocorre devido a perda dos podócitos; e o acúmulo de matriz extracelular, que resulta da expansão da matriz mesangial. Caso medidas de tratamento não sejam adotadas, o quadro da doença pode evoluir ainda mais e os pacientes podem desenvolver glomeruloesclerose nodular, fibrose tubulointersticial, declínio gradual da TFG, microalbuminúria sustentada e hipertensão (FARIA, 2001; PORTH et al., 2004). Esses casos, uma vez instalados e não tratados, podem levar à insuficiência renal terminal e determinam a necessidade de encaminhamento dos pacientes aos programas de diálise ou transplante (COOPER, 1998; ADA, 2004).

As causas que levam ao aparecimento de todas essas alterações estruturas e funcionais que caracterizam a DN ainda não foram completamente esclarecidas (FORBES et al., 2007). No entanto, foi proposto que elas possam decorrer da interação entre fatores metabólicos e hemodinâmicos (COOPER, 2001).

Os fatores metabólicos podem levar ao dano renal através da formação de produtos da glicação avançada (PGAs), do acúmulo de sorbitol e da ativação da PKC. Essas vias tem a sua ativação dependente de glicose (FORBES et al., 2007). Sendo assim, a formação de PGAs pode aumentar a síntese de matriz extracelular por induzir a síntese e a secreção de citocinas e de fatores de crescimento, estimular a proliferação das células mesangiais e a produção de colágeno (VLASSARA et al., 1988; SOULIS-LIPAROTA et al., 1991; KIRSTEIN et al., 1992). Por sua vez, o acúmulo de sorbitol nos glomérulos e nos túbulos altera a osmorregulação da células e depleta o meio intracelular de mioinositol, elevando o diacilglicerol. Esse ativa a PKC, que leva a neovascularização, induz a síntese de colágeno e de receptores de fatores de crescimento, e altera a atividade de troca iônica e pH intracelular

(FARIA, 2001). Todas essas vias parecem ativar um fator comum, o aumento da produção do $O_2^{\bullet-}$ (BROWNLEE, 2005). SCIVITTARO et al. (2000) demonstraram que os PGAs aumentam a produção de ROS ao se ligarem ao seu receptor nas células mesangiais. Estudos *in vitro* conduzidos por LEEHEY et al. (2005) mostraram que a incubação de células mesangiais em presença de altas concentrações de glicose resultou na elevação dos níveis de angiotensina e no aumento da produção de $O_2^{\bullet-}$, mediada pela ação da NADPH oxidase e intensificada através da ativação da PKC e da disfunção mitocondrial (Figura 1).

Os fatores hemodinâmicos que estão implicados no mecanismo do dano renal são a elevação das pressões sistêmica e glomerular e a ativação de hormônios vasoativos como o sistema renina-angiotensina-aldosterona, endotelina e urotensina. Esses podem atuar de maneira independente ou em conjunto com as vias metabólicas para ativar a PKC, a MAPK, os fatores de transcrição nuclear e de crescimento e levar à albuminúria, ao acúmulo de matriz extracelular, à glomerulosclerose e à fibrose tubulointersticial (FORBES et al., 2007).



Fonte: SHAH et al. (2007).

Figura 1. Relação entre o estresse oxidativo e as diferentes vias que estão implicadas na nefropatia diabética.

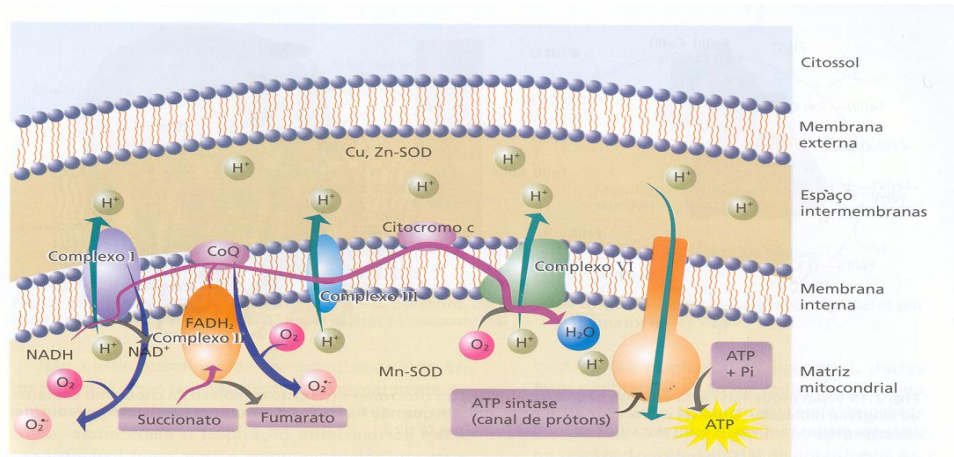
Outro aspecto importante relacionado a DN é que nem todos os pacientes apresentam um curso progressivo da doença, podendo, inclusive, retroceder aos estágios iniciais (CARAMORI et al., 2002; PERKINS et al., 2003). Dessa forma, os fatores de risco para o desenvolvimento dessa complicação são alvos de interesse (PORTH et al., 2004). Dentre os principais estão a hiperglicemia e a hipertensão associados à predisposição genética (GROSS et al., 2005).

Os métodos disponíveis atualmente para retardar a progressão da DN incluem a inibição do sistema da angiotensina, o controle glicêmico e da pressão sanguínea, e a restrição protéica isocalórica. Contudo, não evitam completamente a progressão da DN e o número de pacientes que a desenvolvem ainda é considerável, sendo, portanto, necessário que outros fatores associados à DN, como a dieta, sejam estudados para otimizar a prevenção e o tratamento dessa complicação (ALMEIDA et al., 2009).

Uma dieta com restrição de carboidratos, baixa disponibilidade de ferro e enriquecida em compostos ricos em antioxidantes, como os polifenólicos, segundo FACCHINI e SAILOR (2003), pode ser de 40 a 50% mais efetiva do que a restrição protéica padrão na melhoria renal.

3.4 Estresse Oxidativo

O desenvolvimento e a existência de um organismo em presença de oxigênio molecular (O_2) estão associados à geração de ROS, sob condições fisiológicas (SIES, 1991; HALLIWELL, 1996; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999). As ROS são formadas, principalmente, durante os processos de oxidação biológica, dentre os quais está a respiração celular acoplada à fosforilação oxidativa, para formação de ATP na mitocôndria (CHANCE et al., 1979) (Figura 2).



Fonte: OHARA (2006).

Figura 2. Metabolização do oxigênio na mitocôndria com a formação de ATP.

Nesse processo, o O_2 é reduzido até água (H_2O), recebendo quatro elétrons de uma só vez pela citocromo oxidase. Entretanto, em razão de sua configuração eletrônica o O_2 , que é um birradical, tem uma forte tendência a receber um elétron de cada vez, gerando compostos intermediários muito reativos, conhecidos como ROS. A formação dessas espécies ocorre em aproximadamente 5% de todo o processo de redução do O_2 até H_2O . Dentre esses compostos intermediários estão o $O_2^{\bullet-}$, o peróxido de hidrogênio (H_2O_2) e o radical hidroxila (OH^{\bullet}) (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999) (Figura 3).

As ROS são radicais ou espécies não-radicalares, capazes de oxidar biomoléculas. Dessa forma, esses intermediários também são chamados de oxidantes ou pró-oxidantes (SIES, 1991; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999). Quando as ROS apresentam pelo menos um elétron desemparelhado são denominadas radicais livres. Os radicais livres são definidos como qualquer espécie química capaz de existir independentemente que contenha um ou mais elétrons desemparelhados (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

Existem várias fontes específicas de ROS no organismo humano. O $O_2^{\bullet-}$ é o primeiro intermediário formado pela redução monovalente do O_2 a H_2O pela ação enzimática da xantina oxidase, NADPH oxidase ou pela quebra da cadeia respiratória e a partir dele serão formadas, através de reações sequenciais, as demais ROS (HALLIWELL, 1996).

O H_2O_2 é o segundo intermediário gerado nesse processo. Ele é uma espécie reativa não-radicalar e pode facilmente se difundir entre as células vivas, podendo gerar o OH^{\bullet} em processos catalisados por metais de transição (reação de Fenton e Reação de Haber-Weiss). O OH^{\bullet} é um dos mais potentes oxidantes do sistema biológico e atua reagindo com

biomoléculas. A alta reatividade desse radical implica a reação imediata no local onde ele foi formado (DIPLOCK et al., 1998).



Fonte: OHARA (2006).

Figura 3. Formação das espécies reativas de oxigênio a partir da redução parcial do oxigênio.

O potencial reativo das ROS pode ser evidenciado através dos processos que desencadeia, tais como a liperoxidação da membrana (LPO), que sofre alterações na sua permeabilidade e função secretória; as reações oxidativas em proteínas, que levam à alterações dos seus grupamentos tióis e carbonila, modificando suas estruturas e estados conformacionais; o ataque ao DNA, induzindo mutações e formação de 8-hidroxideoxiguanosina (SIES, 1991; HALLIWELL, 1996; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

Uma diversidade de defesa antioxidantes foram desenvolvidas em sistemas biológicos para neutralizar a carga pró-oxidante e manter baixo os níveis intracelulares das ROS em concentrações de estado estacionário. Um antioxidante é definido como qualquer substância que, quando presentes em baixas concentrações comparadas a do substrato oxidável, retardam significativamente ou impedem a oxidação daquele substrato (SIES, 1993; HALLIWELL, 1995; HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

Os antioxidantes podem atuar prevenindo a formação das ROS, interceptando-as quando formadas e reparando os danos macromoleculares. Os sistemas de defesas antioxidantes são compostos por antioxidantes enzimáticos e não-enzimáticos, que atuam conjuntamente na proteção celular (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

O sistema de defesa enzimático é composto, dentre outras enzimas, pela superóxido dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathiona peroxidase (GPx), glutathiona redutase (GR), glutathiona-S-transferase (GST). O sistema de defesa não-enzimático é formado por antioxidantes hidrossolúveis, como a glutathiona (GSH), o ácido ascórbico (vitamina C) e o ácido úrico; e lipossolúveis, como o α -tocoferol (vitamina E), os carotenóides e a bilirrubina (HALLIWELL e GUTTERIDGE, 1999).

O desequilíbrio entre os antioxidantes e pró-oxidantes é denominado OS e ocorre devido ao aumento na velocidade de geração de ROS e/ou diminuição na atividade do sistema de defesa antioxidante, resultando em aumento sustentado das concentrações em estado estacionário de ROS (SIES, 1991).

3.5 Diabetes Experimental

O DM experimental pode ser induzido em animais por vários mecanismos. Os principais procedimentos adotados para a produção do DM envolvem o estresse, as infecções, as toxinas, a pancreatectomia, as lesões no sistema nervoso central, o uso de hormônios anti-insulínicos, a exposição à hidrocortisona ou ao hormônio adenocorticotrófico, a indução por vírus e o uso de agentes químicos beta-citotóxicos. Os métodos químicos de supressão endócrina do pâncreas promovem todos os eventos bioquímicos, hormonais e morfológicos do estado diabetogênico. O aloxano (ALX) e a STZ são dois agentes que possuem citotoxicidade específica para as células beta e causam insuficiência insulínica primária do pâncreas seguida de DM permanente nas 24 horas subsequentes. Esses métodos químicos são de fácil execução, apesar de resultarem em um elevado índice de morte (LERCO et al., 2003).

O ALX teve sua atividade diabetogênica notada por DUNN et al. (1943) e sua utilização para a produção do DM é ainda reconhecida. No entanto, a STZ apresenta maior especificidade sobre as células beta, além disso, sua ação está vinculada à dose de administração e com menor toxicidade geral do que o ALX, o qual exibe uma margem estreita entre as doses diabetogênicas e letais (JUNOD et al., 1969).

O DM experimental induzido pela STZ pode ser obtido pela administração da droga tanto por via intravenosa quanto intraperitonealmente. Em ratos, a injeção intravenosa de STZ é frequentemente realizada em uma das veias da cauda (DELFINO et al., 2002) e a dose administrada varia entre 40 e 60 mg/kg (GANDA et al., 1976). Os animais com o DM induzido por essa substância, ainda desenvolvem DN similar àquela de fase clínica (SASSY-PRINGENT et al., 2000), sendo todas as mudanças nas funções renais atribuídas ao metabolismo alterado do DM, uma vez que a STZ não possui nenhum potencial nefrotóxico significativo (RASCH, 1979).

3.6 Alimentos Funcionais

A utilização de componentes alimentares com finalidades terapêuticas é reportada desde milhões de anos atrás. Todavia, nessa época suas propriedades fisiológicas e medicinais eram desconhecidas e passaram a ser esclarecidas somente a partir do século XX, quando um grande número de pesquisas científicas foram conduzidas para elucidação das possíveis propriedades funcionais, antioxidantes ou quaisquer outras que os alimentos possuíssem, as quais pudessem ser eficientes na prevenção de doenças como o DM (HERRMANN et al., 2008). Essa busca levou ao surgimento de uma classe de alimentos chamados “alimentos funcionais” (WEISBURGUER, 1999).

O alimento funcional é aquele que é similar ao convencional em aparência, consumido como parte de uma dieta usual, e que em virtude de componentes alimentares fisiologicamente ativos, fornece benefícios à saúde, além de desempenhar as funções nutricionais (HEALTH CANADA, 1998). São exemplos dessa classe alimentar, as frutas, os vegetais, os legumes e os cereais, como o arroz parboilizado (FERRARI e TORRES, 2003).

O arroz parboilizado traz alguns benefícios nutricionais e funcionais para a saúde da população. Tais benefícios são, em sua maior parte, desconhecidos pelos consumidores. Esse fato revela a necessidade de que sejam passadas informações a respeito das características vantajosas desse tipo de arroz sobre o arroz branco (HEINEMANN et al., 2006).

3.6.1 Arroz

O arroz foi cultivado primeiramente no sudoeste asiático em 5.000 a.C. Essa cultura se expandiu posteriormente para a Índia e para a Europa e em meados do século III, foi introduzida pelos espanhóis nos países da América do Sul e Central, chegando aos Estados Unidos da América, apenas, em 1865. No Brasil, foi inserida pelos portugueses, poucos anos depois do descobrimento (LEMOS e SOARES, 1999).

O arroz atualmente é um dos cereais mais cultivados e consumidos no mundo (FINOCCHIARO et al., 2007). É estimado que a ele tenha alimentado mais indivíduos, incluindo brasileiros, do que qualquer outro cereal produzido (ROSSEL e MARCO, 2008).

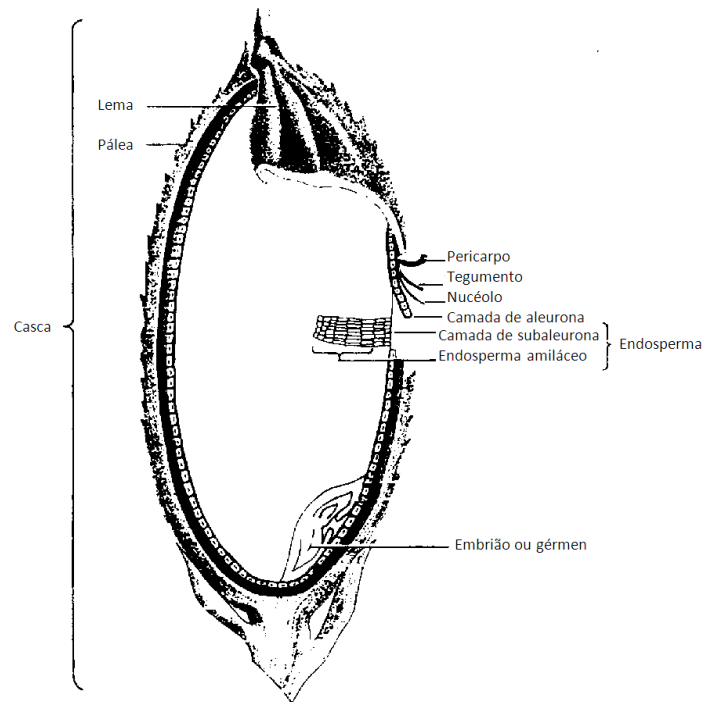
Os dados publicados nos últimos anos corroboram com essa afirmativa, ao demonstrarem a participação do Brasil na produção e no consumo desse cereal. Um

levantamento feito no ano de 2000 demonstrou que no nosso país, o seu consumo foi de 39,2 kg *per capita* (IRRI, 2009). Outra estimativa realizada no ano de 2006 apontou que esse território apareceu como um dos 10 maiores produtores de arroz, colaborando com, aproximadamente, 2,17% do total mundial produzido (FAO, 2009).

3.6.1.1 Estrutura e Composição do Grão

O grão de arroz consiste da cariopse e de um revestimento externo de proteção, a casca. A cariopse é formada pelas camadas externas do pericarpo, tegumento e nuceólo; pelo gérmen ou embrião; e pelo endosperma. O pigmento, rico em compostos fenólicos, está confinado no pericarpo; e as proteínas, os lipídios, as fibras, os minerais, as vitaminas e o γ -orizanol estão mais concentrados nas camadas mais exteriores do grão, apesar de não estarem distribuídos de maneira uniforme nessas frações (WALTER et al., 2008). O gérmen ou embrião está localizado no lado ventral da base do grão e é rico em proteínas e lipídios (JULIANO e BECHTEL, 1985). O endosperma é constituído de uma camada de aleurona e do próprio endosperma, o qual consiste na camada de subaleurona e no endosperma amiláceo ou interno. A camada aleurona envolve o gérmen. As células da aleurona e do embrião são ricas em corpos protéicos, corpos de fitato e corpos lipídicos (JULIANO, 1993). O endosperma forma a maior parte do grão e consiste de alguns corpos protéicos e de células ricas em grânulos de amido, o qual é homopolissacarídeo composto por cadeias de amilose e amilopectina (JULIANO e BECHTEL, 1985) (Figura 4).

Sendo assim, o grão de arroz é constituído, principalmente, por amido e apresenta quantidades menores de proteínas, lipídios, fibras e cinzas. Entretanto, os diferentes tipos de processamento aos quais o grão de arroz é submetido (polimento, parboilização ou apenas a retirada da casca) podem causar variações em sua composição nutricional (STORCK et al., 2005).



Fonte: Adaptado de JULIANO (1993).

Figura 4. Seção longitudinal de um grão de arroz.

3.6.1.2 Processamento

Os tipos de arroz mais consumidos são, em ordem decrescente, o branco, o parboilizado e o integral. O arroz integral é obtido através separação da casca (pálea e lema) e da cariopse, através do descascamento (WALTER et al., 2008). O arroz integral contém maior teor de alguns nutrientes, incluindo, lipídios, minerais e fibras, quando comparado ao branco e ao parboilizado (JULIANO, 1993). Embora as pesquisas demonstrem a superioridade do arroz integral em relação aos demais tipos, alguns fatores influenciam negativamente o seu consumo entre as populações mundiais. Dentre estes, estão os fatores relacionados à sua palatabilidade e à sua baixa vida de prateleira. Além disso, o maior teor de minerais presente no arroz integral não reflete, necessariamente, maior biodisponibilidade dos mesmos, uma vez que, grande parte desses pode estar complexado com outros componentes, como fibras e fitato, e portanto, indisponíveis ao metabolismo humano (LIU, 2005; WALTER et al., 2008).

O arroz integral pode ser polido através da remoção do farelo (pericarpo, tegumento, camada de aleurona e gérmen) para a obtenção do arroz branco polido, o qual é constituído basicamente por amido (STORCK et al., 2005; WALTER et al., 2008). O polimento tem o

objetivo de melhorar a aparência e o gosto do arroz, todavia, apresenta fatores negativos em termos de valor nutricional, uma vez que parte dos minerais, vitaminas, fibras, antioxidantes e outras substâncias de relevância, que se encontram em maiores proporções no embrião e no farelo, são retiradas (MATSUO et al., 1995). Quanto maior a intensidade do polimento, maior o número de camadas perdidas e, conseqüentemente, maior é a perda de nutrientes (COFFMAN et al., 1987).

Outro tipo de processamento do arroz é a parboilização. Esse método envolve a imersão do arroz com casca a uma temperatura acima de 58°C para que ocorra gelatinização do amido. Esse passo é seguido de resfriamento e secagem lenta antes do armazenamento ou polimento (JULIANO, 1993). A parboilização foi descoberta no início do século XX e foi implantada no Brasil na década de 50. Inicialmente, ela foi desenvolvida com o propósito de aumentar o rendimento industrial. Posteriormente, a influência positiva que exercia sobre o valor nutricional do arroz foi evidenciada, uma vez que as vitaminas e os minerais apareciam mais concentrados no grão, como resultado da migração desses para o endosperma (JULIANO, 1993; AMATO et al., 2002; HEINEMANN et al., 2005; STORCK et al., 2005). Entretanto, esses minerais pareciam não estar concentrados de maneira uniforme e foi sugerido que eles possuem diferentes padrões de retenção durante a parboilização (HEINEMANN et al., 2005).

Outra característica que pode ser atribuída à parboilização é o endurecimento do endosperma, que o torna mais resistente ao polimento, reduzindo, assim, a perda de nutrientes. Além disso, o arroz parboilizado apresenta também menores teores de gordura e maiores concentrações protéicas e de amido-resistente do que o arroz branco (JULIANO, 1993; SINGH et al., 1999; HEINEMANN et al., 2005; STORCK et al., 2005). O amido resistente é um polissacarídeo, constituído de polímeros de amido retrogradado, principalmente, amilose. Esse é resistente à ação das enzimas do trato gastrointestinal, possui ação semelhante a das fibras alimentares e por ser lentamente digerido no intestino delgado, atua na manutenção da glicemia (AMATO e ELIAS, 2005).

3.6.1.3 Arroz Parboilizado

O interesse crescente do estudo do arroz parboilizado como alimento funcional se deve à suas propriedades nutritivas, as quais são mantidas em decorrência do processamento e ao fato de existirem poucas pesquisas relacionadas ao seu uso (AMATO et al., 2002).

Uma dieta saudável que inclua alimentos que produzam baixos índices glicêmicos, pode auxiliar na prevenção e tratamento de doenças crônicas como é o caso de DM (QURESHI et al., 2002). PARVIN et al. (2008) verificaram que a inclusão do arroz como fonte de carboidratos na dieta é preferencial ao pão branco, uma vez que seu consumo resultou em baixo índice glicêmico em indivíduos com DM quando comparado ao pão branco.

Entretanto, os diversos tipos de processamento aos quais o arroz pode ser sujeito podem afetar suas propriedades (STORCK et al., 2005). O consumo do arroz parboilizado também produz menores respostas glicêmicas *in vitro* (SAGUM e ARCOT, 2000) e *in vivo* (WALTER et al., 2005) quando comparado ao arroz branco. Esse efeito, além de ser atribuído como resultado da presença de elevadas quantidades de amido resistente, pode estar associado à ação da amilose, que quando presente no amido em maiores proporções do que à amilopectina, procede em menor resposta glicêmica (PARVIN et al., 2008; WALTER et al., 2008).

Somado ao controle glicêmico, o consumo de substâncias que possuam potencial antioxidante se faz importante no tratamento do DM, uma vez que essa doença está envolvida com o aumento do OS. Essas substâncias podem impedir e/ou retardar significativamente a evolução e o aparecimento de suas complicações (MARITIM et al., 2003; YOKOYAMA, 2004; YAWADIO et al., 2007). Nesse sentido, o interesse na utilização de compostos polifenólicos naturais, os quais estão amplamente distribuídos nos alimentos, está em crescimento e o consumo deles tem sido indicado na busca por fontes naturais de antioxidantes que possam substituir aquelas sintéticas (ZHANG e OMAYE, 2001).

O arroz possui antioxidantes em sua composição. Os principais são os compostos polifenólicos, as vitaminas, como os homólogos da vitamina E e o composto γ -orizanol, os quais tem suas concentrações também modificadas pelo processamento (GOFFMAN e BERGMAN, 2004). Essas substâncias são encontradas em maiores teores no arroz com pericarpo vermelho e preto e no arroz integral e em menores no arroz branco, uma vez que estão associados à presença do farelo e o polimento o remove, reduzindo as concentrações dessas substâncias (GOFFMAN e BERGMAN, 2004; NAM et al., 2005; SHEN et al., 2009). Contudo, estes tipos de arroz, o que possui o pericarpo vermelho e o que possui o preto, são considerados um problema na orizicultura de diversos países, inclusive, do Brasil, onde não existe o hábito de seu consumo, que também não é comum para o arroz integral (WALTER, 2009).

Os efeitos benéficos associados a presença de compostos polifenólicos no arroz com pericarpo colorido e no arroz integral estão bem esclarecidos em diversas doenças crônicas, como é o caso o DM (NAM et al., 2005; XIA et al., 2003; KIM et al., 2006). Contudo, essas formas de consumo não são muito aceitas pela população, que ainda prefere o arroz branco na sua forma cozida, a qual também promove perdas adicionais de compostos fenólicos, uma vez que esses são afetados por temperaturas elevadas (LARRAURI et al., 1997; PIGA et al., 2003; FINOCCHIARO et al., 2007).

A elevada ingestão de arroz branco por indivíduos de países em desenvolvimento, como é o caso dos latino-americanos, que não tem acesso a alimentos ricos em micronutrientes, pode levar à deficiências de minerais essenciais, vitaminas e outras composições nutricionais na população (BOUIS et al., 2003; VERSCHUREN, 2002). Sendo assim, o arroz parboilizado, que sob o ponto de vista nutricional e funcional, reúne a maioria das vantagens do integral e do branco e apresenta pouca desvantagens em relação a eles, embora estas ainda sejam desconhecidas por alguns indivíduos, deve ter seu consumo ainda mais estimulado (HEINEMANN et al., 2006; AMATO et al., 2002).

O processo de parboilização pode ser considerado um método de enriquecimento natural, pois promove a fixação dos micronutrientes hidrossolúveis, os quais são capazes de migrar em direção às camadas mais internas do grão; e os lipossolúveis, como a vitamina E, que tem seu aumento explicado pela remanescência das camadas onde eles estão concentrados, provavelmente, pela resistência ao polimento. A presença da vitamina E, um potente antioxidante, tem sido reportada no arroz parboilizado, ao passo que no arroz branco sua concentração é tão baixa, que não permite sua quantificação. Por esses motivos, o método de parboilização tem sido considerado um processo de enriquecimento natural. Contudo, ele apresenta uma limitação que está correlacionada à termolabilidade de compostos polifenólicos e vitaminas, restrição esta que está sendo minimizada a partir da utilização de processos que envolvam altas temperaturas associadas ao curto tempo de exposição. Esse tipo de arroz, depois de passar por esse processo hidrotérmico, deve ser submetido ao cozimento, prévio ao seu consumo. Esse cozimento, no entanto, parece não resultar na perda tão pronunciada dos compostos polifenólicos, uma vez os grãos parboilizados haviam sofrido tratamento hidrotérmico anterior (AMATO et al., 2002).

Outra característica importante conferida a esse arroz é que, conforme citado anteriormente, ele possui maiores teores protéicos do que o arroz branco (JULIANO, 1993). Mesmo que os cereais não sejam exemplos de excelência em aporte nutricional de proteínas, o

arroz, em especial o parboilizado, se destaca em relação aos demais pela eficiência relativa de sua proteína (AMATO et al., 2002).

O tipo e a quantidade de proteína da dieta parecem interferir no surgimento e no curso da DN. Sendo assim, alguns estudos trazem evidências de que a origem protéica é importante, de igual ou até melhor efeito do que a restrição protéica, uma vez que a utilização dessa restrição dietética a longo prazo pode não ser aderida pelos pacientes e pode expor esses indivíduos à riscos nutricionais (EVANOFF et al., 1989; MELONI et al. 2002). Dessa maneira, os benefícios trazidos pela redução do consumo de proteína animal e a manutenção da ingestão de proteína de origem vegetal são notáveis (PIJLS et al., 2002). Nesse contexto, dentre os cereais, o arroz parboilizado é uma boa fonte protéica de origem vegetal e o seu consumo como alimento funcional pode ser indicado para retardar a evolução da DN. Além disso, esse tipo de arroz também contém em sua composição, conforme foi mencionado acima, concentrações de vitamina E superiores a do arroz branco, as quais quando inclusas na dieta de pacientes com DM com diferentes graus de DN resultaram em efeitos favoráveis, sendo assim, o seu consumo indicado e associado ao tratamento intensificado da doença (GÆDE et al., 1999).

4 MANUSCRITO

O manuscrito está disposto conforme as especificações requisitadas pelo *British Journal of Nutrition*, ao qual foi submetido para publicação.

Evaluation of the antioxidant effect of white and parboiled rice on renal damage in rats with streptozotocin-induced diabetes

Isabela A. Finamor¹, Etiane M.H. Saccol.¹, Diogo Gabriel¹, Giovana M. Ourique¹, Ana P.K. Riffel¹, Signorá P. Konrad², Adriane Belló-Klein³, Wania Partata³, Bernardo Baldisserotto¹, Susana F. Llesuy⁴, Maria A. Pavanato^{1*}.

¹*Department of Physiology and Pharmacology, Federal University of Santa Maria (UFSM), Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil.*

²*University of Vale do Rio dos Sinos (UNISINOS), São Leopoldo, Rio Grande do Sul, Brazil.*

³*Department of Physiology, Federal University of Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brazil.*

⁴*Department of Analytical Chemistry and Physical Chemistry, University of Buenos Aires (UBA), Buenos Aires, Argentina.*

*Corresponding author:

Department of Physiology and Pharmacology

Federal University of Santa Maria

Roraima Avenue, 1000

Camobi, 97105-900

Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil

Phone: +55 55 32209381 Fax: +55 55 32208241

E-mail: amaliapavanato@yahoo.com.br

Diabetes, kidney, white rice, parboiled rice, antioxidants.

Abstract

The antioxidant effect of white rice and parboiled rice was investigated in the kidneys of rats with streptozotocin-induced diabetes (40 mg/kg, iv). These diets were offered after confirmed hyperglycemia 9 d after induction. Food consumption was monitored on a daily basis and body weight was determined weekly. The experimental groups, composed of 8 animals each (control fed standard diet; control fed parboiled rice; control fed white rice; diabetic fed standard diet; diabetic fed parboiled rice; diabetic fed white rice), were anesthetized and exsanguinated for removal of kidneys used to determine lipoperoxidation concentration (TBARS), enzymatic antioxidant activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx), glutathione reductase (GR) and glutathione-S-transferase (GST) as well as non-enzymatic antioxidant levels of glutathione (GSH). Diabetes induced increase in blood glucose and lipid peroxidation (LPO), which was higher in the group treated with white rice (118% as compared to the control group and 26% as compared to the parboiled rice group). The white rice diet reduced SOD (30%), CAT (25%), GR (29%) activities and GSH (24%) levels as compared to the control group. The parboiled rice diet increased GPx (25%) and GSH (29%) values as compared to the control group. GSH values in diabetic rats were found to be higher in the parboiled rice group. Thus, rice consumption does not improve LPO in the renal tissue of diabetic rats, but parboiled rice improves antioxidant parameters much more than white rice does.

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) is one of the main foods in the human diet, being consumed by approximately half of the world, preferably in the form of polished white grain^(1,2). However, consumption of parboiled rice, which is more resistant to polishing and has nutritional advantages due to the retention of minerals and water soluble vitamins, is growing⁽³⁻⁶⁾.

In the polishing process to obtain white rice, layers rich in protein, fiber, vitamins and oils are removed^(7,8) including compound γ -oryzanol and vitamin E homologues, besides various phenolic compounds with antioxidant action found mainly in the grain pericarp^(9,10). Several studies have shown that supplementing the diet with colored pericarp decreases oxidative stress (OS) *in vivo* and simultaneously increases the antioxidant capacity *in vivo* and *in vitro*⁽¹¹⁻¹³⁾.

OS occurs when there is an increased generation of reactive oxygen species (ROS), decrease in antioxidant defenses, or a combination of both⁽¹⁴⁾. ROS are formed during the metabolism of oxygen and their concentrations are controlled by antioxidant systems, which include several enzymatic and non-enzymatic compounds. The enzymatic ones include enzymes superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPx) and glutathione-S-transferase (GST). SOD converts the superoxide anion formed from molecular oxygen into hydrogen peroxide (H₂O₂), which is converted to water and oxygen by the action of CAT. GPx, in turn, catalyzes the conversion of both H₂O₂ and organic hydroperoxides to less reactive products, employing for that glutathione (GSH) in its reduced form as electron donor. The oxidized form of glutathione (GSSG) is again reduced by the action of glutathione reductase (GR) and NADPH as electron donor. GST has the main role in elimination of exogenous substances and some of them act eliminating organic hydroperoxides. ROS are highly reactive and can lead to oxidative damage to macromolecules such as lipids, proteins and DNA. Thus, these species have been implicated in the pathophysiology of many diseases⁽¹⁵⁾, including the etiology and pathogenesis of diabetes mellitus⁽¹⁶⁻¹⁸⁾.

An experimental model for the study of diabetes mellitus is the administration of streptozotocin (STZ) in rats. The animals in this condition are good models for the assessment of the diabetic state with residual or remnant insulin production by pancreatic beta cells. Furthermore, rats with STZ-induced diabetes develop nephropathy similar to that of early clinical diabetic nephropathy (DN)⁽¹⁹⁾, one of the most serious microvascular complications and the leading cause of end-stage renal disease⁽²⁰⁾. Some studies have shown that supplementation of diet with antioxidants such as vitamin E, lipoic acid, and polyphenols present in plants attenuate ROS-mediated DN. By reducing ROS production, these compounds decrease OS giving protection to the renal tissue⁽²¹⁻²⁴⁾. Although rice is not among the foods with the highest concentration of polyphenols, it behaves as a source of these compounds due to its large consumption. As parboiled rice has special nutritional and functional characteristics when compared to white rice, this type of rice can be considered a value-added product, deserving, therefore, more attention from industry, researchers and nutrition professionals⁽⁶⁾. Thus, this study showed the effect of a diet with white rice and parboiled rice on OS parameters in kidney of rats with diabetes mellitus induced by STZ. Our hypothesis is that substances present in rice, mainly in the parboiled type, reduces OS parameters in the kidneys of diabetic rats, resulting in improvement in DN.

Materials and Methods

Diets

The samples of parboiled and white rice, both polished, were obtained from local traders. They were submitted to the cooking process and drying as described by Helbig *et al.*⁽²⁵⁾. After cooking, the grains were transferred to polyethylene sieves and dried in an oven with forced air for 24 h at 60 °C. Next, the grains were ground and sieved to obtain a flour that was added to the diets of rats, whose formulation is consistent with the guidelines of the American Institute of Nutrition for growing rats (AIN-93G), being isoenergetic⁽²⁶⁾. The centesimal composition was determined in both samples of flour and in the experimental diets⁽²⁷⁾. Diet composition is shown in Table 1.

Experimental protocol

Adult male Wistar rats, weighing 293 ± 5 g on average, were obtained from the Central Animal Breeding Facility of the Federal University of Santa Maria, RS, Brazil. All animal procedures adopted are consistent with the national and institutional guidelines for the protection of animal welfare during the experiments. The study also was approved by the Ethics Committee of the Federal University of Santa Maria (process 051/2009). The animals were kept in cages under controlled temperature (23 ± 2 °C) and humidity (50-55%), and light-dark cycle of 12 h with water and food *ad libitum*.

Rats ($n = 48$) were randomly divided into six groups with eight animals each: control group fed a standard diet, control group fed a diet of parboiled rice, control group fed a diet of white rice, diabetic group fed a standard diet, diabetic group fed a diet of parboiled rice, and diabetic group fed a diet of white rice. Treatment with the different diets was initiated after confirmation of diabetes mellitus by plasma glucose determination. This occurred 9 d after STZ administration. Animals' food consumption was monitored on a daily basis and their body weights were recorded weekly to determine the food efficiency ratio (FER) by using the following formula: body weight gain for experimental period (g)/food intake for experimental period (g). The treatment lasted 30 d.

Induction of diabetes mellitus

Diabetes mellitus was induced by administration of a single dose of STZ (Sigma, S0130) in the tail vein at a dose of 40 mg/kg body weight. STZ was diluted in 0.01 M sodium citrate buffer, pH 4.5, at a concentration of 32.5 mg/ml. The administration was performed

only after 24 h fasting and 1 min after STZ dilution. Animals in control groups received a single dose of sodium citrate buffer 0.01 M, pH 4.5, at the same concentrations and conditions used for STZ administration⁽²⁸⁾.

The development of diabetes was confirmed by measurement of plasma glucose 9 d after STZ administration. Only rats with plasma glucose levels above 11.1 mmol/l were considered diabetic and used in the study.

Blood analysis

Blood samples of rats in the different experimental groups were collected from the retro-orbital plexus 1 d before induction, 9 d after induction, and 30 d after starting treatment. At the end of 30 d, the animals were anesthetized with xylazine and ketamine and sacrificed by exsanguination.

Immediately after collection, blood was centrifuged at 1800g for 15 min at 4 °C to obtain plasma. Glucose, total cholesterol, triglycerides, and plasma creatinine levels were determined by using commercial kits (Labtest, Brazil).

Tissue homogenate preparation

Immediately following exsanguination, the kidneys were removed, cleaned and washed in ice-cold normal saline. The kidney was homogenized in 1.15% (w/v) potassium chloride (KCl) containing 1 mM phenylmethylsulfonyl fluoride (PMSF). The homogenates were centrifuged at 700g for 10 min at 4°C to discard nuclei and cell debris, and the supernatant fraction obtained was frozen at -70°C for further measurements⁽²⁹⁾.

Lipid peroxidation assay

Lipid peroxidation (LPO) was measured by thiobarbituric acid reactive substances (TBARS). In the TBARS method, absorbance measurements at 535 nm were used to measure the reaction between thiobarbituric acid (TBA) and the LPO products, resulting in the formation of a chromogen (Schiff's base). The homogenate was diluted to 1 mg protein/ml in 140 mM KCl and 20 mM PBS, pH 7.3, and the same volume of 10% (w/v) TCA was added (1:1). The precipitate was removed by centrifugation, and the supernatant incubated with 0.67% (w/v) thiobarbituric acid for 15 min at 100° C. The results are reported as nanomoles per milligram of protein. Commercially available malonaldehyde (MDA) was used as a standard⁽³⁰⁾.

Antioxidant enzyme activities

SOD activity was determined in kidney as the inhibition rate of autocatalytic adenochrome generation at 480 nm in a reaction medium containing 1 mM epinephrine and 50 mM glycine-NaOH buffer (pH 10.5). One unit of SOD activity was defined as the amount of enzyme that inhibits the rate of adenochrome formation in 50%. The enzymatic activity is expressed as units per milligram of protein⁽³¹⁾.

CAT activity was determined essentially using the method described by Beers Jr. & Sizer⁽³²⁾, in which the disappearance of H₂O₂ is followed spectrophotometrically at 240 nm. The reaction medium consisted of 50 mM PBS, pH 7.2, and 10 mM H₂O₂⁽³³⁾. The results are reported as picomoles per milligram of protein.

GPx activity in kidney was measured by monitoring NADPH oxidation at 340 nm. The reaction medium consisted of 30 mM PBS, pH 7.0, 0.17 mM GSH, 0.2 U/ml GR, and 0.5 mM tert-butyl-hydroperoxide. GPx activity is reported as micromoles per min per milligram of protein⁽³⁴⁾.

GR activity, for regeneration of GSH, was assessed spectrophotometrically by following the oxidation of NADPH at 340 nm, as described by Carlberg & Mannervik⁽³⁵⁾. The results are expressed as micromoles per min per milligram of protein.

GST activity toward 1-chloro-2,4-dinitrobenzene (CDNB) was determined spectrophotometrically at 340 nm by the method of Habig *et al.*⁽³⁶⁾ with slight modifications. Briefly, the assay was performed at 25°C using 100 mM PBS, pH 6.5, with GSH and CDNB at a final concentration of 1 mM each. The reaction was followed for 4 min and the activity was calculated from the changes in absorbance at 340 nm using the extinction coefficient of 9.6 mM⁻¹ cm⁻¹ for the reaction product, dinitrophenyl-S-glutathione (DNP-SG). Nonenzymatic conjugation was subtracted using a blank containing buffer and the substrate, but no enzyme. One unit of GST activity was defined as the amount of enzyme catalyzing the conjugation of 1 picomole of CDNB with GSH per min at 25°C. The enzymatic activity is expressed as picomoles per min per milligram of protein.

Non enzymatic antioxidant (Tissue sulfhydryl groups)

Tissue sulfhydryl groups (GSH) were measured spectrophotometrically at 412 nm in kidney homogenates after reaction with 5,5' – dithiobis-(2-nitrobenzoic acid). Proteins were eliminated through the addition of 0.5M perchloric acid (HClO₄)⁽³⁷⁾. Thiol content was expressed in nanomoles per mg of protein.

Protein measurement

The protein content of the homogenate was measured by the method of Bradford⁽³⁸⁾ using bovine serum albumin as a standard.

Statistical analysis

The results are expressed as the mean and SED. The data were compared by two-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test for comparison of means using Statistica 5. Differences were considered significant at $P < 0.05$.

Results

Body weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio

The animals in control groups showed similarity of these parameters ($P > 0.05$). Diabetic animals, in turn, had a reduction in body weight, increased food intake, weight loss, and decreased FER ($P < 0.001$) when their data were compared with those of control groups.

The consumption of a diet based on white rice caused marked weight loss and reduction of FER in diabetic rats ($P < 0.05$) when these values were compared with those of other diets (Table 2).

Renal hypertrophy

The ratio of kidney weight and body weight was calculated in different experimental groups to estimate renal hypertrophy. There was a significant increase in this ratio in the diabetic animals as compared to controls ($P < 0.001$). Among diabetic rats, those fed with white rice showed even more pronounced hypertrophy as compared to the groups fed the other diets ($P < 0.05$) (Table 2).

Blood analysis

In diabetic rats, the plasma glucose concentration ($P < 0.001$) and creatinine ($P < 0.05$) were significantly higher than in their respective controls. Among the diabetic rats, those fed a diet of white rice had the highest values of glucose, when these values were compared to those obtained in diabetic rats treated with standard diets and parboiled rice, which is an

increase of 21% and 34%, respectively ($P < 0.05$). Total cholesterol and triglyceride levels showed no statistically significant variations across the studied groups (Table 3).

Lipid peroxidation assay

Figure 1 shows the LPO values in the kidneys of rats belonging to the different experimental groups, as measured by TBARS. LPO increased in all diabetic groups as compared to their respective controls, regardless of the diet that these animals had received. The increase was 92% with the standard diet, 118% with the white rice diet, and 72% with the parboiled rice diet ($P < 0.01$). The comparison of LPO values in the kidneys of diabetic rats treated with the different rice diets showed that consumption of white rice caused higher LPO in this tissue, as the results obtained with this diet were 26% higher than those obtained with the parboiled rice diet ($P < 0.05$).

Antioxidant enzyme activities

The results of antioxidant enzymes SOD, CAT, GPx, GR and GST in the kidneys of diabetic and control rats are shown in Table 4.

SOD activity in diabetic animals fed with white rice fell by 30% as compared to the control group treated with the same diet ($P < 0.05$). The consumption of white rice by the diabetic rats caused a 30% decrease in SOD activity as compared to values obtained in groups treated with standard and parboiled rice diets ($P < 0.05$).

CAT activity was reduced by 25% in diabetic animals as compared to controls under the same experimental conditions ($P < 0.05$). Diabetic rats treated with a parboiled rice diet showed a 25% increase in GPx activity as compared to controls in the same condition ($P < 0.05$). GR activity decreased by 29% ($P < 0.05$) in diabetic rats fed white rice as compared to the control group with the same diet. GST activity did not vary significantly across the different experimental groups.

Non enzymatic antioxidant (Tissue sulphydryl groups)

GSH values were similar in the kidneys of rats in the different control groups ($P > 0.05$). However, these values increased in the diabetic group fed with standard diet and parboiled rice. These increases were 22% and 29%, respectively, as compared to control groups under the same conditions ($P < 0.05$). In diabetic animals treated with white rice, GSH values decreased by 24% as compared to the control group in this condition ($P < 0.05$). Among the groups of diabetic rats, the consumption of standard and parboiled rice diets

caused an increase in the GSH content as compared to treatment with white rice diet ($P < 0.05$) (Table 4).

Discussion

The values of plasma glucose showed the establishment of the condition of diabetes mellitus in rats given a single dose of STZ. These values remained high in all groups of diabetic animals. Diabetic rats also had reduced body weight, increased food intake, and decreased FER ratio (Table 2). These data are similar to those described in the literature^(39,40). It is interesting to note the higher blood glucose levels in animals fed white rice diet (Table 3). According to Mauer *et al.*⁽⁴¹⁾, the hyperglycemic environment of diabetes induces an elevation in creatinine concentration, making this molecule a standard marker of renal dysfunction. Indeed, our results showed an increase in creatinine values in diabetic rats as compared to their respective control groups (Table 3). Similar results were reported by other authors^(21,42-44). Interestingly, none of the diets with different types of rice reduced the plasma creatinine concentration. Because STZ has no nephrotoxic potential⁽⁴⁵⁾, changes in kidney function can be attributed to altered metabolism in diabetes.

Renal hypertrophy is characteristic of the early stages of DN⁽⁴⁶⁾. In our experiment, diabetic animals showed an increase in the ratio of kidney weight and body weight compared to control animals, suggesting renal hypertrophy (Table 2). Previous studies also described the occurrence of renal hypertrophy in this pathological condition^(43,44,47). Our data also show the presence of more pronounced hypertrophy in animals fed white rice as compared to other groups of diabetic rats, i.e., those consuming a standard diet and parboiled rice. The correlation between renal hypertrophy and blood glucose has been demonstrated⁽⁴⁸⁾. Thus, it is likely that the mechanism that prevents renal hypertrophy is dependent on the antihyperglycemic property. In this context, we may suggest that the marked hyperglycemia of diabetic rats fed with white rice may have contributed to the characteristic renal hypertrophy of this group of diabetic rats.

Several studies show that white rice is of little benefit to the health of humans and diabetic and hyperglycemic rats^(49,50). To date there are no studies showing the effects of consumption parboiled of rice on blood glucose levels in rats with diabetes mellitus induced by STZ. Literature data show the effects of consumption of this type of rice in healthy rats. Helbig *et al.*⁽²⁵⁾ found similar results in blood glucose of rats in a state of fasting and

postprandial periods fed on white and parboiled rice. Another study, however, showed that the diet with parboiled rice, differently from white rice, causes decrease in plasma glucose levels⁽⁵¹⁾. Amato and Elias⁽⁵⁾ attach nutritional advantages to parboiled rice over polished white rice, which include increase in minerals, vitamins, and substances with similar action on the fibers, called starch resistant, which have beneficial effects on health and act on the maintenance of blood glucose.

Studies show that diabetes is associated with OS. According to Forbes *et al.*⁽⁵²⁾, there is a number of enzymatic and non-enzymatic sources of ROS in the kidney of diabetic animals, including auto-oxidation of glucose, Fenton reaction catalyzed by transition metals, advanced glycation, flow through polyols, deficiency in mitochondrial respiration chain, xanthine oxidase activity, peroxidases, nitric oxide synthase, and NADPH oxidase. Among ROS are such free radicals as superoxide, hydroxyl and peroxy, and non-radical species, such as H₂O₂.

In rice, the highest antioxidant activity occurs in whole grains and those with red and black pericarp due to the higher concentration of polyphenols⁽⁵³⁾. These substances are associated with vitamins and minerals, which are concentrated in layers covering the endosperm^(9,12,54). It is known that phenolic compounds are affected by high temperatures^(55,56). Thus, in our study we adopted the procedure of cooking both types of rice (parboiled and white) in the polished form, since the majority of studies on rice diets describe the beneficial effects of fractions rich in phenolic compounds, failing to evaluate the properties of the grain as it is really consumed, i.e., preferably polished and cooked. Many studies suggest that the presence of antioxidants in the human diet reduces the risk of chronic diseases, for example, diabetes^(8,57,58). The results of this study show that white rice provides less nutritional quality in the condition of diabetes mellitus, because diabetic animals fed with this type of rice had greater weight loss than those treated with standard diet or parboiled rice. Moreover, white rice caused lower FER than the other diets did, which allows us to infer a smaller contribution to the maintenance of body weight, adequate growth, and good nutritional status of diabetic animals (Table 2).

In this study, the diabetic animals had higher LPO values regardless of the diet, which is in agreement with literature data^(21,47). However, the feeding of diabetic rats with white rice resulted in higher LPO values. This result allows us to infer the relationship between LPO and hyperglycemia, since blood glucose was 34% higher in this group than in the diabetic group treated with parboiled rice. Increased LPO makes the kidneys more susceptible to OS and

generates diabetic complications⁽⁵⁹⁾. According to Kowluru *et al.*⁽⁶⁰⁾, OS is an important mediator in the pathophysiology of DN.

Our data also show that diabetic rats fed with white rice had a 30% reduction in SOD activity (Table 4). Because chronic hyperglycemia is able to increase production of superoxide^(16,18,44), the reduction of SOD activity in diabetic animals treated with white rice could be explained by the increased production of superoxide due to hyperglycemia. The other groups of diabetic rats, despite being hyperglycemic, maintained SOD activity possibly due to the lower elevation in plasma glucose concentration.

In diabetic rats treated with white rice there was also a 25% reduction in CAT activity compared to the control group (Table 4). A similar result was reported by Matés & Sánchez-Jiménez⁽⁶¹⁾, who suggest that in diabetic conditions, high production of H₂O₂ increases LPO and induces a decline in CAT activity. This may be the condition present in our diabetic animals treated with white rice diet. The non-occurrence of a decline in CAT activity in animals fed standard and parboiled rice diets was probably due to the lowest rate of formation of H₂O₂ by SOD, which showed no significant changes in these experimental groups.

GPx activity also increased by 25% in diabetic rats treated with parboiled rice (Table 4). These animals also had an increase of 29% in GSH values. However, there were no significant changes in GR activity. The standard diet caused 22% increase in the values of GSH, but no significant changes to GPx and GR. According to Aldini *et al.*⁽⁶²⁾, GSH is the main intracellular redox component, acting in direct detoxification of ROS, as co-substrate for GPx activity and as cofactor for many enzymes. One study shows that a characteristic of the diabetic state is the presence of damage to the GPx system⁽⁶¹⁾. However, Davì *et al.*⁽⁶³⁾ suggest that increased ROS generation, along with damage to systems of non-enzymatic antioxidants such as vitamin E, vitamin C, and GSH, are characteristic of diabetes mellitus. On the basis of our data, we suggest that increased GPx activity is due to the increase in GSH values, which probably resulted from the consumption of parboiled rice in the diabetic group that received this treatment. This hypothesis stems from the knowledge that the parboiling process leads to the formation of a homogeneous product with a higher content of micronutrients and hardening of the grains, making them more resistant to polishing^(5,64). Since the presence of phenolic compounds is associated with the pericarp, it is possible that the increased resistance of parboiled grains to the removal of this structure during the process of getting the polished grain may have retained some of these compounds, which probably contributed to the antioxidant system but did not prevent the LPO observed in the renal tissue of rats with STZ-induced diabetes. The maintenance of GPx activity and the decreased GR activity and GSH

values in the kidneys of diabetic rats fed with white rice suggest maintenance of the removal of H₂O₂ and organic hydroperoxides, which may have led to higher consumption of GSH and formation of GSSG. With the decrease in GR activity, GSH regeneration was possibly lower, which explains the lower content of GSH. Thus, white rice does not seem to contribute to the maintenance of the antioxidant defense system in diabetic rats. A support to this hypothesis is the reduction in the activity of other antioxidant enzymes (SOD, CAT and GR) and antioxidant GSH in the diabetic group. Probably this decrease in antioxidant systems was the cause of greater LPO. The polishing of rice with brown pericarp to obtain white rice may be the cause of the lower antioxidant protection from this type of rice, since the process involves removing the outer layers of the grain, resulting in white grains, with partial loss of micronutrients such as minerals, vitamins, and phenolic compounds^(5,53,64).

GST activity did not change significantly in the conditions of this study. This enzyme belongs to a group of multifunctional detoxification enzymes, which protect cells against a wide variety of toxic compounds from chemicals, metabolites, and OS⁽⁶⁵⁾. GST catalyzes the conjugation of GSH to a wide variety of electrophiles and is a mechanism to prevent the OS mediated by hyperglycemia⁽⁶⁶⁾. Our results differ from some previously reported data, which show decreased activity of this enzyme in the kidneys of diabetic animals^(47,67). Possibly the maintenance of GST activity is due to the increase of GSH values stimulated by food, mainly parboiled rice, in diabetic rats.

In conclusion, our results show that consumption of either white or parboiled rice does not reduce LPO in the kidneys of rats with diabetes mellitus induced by STZ, which probably resulted from the hyperglycemia present in these animals. Although consumption of parboiled rice did not reduce LPO, it was able to maintain SOD, CAT and GR activities and increase GPx activity, as well as the antioxidant GSH level, while white rice caused inverse response in these oxidative parameters. Thus, consumption of white rice seems to be less effective in the antioxidant protection of the kidney tissue of a diabetic animal. This is possibly due to the removal of substances with antioxidant action in the process of grain polishing. Parboiled rice, which is more resistant to the effects of polishing, maintains its antioxidant activity, which may provide better protection against OS in the renal tissue of diabetic rats.

Acknowledgments

The authors are grateful to the Fipe (UFSM), CAPES and CNPq for providing financial assistance during the tenure of research. They also are grateful to the Colorcon for supplying

cellulose samples and to the Valdequimica for giving them choline bitartrate samples. M. A. P., S. F. L., S. P. K., W. P., A. B-K. and B. B. contributed to the experimental design. I. A. F., E. M. H. S., D. G., G. M. O. and A. P. K. R. carried out the biochemical investigation and treatments. I. A. F also performed all the statistical analysis, interpreted the data and wrote de manuscript. M. A. P. and S. F. L. also contributed to the experimental analysis and interpreted the data. M. A. P., S. F. L. and W.P. edited and wrote the manuscript. M.A.P. submitted the manuscript and following up on such submission. All authors read and approved the findings of the study. There are no conflicts of interest.

References

1. Rossel CM & Marco C (2008) Rice. In *Gluten-Free Cereal Products and Beverages*, 1st ed., pp. 81–96 [EK Arendt and F Dal Bello, editors]. San Diego: Academic Press.
2. Bouis HE, Chassy BM, Ochanda JO (2003) Genetically modified food crops and their contribution to human nutrition and food quality. *Trends in Food Sci and Technol*, **14**, 191–209.
3. Behrens JH, Heinemann RJB, Lanfer-Marquez, UM (2007) Parboiled Rice: a study about attitude, consumer liking and consumption in São Paulo, Brazil. *J Sci of Food Agric*, **87**, 992–999.
4. Heinemann RJB, Behrens JH, Lanfér-Marquéz UM (2006) A study on the acceptability and consumer attitude towards parboiled rice. *Int J of Food Sci and Technol*, **41**, 627–634.
5. Amato GW & Elias MC (2005) *Parboilização do arroz*. Porto Alegre: Ricardo Lenz.
6. Heinemann RJB, Fagundes PL, Pinto EA *et al.* (2005) Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled rice from Brazil. *J Food Compost Anal*, **18**, 287-296.
7. Orthoefer FT & Eastman J (2004) Rice bran and oil. In *Rice. Chemistry and Technology*, pp. 569-593 [ET Champagne, editor]. St. Paul: AACC.
8. Yokoyama W (2004) Nutritional properties of rice and rice bran. In *Rice. Chemistry and Technology*, pp. 595-609 [ET Champagne, editor]. St. Paul: AACC.
9. Goffman F & Bergman CJ (2004) Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. *J Sci Food Agric*, **84**, 1235–1240.
10. Adom KK & Liu RH (2002) Antioxidant activity of grains. *J Agric Food Chem*, **50**, 6182 – 6187.

11. Xia M, Ling WH, Ma J *et al.* (2003) Supplementation of diets with the black rice pigment fraction attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E deficient mice. *J Nutr*, **133**, 744-751.
12. Toyokuni S, Itani T, Morimitsu Y *et al.* (2002) Protective effect of colored rice over white rice on Fenton reaction-based renal lipid peroxidation in rats. *Free Radic Res*, **36**, 583 – 592.
13. Ling WH, Cheng QX, Ma J *et al.* (2001) Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. *J Nut*, **131**, 1421–1426.
14. Evelson P, Susemihl C, Villarreal I *et al.* (2005). Hepatic morfological changes and oxidative stress in chronic streptozotocin-diabetic rats. *Ann Hepat*, **4**, 115-120.
15. Araujo AS, Ribeiro MF, Enzweiler A *et al.* (2006) Myocardial antioxidant enzyme activities and concentration and glutathione metabolism in experimental hyperthyroidism. *Mol Cell Endocrinol*, **249**, 133-139.
16. Brownlee M (2005) The pathobiology of diabetic complications: A unifying mechanism. *Diabetes*, **54**, 1615–1625.
17. Raza H, Prabu SK, Robin MA *et al.* (2004) Elevated mitochondrial cytochrome P450 2E1 and glutathione S-transferase A4-4 in streptozotocin-induced diabetes rats: tissue specific variations and roles in oxidative stress. *Diabetes*, **53**, 185–194.
18. Duckworth WC (2001) Hyperglycemia and cardiovascular disease. *Curr Atheroscler*, **3**, 383–391.
19. Sassy-Prigent C, Heudes D, Mandet C *et al.* (2000) Early glomerular macrophage recruitment in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes*, **49**, 466–475.
20. Yan HD, Li XZ, Xie JM *et al.* (2007) Effects of advanced glycation end products on renal fibrosis and oxidative stress in cultured NRK-49F cells. *Chin Med J*, **120**, 787-793.
21. Sivakumar S, Palsamy P, Subramanian SP (2010) Impact of d-pinitol on the attenuation of proinflammatory cytokines, hyperglycemia-mediated oxidative stress and protection of kidney tissue ultrastructure in streptozotocin-induced diabetic rats. *Chem Biol Interact*, **188**, 237-245.
22. Sharma S, Kulkarni SK, Chopra K (2006) Curcumin, the active principle of turmeric (*Curcuma longa*), ameliorates diabetic nephropathy in rats. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, **33**, 940–945.
23. Melhem MF, Craven PA, Liachenko J *et al.* (2002) Alpha-lipoic acid attenuates hyperglycemia and prevents glomerular mesangial matrix expansion in diabetes. *J Am Soc of Nephrol*, **13**, 108–116.
24. Hahn S, Krieg Jr. RJ, Hisano S *et al.* (1999). Vitamin E suppresses oxidative stress and glomerulosclerosis in rat remnant kidney. *Pediatr Nephrol*, **13**, 195–198.

25. Helbig E, Dias ARG, Tavares RA *et al.* (2008) Arroz parboilizado: efeito na glicemia de ratos Wistar. *Arch Latinoam Nutr*, **58**, 149 – 155.
26. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey JR (1993) AIN-93 purified diets for laboratory rodents: final report of American Institute of Nutrition *ad hoc* writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr*, **123**, 1939 – 1951.
27. Association of Official Analytical Chemists (1995) *Official methods of analysis of AOAC*, 16th ed. Arlington: AOAC International.
28. Melo SS, Arantes MR, Meirelles MS *et al.* (2000) Lipid peroxidation in nicotinamide-deficient and nicotinamide supplemented rats with streptozotocin-induced diabetes. *Acta Diabetol*, **37**, 33-39.
29. Pavanato MA, Marroni NP, Marroni CA *et al.* (2007) Quercetin prevents oxidative stress in cirrhotic rats. *Dig Dis and Sci*, **52**, 2616-2621.
30. Buege JA & Aust SD (1978) Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, **52**, 302–309.
31. Fridovich I (1974) Superoxide and evolution. *Horizons Biochem and Biophys*, **1**, 1–18.
32. Beers Jr. RF & Sizer IW (1952) A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. *J Biol Chem*, **195**, 133–140.
33. Chance B, Sies H, Boveris A (1979) Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiol Rev*, **59**, 527–625.
34. Flohé L & Gunzler WA (1984) Assay of glutathione peroxidase. *Methods Enzymol*, **105**, 114–121.
35. Carlberg I & Mannervick B (1985) Glutathione reductase. *Methods Enzymol*, **113**, 484–499.
36. Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB (1974) The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem*, **249**, 7130–7139.
37. Ellman J (1959) Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem and Biophys*, **82**, 70–77.
38. Bradford MM (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein–dye binding. *Anal Biochem*, **72**, 248–254.
39. Edlund J, Fasching A, Liss P *et al.* (2010) The roles of NADPH-oxidase and nNOS for the increased oxidative stress and the oxygen consumption in the diabetic kidney. *Diabetes Metabol Res Rev*, **26**, 349-356.

40. Sudnikovich EJ, Maksimchik YZ, Zabrodszkaya SV *et al.* (2007) Melatonin attenuates metabolic disorders due to streptozotocin-induced diabetes in rats. *Eur J Pharmacol*, **569**, 180-187.
41. Mauer SM, Steffes MW, Brown DM (1981) The kidney in diabetes. *Am J Med*, **70**, 603–612.
42. Haidara MA, Mikhailidis DP, Rateb MA *et al.* (2009) Evaluation of the effect of oxidative stress and vitamin E supplementation on renal function in rats with streptozotocin-induced type 1 diabetes. *J Diabetes Complications*, **23**, 130–136.
43. Liu I-M, Tzeng T-F, Liou S-S *et al.* (2009) The amelioration of streptozotocin diabetes-induced renal damage by Wu-Ling-San (Hoelen Five Herb Formula), a traditional Chinese prescription. *J Ethnopharmacol*, **124**, 211-218.
44. Liu W-h, Hei Z-q, Nie H *et al.* (2008) Berberine ameliorates renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats by suppression of both oxidative stress and aldose reductase. *Chin Med J*, **121**, 706-712.
45. Chen H, Brahmabhatt S, Gupta A *et al.* (2005) Duration of streptozotocin-induced diabetes differentially affects p38-mitogen-activated protein kinase (MAPK) phosphorylation in renal and vascular dysfunction. *Cardiovasc Diabetol*, **4**, 3.
46. Caramori ML, Kim Y, Huang C *et al.* (2002) Cellular basis of diabetic nephropathy: 1. Study design and renal structural-functional relationships in patients with long-standing type 1 diabetes. *Diabetes*, **51**, 506–513.
47. Manna P, Sinha M, Sil CP (2009) Prophylactic role of arjunolic acid in response to streptozotocin mediated diabetic renal injury: Activation of polyol pathway and oxidative stress responsive signaling cascades. *Chem Biol Interact*, **181**, 297-308.
48. Rasch R (1979) Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. Kidney size and glomerular volume. *Diabetologia*, **16**, 124–128.
49. Panlasigui LN & Thompson LU (2006) Blood glucose lowering effects of brown rice in normal and diabetic subjects. *Int J Food Sci Nutr*, **57**, 151-158.
50. Hagiwara H, Seki T, Ariga T (2004) The effect of pre-germinated brown rice intake on blood glucose and PAI-1 levels in streptozotocin-induced diabetic rats. *Biosci Biotechnol Biochem*, **68**, 444 – 447.
51. Walter M, Silva LP, Perdomo DMX (2005) Resposta biológica de ratos ao amido resistente. *Rev Inst Adolfo Lutz*, **64**, 252 – 257.
52. Forbes JM, Coughlan MT, Cooper ME (2008) Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. *Diabetes*, **57**, 1446-1454.

53. Nam SH, Choi SP, Kang MY *et al.* (2005) Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. *J Agric Food Chem*, **53**, 816 - 822.
54. De Mira NVM, Massaretto IL, Pascual CSCI *et al.* (2009) Comparative study of phenolic compounds in different Brazilian rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. *J Food Compost Anal*, **22**, 405-409.
55. Piga A, Del Caro A, Corda G (2003) From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. *J Agric Food Chem*, **51**, 3675-3681.
56. Larrauri JA, Rupres P, Saura-Calixto F (1997) Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. *J Agric Food Chem*, **45**, 1390-1393.
57. Liu RH (2007) Whole grain phytochemicals and health. *J Cereal Sci*, **46**, 207–219.
58. Yawadio R, Tanimori S, Morita N (2007) Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food Chem*, **101**, 1644–1653.
59. Schrijvers BF & De Vriese AS (2007) Novel insights in the treatment of diabetic nephropathy. *Acta Clin Belg*, **62**, 278–290.
60. Kowluru R, Abbas S, Odenbach S (2004) Reversal of hyperglycemia and diabetic nephropathy: Effect of reinstatement of good metabolic control on oxidative stress in the kidney of diabetic rats. *J Diabetes Complications*, **18**, 282–288.
61. Matés JM & Sánchez-Jiménez F (1999) Antioxidant enzymes and their implications in pathophysiologic processes. *Front Biosc*, **4**, D339–D345.
62. Aldini G, Dalle-Donne I, Facino RM *et al.* (2007) Intervention strategies to inhibit protein carbonylation by lipoxidation-derived reactive carbonyls. *Med Res Rev*, **27**, 817–868.
63. Davì G, Falco A, Patrono C (2005) Lipid peroxidation in diabetes mellitus. *Antioxid Redox Signal*, **7**, 256–268.
64. Juliano BO & Bechtel DB (1985) The rice grain and its gross composition. In *Rice: chemistry and technology*, 2nd ed., pp. 17-57 [BO Juliano, editor]. Minnesota: American Association of Cereal Chemists.
65. Wang G, Zhang L, Li Q (2006) Genetic polymorphisms of GSTT1, GSTM1, and NQO1 genes and diabetes mellitus risk in Chinese population. *Biochem Biophys Res Commun*, **341**, 310–313.

66. Bekris LM, Shephard C, Peterson M *et al.* (2005) Glutathione-s-transferase M1 and T1 polymorphisms and associations with type 1 diabetes age-at-onset. *Autoimmunity*, **38**, 567–575.
67. Andallu B & Varadacharyulu N (2003) Antioxidant role of mulberry (*Morus indica* L.cv. Anantha) leaves in streptozotocin diabetic rats. *Clin Chim Acta*, **338**, 3-10.

Table 1. Composition (g/kg) of the diets.

Component	SD	PR	WR
Cornstarch	541	0	0
White rice flour	0	0	582
Parboiled rice flour	0	582	0
Casein	189	153	151
Sucrose	100	100	100
Soybean oil	70	65	67
Cellulose	50	50	50
Mineral mix (AING-93MX)	35	35	35
Vitamin mix (AING-93VX)	10	10	10
L- cistine	3	3	3
Choline bitartrate	2.5	2.5	2.5
Tert-butylhydroquinone	0.014	0.014	0.014

SD, standard diet; PR, parboiled rice diet; WR, white rice diet.

Table 2. Effects of different diets of rice on body weight, kidney weight, weight gain, food intake and food efficiency ratio of control and diabetic rats fed for 30 d.

(Means values and SED for eight rats per group)

Group	Body wt (g)		Kidney wt (g) (g/100 body wt)		Wt gain (g)		Food intake (g)		FER	
	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED
<i>Control</i>										
SD	361.6	8.6	0.63	0.02	69.4	4.6	18.8	0.6	3.6	0.2
PR	346.8	11.1	0.59	0.03	64.5	12.1	17.2	0.4	3.0	0.1
WR	351.0	11.0	0.65	0.01	66.5	5.2	18.8	0.5	3.6	0.1
<i>Diabetic</i>										
SD	242.3 ^{***}	11.5	1.09 ^{***†}	0.04	-36.1 ^{***†}	9.4	30.5 ^{***}	0.8	-1.3 ^{***†}	0.2
PR	256.7 ^{***}	14.1	1.12 ^{***†}	0.01	-45.2 ^{***†}	9.0	30.3 ^{***}	0.9	-1.5 ^{***†}	0.2
WR	238.2 ^{***}	13.2	1.23 ^{****}	0.03	-84.0 ^{***}	11.4	33.0 ^{***}	0.9	-2.5 ^{***}	0.3

Wt, weight; FER, food efficiency ratio: body weight gain for experimental period (g)/food intake for experimental period (g); SD, standard diet; PR, parboiled rice diet; WR, white rice diet.

Mean values were significantly different from those of the respective control (^{***} $P < 0.001$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test).

Mean values were significantly different from those of the diabetic fed with WR ([†] $P < 0.05$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test).

Table 3. Effects of different diets of rice on plasmatic glucose, cholesterol, triglycerides, and creatinine of control and diabetic rats fed for 30 d.

(Means values and SED for eight rats per group)

Group	Glucose (mmol/l)		Cholesterol (mmol/l)		Triglycerides (mmol/l)		Creatinine (μ mol/l)	
	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED
<i>Control</i>								
SD	5.9	0.3	1.4	0.2	0.43	0.03	45.3	1.4
PR	5.5	0.3	1.3	0.1	0.39	0.04	45.4	1.8
WR	6.0	0.5	1.3	0.1	0.45	0.06	45.4	2.1
<i>Diabetic</i>								
SD	23.6 ^{***} ††	1.4	1.5	0.1	0.49	0.07	52.3 [*]	2.1
PR	21.3 ^{***} ††	1.3	1.4	0.1	0.42	0.03	53.6 [*]	1.5
WR	28.7 ^{***}	1.0	1.4	0.1	0.48	0.07	55.1 [*]	1.7

SD, standard diet; PR, parboiled rice diet; WR, white rice diet.

Mean values were significantly different from those of the respective control (* $P < 0.05$, *** $P < 0.001$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test).

Mean values were significantly different from those of the diabetic fed with WR (†† $P < 0.01$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test).

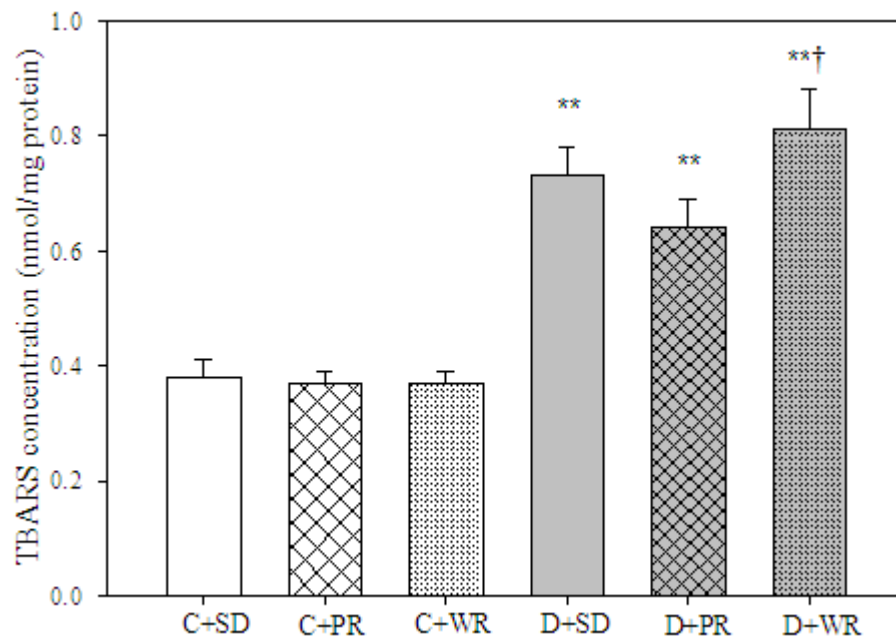


Fig. 1. Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) levels in kidney of control and diabetic rats fed for 30 d. Values are means, with SED represented by vertical bars. **Mean values were significantly different from the respective control group ($P < 0.01$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test). † Mean values were significantly different from the diabetic group fed with parboiled rice diet ($P < 0.05$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test). C, control; SD, standard diet; PR, parboiled rice diet; WR, white rice diet; D, diabetic.

Table 4. Effects of different rice diets on superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and glutathione-S-transferase activities and glutathione levels in kidney of control and diabetic rats fed for 30 d.

(Means values and SED for eight rats per group)

Group	SOD		CAT		GPx		GR		GST		GSH	
	(USOD/mg protein)		(pmol/mg protein)		(μ mol/min/mg protein)		(μ mol/min/mg protein)		(pmol/min/mg protein)		(nmol/mg protein)	
	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED	Mean	SED
Control												
SD	4.8	0.2	2.8	0.2	0.21	0.01	0.064	0.004	2.6	0.1	51.1	2.6
PR	4.2	0.3	2.8	0.2	0.20	0.01	0.062	0.005	2.3	0.2	47.4	2.7
WR	4.4	0.1	2.9	0.2	0.21	0.01	0.065	0.001	2.6	0.1	48.3	2.0
Diabetic												
SD	4.4 †	0.2	2.4	0.2	0.22	0.01	0.054	0.004	2.9	0.2	62.2* †	3.8
PR	4.4 †	0.3	2.8	0.1	0.25*	0.01	0.055	0.003	2.9	0.1	61.2* †	3.4
WR	3.1*	0.4	2.2*	0.1	0.21	0.02	0.046*	0.002	2.9	0.3	36.9*	4.9

SOD, superoxide dismutase; CAT, catalase; GPx, glutathione peroxidase; GR, glutathione reductase; GST, glutathione-S-transferase; GSH, sulfhydryl groups; SD, standard diet; PR, parboiled rice diet; WR, white rice diet.

Mean values were significantly different from those of the respective control (* $P < 0.05$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test).

Mean values were significantly different from those of the diabetic fed with WR († $P < 0.05$, two-way ANOVA followed by the Duncan *post hoc* test).

5 CONCLUSÕES

O consumo das dietas estudadas, de arroz branco e de parboilizado, não foi capaz de reverter o aumento dos níveis plasmáticos de glicose, de creatinina e de impedir a hipertrofia e a LPO do tecido renal de ratos diabéticos. No entanto, o consumo de arroz branco acentuou ainda mais a hiperglicemia, a hipertrofia e a LPO renal em relação aos animais que consumiram o arroz parboilizado. Além disso, o arroz parboilizado melhorou os parâmetros antioxidantes renais, uma vez que manteve a atividade da SOD, CAT e GR e aumentou a GPx e os níveis de GSH. Isso pode ser atribuído ao fato de o arroz parboilizado ser mais resistente ao polimento, devido ao endurecimento do seu endosperma durante o processo de parboilização. Essa resistência pode ter preservado na sua composição alguns antioxidantes que se encontravam nas camadas mais externas do grão. Esse processo não ocorre no beneficiamento do arroz branco, que, então, produziu uma resposta inversa, diminuiu a atividade da SOD, CAT, GR e os níveis de GSH.

Portanto, é possível que a inclusão do arroz parboilizado na alimentação de ratos diabéticos que possuam complicações renais seja mais benéfica e, assim, preferencial a do arroz branco.

6 REFERÊNCIAS

ADA, American Diabetes Association. Nephropathy in diabetes (position statement). **Diabetes care**, v. 27, supp. 1, p. S79-S83, 2004.

ADA, American Diabetes Association. Diagnosis and classification of diabetes mellitus (position statement). **Diabetes Care**, v. 32, supp. 1, p. S62-S67, 2009.

ALMEIDA, J.C. de. et al. Papel dos lipídeos da dieta na nefropatia diabética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 53(5), p. 634-645, 2009.

AMATO, G.W.; CARVALHO, J.L.V.; SILVEIRA, F.S. **Arroz parboilizado: tecnologia limpa, produto nobre**. Porto Alegre: Ricardo Lenz, 2002.

AMATO, G.W.; ELIAS, M.C. **Parboilização do arroz**. Porto Alegre: Ricardo Lenz, 2005.

ASBUN, J.; VILLARREAL, F.J. The pathogenesis of myocardial fibrosis in the setting of diabetic cardiomyopathy. **Journal of American College of Cardiology**, v. 47(4), p. 693-700, 2006.

BAYNES, J.W.; THORPE, S.R. Role of oxidative stress in diabetic complications: a new perspective on an old paradigm. **Diabetes**, v. 48(1), p. 1-9, 1999.

BOUIS, H.E.; CHASSY, B.M.; OCHANDA, J.O. Genetically modified food crops and their contribution to human nutrition and food quality. **Trends in Food Science & Technology**, v. 14(5-8), p. 191-209, 2003.

BROWNLEE, M. The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. **Diabetes**, v. 54(6), p. 1615-1625, 2005.

CARAMORI, M.L. et al. Cellular basis of diabetic nephropathy: 1. Study design and renal structural-functional relationships in patients with long-standing type 1 diabetes. **Diabetes**, v. 51(2), p. 506-513, 2002.

CHANCE, B.; SIES, H.; BOVERIS, A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. **Physiological Reviews**, v. 59(3), p. 527-601, 1979.

COFFMAN, W.R. et al. Rice. In: OLSON, R.A.; FREY, K.J. **Nutritional quality of cereal grains: genetic and agronomic improvement**. Madison: American Society of Agronomy, 1987. p. 101-131.

COOPER, M.E. Pathogenesis, prevention, and treatment of diabetic nephropathy. **The Lancet**, v. 352(9123), p. 213-219, 1998.

COOPER, M.E. Interaction of metabolic and haemodynamic factors in mediating experimental diabetic nephropathy. **Diabetologia**, v. 44(11), p. 1952-1972, 2001.

CÓRDOVA, A. **Fisiologia Dinâmica**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

DELFINO, V.D.A. et al. Diabetes mellitus induzido por estreptozotocina: comparação em longo prazo entre duas vias de administração. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 24(1), p. 31-36, 2002.

DIPLOCK, A.T. et al. Functional food science and defence against reactive oxidative species. **British Journal of Nutrition**, v. 80, supp. 1, p. S77-S112, 1998.

DUNN, J.S.; SHEEHAN, H.L.; MCLETHIE, N.G.B. Necrosis of islets of Langerhans produced experimentally. **The Lancet**, v. 241 (6242), p. 484-487, 1943.

EVANOFF, G. et al. Prolonged dietary protein restriction in diabetic nephropathy. **Archives of Internal Medicine**, v. 149(5), p.1129-1133, 1989.

FACCHINI, F.S.; SAILOR, K.L. A low-iron-available, polyphenol-enriched, carbohydrate-restricted diet to slow progression of diabetic nephropathy. **Diabetes**, v. 52 (5), p. 1204-1209, 2003.

FAO, Food and Agriculture Organization of the United Nations. **Statistical databases**. Disponível em: <<http://www.fao.org>>. Acesso em: 20 abr 2009.

FARIA, J.B.L. Atualização em fisiologia e fisiopatologia: patogênese da nefropatia diabética. **Jornal Brasileiro de Nefrologia**, v. 23(2), p. 121-129, 2001.

FERRARI, C.K.B.; TORRES, E.A.F.S. Biochemical pharmacology of functional foods and prevention of chronic diseases of aging. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 57(5-6), p. 251-260, 2003.

FINOCCHIARO, F. et al. Characterization of antioxidant compounds of red and white rice and changes in total antioxidant capacity during processing. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 51(8), p. 1006-1019, 2007.

FIORETTO, P.; MAUER, M. Histopathology of diabetic nephropathy. **Seminars in Nephrology**, v. 27(2), p. 195-207, 2007.

FORBES, J.M.; FUKAMI, K.; COOPER, M.E. Diabetic nephropathy: where hemodynamics meets metabolism. **Experimental and Clinical Endocrinology & Diabetes**, v. 115(2), p. 69-84, 2007.

FORBES, J.M.; COUGHLAN, M.T.; COOPER, M.E. Oxidative stress as a major culprit in kidney disease in diabetes. **Diabetes**, v. 57(6), p. 1446-1454, 2008.

GÆDE, P. et al. Intensified multifactorial intervention in patients with type 2 diabetes mellitus and microalbuminuria: the Steno type 2 randomised study. **The Lancet**, v. 353(9153), p. 617-622, 1999.

GANDA, O.P.; ROSSI, A.A.; LIKE, A.A. Studies on streptozotocin diabetes. **Diabetes**, v. 25(7), p. 595-603, 1976.

GOFFMAN, F.; BERGMAN, C.J. Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 84(10), p. 1235-1240, 2004.

GROSS, J.L. et al. Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention, and treatment. **Diabetes care**, v. 28(1), p. 165-176, 2005.

GUYTON, A.C.; HALL, J.E. **Tratado de Fisiologia Médica**. 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2003.

HALLIWELL, B. Oxidative stress, nutrition and health. **Free Radical Research**, v. 25(1), p. 57-74, 1996.

HALLIWELL, B. Antioxidant characterization. Methodology and mechanism. **Biochemical Pharmacology**, v. 49(10), p. 1341-1348, 1995.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C. **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3rd ed. New York: Oxford University Press, 1999.

HEALTH CANADA. Final Policy Paper on Nutraceuticals/Functional Foods and Health Claims on Foods, 1998. Disponível em: <http://www.hc-sc.gc.ca/food-aliment/ns-cs/nen/health_claims-alegations_sante/e_nutra-funct_foods.html>. Acesso em: 2 dez 2010.

HEINEMANN, R.J.B. et al. Comparative study of nutrient composition of commercial brown, parboiled and milled from Brazil. **Journal of Food Composition and Analysis**, vol. 18(4), p. 287-296, 2005.

HEINEMANN, R.J.B. et al. A study on the acceptability and consumer attitude towards parboiled rice. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 41(6), p. 627-634, 2006.

HERRMANN, S.M.; TROIS, L.; POHL, D. Alimentos funcionais. In: MARRONI, N. P. (Org.) **Estresse oxidativo e inflamação: dos modelos experimentais à clínica**. Canoas: ULBRA, 2008. p. 243-259.

IRRI, International Rice Research Institute. Rice supply/utilization balances, by country and geographical region, selected years. Table 17. Disponível em: <<http://www.irri.org/science/ricestat/pdfs/Table%2017.pdf>>. Acesso em: 10 mai 2009.

JEW, S. et al. Evolution of the human diet: linking our ancestral diet to modern functional foods as a means of chronic disease prevention. **Journal of Medicinal Food**, v. 12(5), p. 925-934, 2009.

JULIANO, B.O.; BECHTEL, D.B. The rice grain and its gross composition. In: JULIANO, B.O. (Ed.). **Rice: chemistry and technology**, 2nd ed. Minnesota: American Association of Cereal Chemists, 1985. pp. 17-57.

JULIANO, B.O. **Rice in human nutrition**. Rome: FAO, 1993. Online. Disponível em <<http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/t0567e/t0567e00.htm/>>. Acesso em: 15 mai 2009.

JUNOD, A. et al. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 48(11), p. 2129-39, 1969.

KIRSTEN, M. et al. Receptor-specific induction of insulin-like growth factor I in human monocytes by advanced glycosylation end-product-modified proteins. **The Journal of Clinical Investigation**, v. 90(2), p.439-446, 1992.

KIM, J.Y.; DO, M.H.; SANG, S.L. The effects of brown and black rice on lipid profiles and antioxidant status in rats. **Annals of Nutrition & Metabolism**, v.50(4), p. 347-353, 2006.

KYLLO, C.J.; NUTTAL, F.Q. Prevalence of diabetes mellitus in school-age children in Minnesota. **Diabetes**, v. 27(1), p. 57-60, 1978.

LARRAURI, J.A.; RUPRES, P.; SAURA-CALIXTO, F. Effect of drying temperature on the stability of polyphenols and antioxidant activity of red grape pomace peels. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 45(4), p. 1390-1393, 1997.

LARSEN, H.N. et al. Influence of parboiling and physico-chemical characteristics of rice on the glycaemic index in non-insulin-dependent diabetic subjects. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 50(1), p. 22-27, 1996.

LEEHEY, D.J. et al. Effect of high glucose on superoxide in human mesangial cells: role of angiotensin II. **Experimental Nephrology**, v. 100(1), p. 46-53, 2005.

LEMONS, M.R.B.; SOARES, L.A.S. Farelo de arroz: um subproduto em estudo. **Óleos & Grãos**, v. 7(51), p. 40-48, 1999.

LERCO, M.M. et al. Caracterização de um modelo experimental de diabetes mellitus induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 18(2), p.132-142, 2003.

LIU, Z.H. et al. Positional variations in phytic acid and protein content within a panicle of japonica rice. **Journal of Cereal Science**, v. 41(3), p. 297-303, 2005.

MALERBI, D.A.; FRANCO, L.J. Multicenter study of the prevalence of diabetes mellitus and impaired glucose tolerance in the urban Brazilian population aged 30-69 yr. The Brazilian Cooperative Group on the Study of Diabetes Prevalence. **Diabetes Care**, v. 15(11), p. 1509-1516, 1992.

MARITIM, A.C.; SANDERS, R.A.; WATKINS, J.B. Diabetes, Oxidative Stress, and Antioxidants: A Review. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 17(1), p. 24-38, 2003.

MATSUO, T. et al. **Science of the rice plant**. Tokyo: Food and Agriculture Policy Research Center, 1995.

MEHTA, J.L. et al. Oxidative stress in diabetes: a mechanistic overview of its effects on atherogenesis and myocardial dysfunction. **The International Journal of Biochemistry and Cell Biology**, v. 38(5-6), p. 794-803, 2006.

MELLO, V.D. Papel da dieta como fator de risco e progressão da nefropatia diabética. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, v. 49(4), p. 485-494, 2005.

MELONI, C. et al. Severe dietary protein restriction in overt diabetic nephropathy: benefits or risks? **Journal of Renal Nutrition**, v. 12(2), p. 96-101, 2002.

MORAES, S.A. de. et al. Prevalência de diabetes mellitus e identificação de fatores associados em adultos residentes em área urbana de Ribeirão Preto, São Paulo, Brasil, 2006: Projeto OBEDIARP. **Cadernos de Saúde Pública**, v. 26(5), p. 929-941, 2010.

NAM, S.H. et al. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, vol. 53(3), p. 816-822, 2005.

NISHIKAWA, T. et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. **Nature**, v. 404(6779), p. 787-790, 2000.

OHARA, A. **Radicais Livres: Bons, Maus e Naturais**. São Paulo: Oficina de Textos, 2006.

PARVIN, S. et al. Effects of parboiling and physico-chemical characteristics of rice on the glycemic and insulinemic indices in type 2 diabetic subjects. **Ibrahim Medical College Journal**, v. 2(1), p. 12-16, 2008.

PERKINS, B.A. et al. Regression of microalbuminuria in type 1 diabetes. **The New England Journal of Medicine**, v. 348(23), p. 2285-2293, 2003.

PIGA, A.; DEL CARO, A.; CORDA, G. From plums to prunes: influence of drying parameters on polyphenols and antioxidant activity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 51(12), p. 3675-3681, 2003.

PIJLS, L.T.J. et al. Protein restriction, glomerular filtration rate and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus: a randomized trial. **European Journal of Clinical Nutrition**, v. 56(12), p. 1200-1207, 2002.

PORTH, C.A. et al. **Fisiopatologia**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

QURESHI, A.A., SAMI, S.A., KHAN, F.A. Effect of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus types I and II. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, vol. 13(3), p. 175-187, 2002.

RASCH, R. Prevention of diabetic glomerulopathy in streptozotocin diabetic rats by insulin treatment. Kidney size and glomerular volume. **Diabetologia**, v. 16(2), p. 125-128, 1979.

ROSENBLOOM, A.L. et al. Emerging epidemic of type 2 diabetes in youth. **Diabetes Care**, v. 22(2), p. 345-354, 1999.

ROSSEL, C.M.; MARCO, C. Rice. In: ARENDT, E.K.; DAL BELLO, F. (Ed.). **Gluten-Free Cereal Products and Beverages**. 1st ed. San Diego: Academic Press, 2008. p. 81-96.

RUDKOWSKA, I. Functional foods for health: focus on diabetes. **Maturitas**, v. 62(3), p. 263-269, 2009.

SAGUM, R.; ARCOT, J. Effect of domestic processing 23 methods on the starch, non-starch polysaccharides and in vitro starch and protein digestibility of three varieties of rice with varying levels of amylose. **Food Chemistry**, v. 70(1), p. 107-111, 2000.

SASSY-PRIGENT, C. et al. Early glomerular macrophage recruitment in streptozotocin-induced diabetic rats. **Diabetes**, v. 49(3), p. 466-475, 2000.

SCHWARTZ, G.J; FURTH, S.L. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. **Pediatric Nephrology**, v. 22(11), p. 1839-1848, 2007.

SCIVITTARO, V.; GANZ, M.B.; WEISS, M.F. AGEs induce oxidative stress and activate protein kinase C- β II in neonatal mesangial cells. **American Journal of Physiology-Renal Physiology**, 278(4), F676-F683, 2000.

SHAH, S.V. et al. Oxidants in Chronic kidney disease. **Journal of American Society of Physiology**, v. 18(1), p. 16-18, 2007.

SHEN, Y. et al. Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. **Journal of Cereal Science**, v. 49(1), p. 106-111, 2009.

SIES, H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. **American Journal of Medicine**, v. 91(3C), p. 31S-38S, 1991.

SIES, H. Strategies of antioxidant defence. **European Journal of Biochemistry**, v. 215(2), p. 213-219, 1993.

SINGH, S.; KALIA, M.; MALHOTRA, S.R. Effect of parboiling, hand-pounding and machine-milling on chemical composition of rice. **Journal of Food Science and Technology**, v. 36(5), p. 434-435, 1999.

SOULIS-LIPAROTA, T. et al. Retardation by aminoguanidine of development of albuminuria, mesangial expansion, and tissue fluorescence in streptozotocin-induced diabetic rat. **Diabetes**, v. 40(10), p. 1328-1334, 1991.

STORCK, C.R.; SILVA, L.P.da.; COMARELLA, C.G. Influência do processamento na composição nutricional de grãos de arroz. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 16(3), p. 259-264, 2005.

VERSCHUREN, P.M. Functional foods: scientific and global perspectives. **British Journal of Nutrition**, v. 88, suppl. 2, p. S125-S130, 2002.

VLASSARA, H. et al. Cachectin/TNF and IL-1 induced by glucose modified proteins: role in normal tissue remodelling. **Science**, v. 240(4858), p. 1546-1548, 1988.

VORA, J.P.; ANDERSON, S.; BRENNER, B.M. Pathogenesis of diabetic glomerulopathy: the role of glomerular hemodynamic factors. In: MOGENSEN, C.E. (Ed.) **The kidney and hypertension in diabetes mellitus**. 2nd ed. Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1994.

WALTER, M.; SILVA, L.P.; PERDOMO, D.M.X. Resposta biológica de ratos ao amido resistente. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, vol. 64(2), p. 252-257, 2005.

WALTER, M.; MARCHEZAN, E.; AVILA, L.A. Arroz: composição e características nutricionais. **Ciência Rural**, vol. 38(4), p. 1184-1192, 2008.

WALTER, M. **Composição química e propriedades antioxidantes de grãos de arroz com pericarpo marrom-claro, vermelho e preto**. 2009. 119f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2009.

WEISBURGUER, J.H. Mechanisms of action of antioxidants as exemplified in vegetables, tomatoes and tea. **Food and Chemical Toxicology**, vol. 37(9-10), p. 943–948, 1999.

WHO, World Health Organization. **Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus** (report of a WHO Consultation). Geneva: World Health Organization, 1999.

WHO, World Health Organization. **Definition and diagnosis of diabetes mellitus and intermediate hyperglycemia** (report of a WHO/IDF consultation). Geneva: World Health Organization, 2006.

WIDMAIER, E.P.; RAFF, H.; STRANG, K.T. **Fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais**. 9. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

WILD, S.; ROGLIC, G.; GREEN, A. Global prevalence of diabetes. **Diabetes care**, v. 27(5), p. 1047-1053, 2004.

XIA, M. et al. Supplementation of diets with the black rice pigment fraction attenuates atherosclerotic plaque formation in apolipoprotein E deficient mice. **The Journal of Nutrition**, 133(3), p. 744-751, 2003.

YAWADIO, R.; TANIMORI, S.; MORITA, N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. **Food Chemistry**, v. 101(4), p. 1644-1653, 2007.

YOKOYAMA, W. Nutritional properties of rice and rice bran. In: CHAMPAGNE, E.T. (Ed.). **Rice. Chemistry and Technology**. St. Paul: AACC, 2004. p. 595-609.

ZHANG, P.; OMAYE, S.T. β -Carotene: interactions with atocopherol and ascorbic acid in microsomal lipid peroxidation. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 12(1), p. 38-45, 2001.