



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

EFEITO DO EXTRATO AQUOSO DE HANDROANTHUS HEPTAPHYLLUS (MART.) MATTOS NA GLICEMIA DE RATOS WISTAR DIABÉTICOS INDUZIDO POR ALOXANO¹

Bethânia Salamoni², Maciel Alencar Bruxel³, Pauline Brendler Goettems⁴, Roberta Marques⁵, Mirna Stela Ludwig⁶, Thiago Gomes Heck⁷.

¹ Pesquisa Institucional desenvolvida parte como Atividade Científica e parte como Monografia de Conclusão do Curso de Graduação em Farmácia, no Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI, pertencente ao Grupo de Pesquisa em Fisiologia – GPeF

² Estudante do Curso de Farmácia do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI

³ Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI

⁴ Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI

⁵ Estudante do Curso de Ciências Biológicas do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI

⁶ Professora do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI

⁷ Professor do Departamento de Ciências da Vida – DCVida da UNIJUI

Resumo

A utilização de plantas medicinais para o tratamento de doenças crônicas como o diabetes *mellitus* é uma prática na medicina popular. A *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos pertence à família botânica Bignoniaceae e é utilizada empiricamente para o tratamento do diabetes *mellitus*. O objetivo deste estudo foi verificar e avaliar o efeito do extrato aquoso de *H. heptaphyllus* sobre os níveis glicêmicos em ratos Wistar diabéticos, induzido por Aloxano monohidrato 150mg/Kg. Foram utilizados 32 ratos Wistar, distribuídos de forma aleatória em quatro grupos, destes, dois diabéticos (DDT e DNT) e dois não diabéticos (NDDT e NDNT). O extrato aquoso da planta foi preparado e administrado diariamente, por via oral, durante o período de 32 dias, nos animais dos grupos NDDT e DDT. Ao término do experimento os animais foram sacrificados por decapitação para coleta do plasma e tecidos. Os animais dos grupos diabéticos apresentaram níveis glicêmicos médios >200mg/dL, em virtude da indução do diabetes *mellitus* pelo Aloxano, os quais não diferiram de modo significativo entre os animais dos grupos de diabéticos tratados (DDT) e não tratados (DNT) com o extrato aquoso, durante o tratamento, exceto na última semana, onde se observa uma redução da glicemia média dos animais do grupo DDT em relação aos animais do grupo DNT, indicando, portanto, uma ação tardia do extrato aquoso de *H. heptaphyllus* e apontando para a necessidade de ampliação do período de tratamento. O extrato aquoso de *H. heptaphyllus* promove o declínio da glicemia dos animais diabéticos na quarta semana de tratamento não produz alterações na reposta dos animais quando submetidos ao teste de tolerância a glicose, neste modelo experimental utilizado.

Palavras-chave: Diabetes *mellitus*; hiperglicemia; plantas medicinais.



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

Introdução

O uso de plantas para fins medicinais vem desde as civilizações mais antigas e constitui um vasto campo de pesquisa fornecendo, inclusive, subsídios para gerar mudanças na sistematização da assistência e do ensino da saúde, na busca por tratamentos alternativos e de baixo custo para população (SIMÕES, 1999; GONÇALVES *et al.*, 2006). No intuito de estabelecer diretrizes para a atuação do governo nesta área, elaborou-se a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos, garantindo o acesso seguro e o uso racional pela população brasileira (BRASIL, 2006b).

Os fitoterápicos são uma opção terapêutica benéfica à população para o tratamento alternativo ou coadjuvante de doenças crônicas como diabetes *mellitus* (DM). Neste sentido inúmeros estudos já foram realizados e tantos outros ainda estão em desenvolvimento na perspectiva de validar o potencial terapêutico de plantas no tratamento desta doença. No Brasil, muitas espécies vegetais são utilizadas na medicina popular com o objetivo de diminuir a glicemia, entre as quais a *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos (sinônimo de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo) (GROSE e OLMSTEAD, 2007; MORI, 2010). Simões *et al.*, (1998) registram também o uso desta espécie no tratamento de outras doenças, com finalidade antineoplásica, anti-reumática, anti-fúngica entre outras.

A *H. heptaphyllus* (ipê-roxo) pertence à família botânica Bignoniaceae, sendo utilizada empiricamente para o tratamento de DM (LORENZI, MATOS, 2008; SIMÕES *et al.*, 1998), usada popularmente como regulador da glicemia (NETO, MORAIS, 2003).

Estudos fitoquímicos indicam que o principal princípio ativo do ipê-roxo é a naftoquinona Lapachol, com propriedades oxidativa e citotóxica (SIMÕES *et al.*, 1998) e o flavonóide quercetina, com propriedade antioxidante (LOPES *et al.*, 2003).

O DM tipo 1 constitui um dos problemas de saúde pública mais importantes da atualidade (BRASIL, 2003) compreendendo cerca de 10% dos casos de diabetes (BRASIL, 2006a). Sua principal característica é o quadro hiperglicêmico decorrente da destruição das células β pancreáticas e consequente deficiência insulínica (GROSS *et al.*, 2002). A hiperglicemia produz sintomas como polifagia, polidipsia, poliúria e, se não controlada, pode provocar deficiência visual, renal e vascular, bem como facilitar o infarto do miocárdio (BRASIL, 2003; CARPINELLI, 2009). O tratamento, a partir do diagnóstico da doença, pode prevenir as complicações de hiperglicemia e hipoglicemia, com um mínimo de perturbações no estilo de vida (FARREL, NICOTERRI, 2005).

Na perspectiva de contribuir nos estudos relativos ao uso de plantas medicinais para o tratamento de doenças crônicas, diante do reduzido número de estudos comprovando a eficácia e segurança da utilização do extrato aquoso da planta *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos no controle da glicemia e na perspectiva de colaborar no acesso seguro e uso racional desta planta pela população, realizou-se este trabalho de pesquisa no qual buscou-se investigar o efeito do extrato aquoso do ipê-roxo sobre a taxa de glicose sanguínea em animais diabéticos induzidos por Aloxano.

Metodologia

Coleta da planta: As entrecascas de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos foram coletadas em abril/2011, no campus da UNIJUI – Universidade Regional do Noroeste do





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

Estado do Rio Grande do Sul, Ijuí – RS, secas a temperatura ambiente em estufa de secagem, fragmentadas em processador e acondicionadas em recipiente fechado protegido da luz.

Animais: Foram utilizados 32 ratos da linhagem Wistar provenientes do Biotério da UNIJUI, com idade de 2,5 meses e peso individual aproximado de 300g, mantidos em gaiolas semi-metabólicas forradas com maravalha, em ambiente com temperatura controlada ($22\pm 2^{\circ}\text{C}$), umidade relativa do ar entre 50% e 60% e iluminação artificial, com ciclos de 12/12 horas de claro/escuro. Os animais receberam ração padronizada (Nuvilab CR-1) 22% de proteína e água *ad libitum*, cujo consumo foi controlado durante o período do estudo. O peso corporal dos animais foi monitorado semanalmente com o intuito de corrigir o volume de extrato aquoso administrado.

Modelo experimental: O diabetes *mellitus* foi induzido em 26 animais através da administração de Aloxano monohidrato (Sigma), por via intraperitoneal (IP), na dose de 150mg/Kg após 12 horas de jejum (SRINIVASAN, RAMARAO, 2007). A droga foi solubilizada em solução de HCl 0,01N, pH 2,0 em temperatura $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ (PATTERSON *et al.*, 1948) e diluída em solução de PBS, pH 7,4, em temperatura $5\pm 2^{\circ}\text{C}$. Após 72 horas da indução do diabetes, verificou-se a glicemia sendo considerados diabéticos os animais que apresentavam níveis glicêmicos $\geq 200\text{mg/dL}$. A glicemia foi monitorada três vezes por semana, aferida com Glicosímetro Optium Xceed, em punção da parte distal da cauda dos ratos após jejum de 12 horas. Dos 26 animais nos quais foi induzido diabetes, 12 puderam ser utilizados para o tratamento com o extrato aquoso, sendo que os demais não apresentaram ou reverteram o quadro hiperglicêmico, ou morreram antes do início do tratamento.

Grupos experimentais: Os 18 animais que efetivamente participaram do estudo foram distribuídos nos seguintes grupos experimentais:

Tabela 1. Caracterização dos grupos.

	NDNT Não Diabético Não Tratado	NDDT Não Diabético Dose Terapêutica	DNT Diabético Não Tratado	DDT Diabético Dose Terapêutica
Ratos (s)	n=3	n=3	n=6	n=6
Tratamento	Água	Extrato aquoso	Água	Extrato aquoso
Concentração	-	150mg/Kg	-	150mg/Kg

Tratamento com extrato aquoso: O tratamento foi desenvolvido baseado no estudo piloto e nos estudos de Peglow, Velloso (2002). Calculou-se o valor da dose humana correspondente ao peso do animal, utilizando-se como dose terapêutica o valor aproximado de 150mg/Kg. As entrecasas de *H. heptaphyllus* foram submetidas ao processo de decocção por 5 minutos. Realizou-se este método de preparação do extrato devido a sua larga utilização pela população. O extrato foi preparado diariamente durante 32 dias e administrado imediatamente após o preparo.

Teste de Tolerância a Glicose (GTT): Os animais foram mantidos em jejum de 12 horas, ao final do qual se realizou a verificação da glicemia no tempo zero (T=0). A seguir, injetou-se solução de glicose a 80%, via IP, na dose de 1g/Kg. Após, realizou-se verificações sucessivas da glicemia nos tempos 30, 60, 90 e 120 minutos.



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

Análise Estatística: Utilizou-se o programa Statistical Package for the Social Sciences – 18 (SPSS). Os resultados, expressos como médias ± erro padrão, foram analisados por Análise de Variância (ANOVA), seguidos por teste t de Student para comparação entre os grupos, considerando nível de significância estatística o limite de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

A indução do DM neste modelo experimental de estudo, realizado através da administração de Aloxano via IP na dose de 150mg/Kg, provocou elevação significativa na concentração de glicose sanguínea com níveis glicêmicos superiores a 200mg/dL.

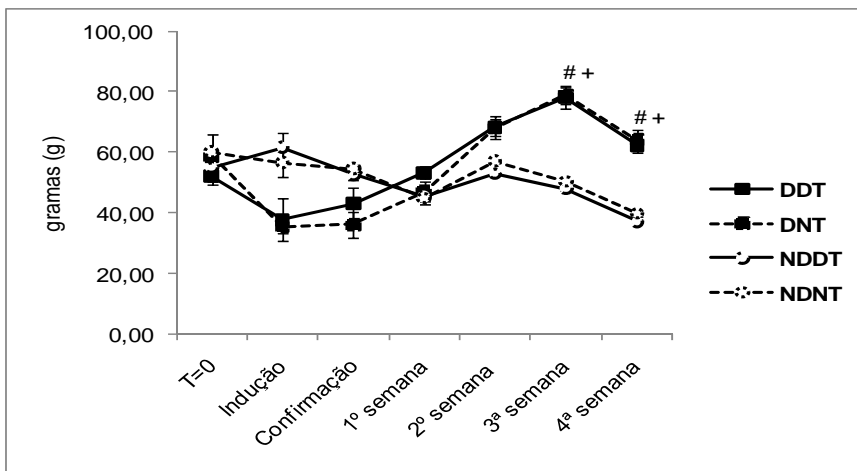


Figura 1. Média da ingestão alimentar durante o período do estudo.

diferença significativa ($p < 0,05$) entre DDT e NDNT nos respectivos pontos; + diferença significativa ($p < 0,05$) entre DNT e NDNT nos respectivos pontos.

Os dados apresentados na Figura 1 mostram que, após o período de confirmação da glicemia em níveis superiores a 200mg/dL, os ratos diabéticos (DNT e DDT) apresentaram um maior consumo de ração do que os ratos não diabéticos (NDNT e NDDT), sendo esta diferença significativa ($p < 0,05$) na terceira e quarta semana de tratamento. A polifagia é característica da condição de diabetes *mellitus*, em virtude que o centro da saciedade de animais diabéticos não é devidamente ativado, em consequência da ação deficiente da insulina nessa área (CARPINELLI, 2009).

Quanto ao consumo de água é possível identificar uma diferença significativa ($p < 0,01$) no volume ingerido pelos animais diabéticos (DNT e DDT) em relação aos não diabéticos (NDNT e NDDT), após a confirmação do quadro de hiperglicemia (Figura 2), caracterizando a polidipsia nos animais doentes. Devido a hiperglicemia, a carga filtrada de glicose nos glomérulos renais aumenta e supera a capacidade de reabsorção tubular deste nutriente, causando a glicosúria e poliúria (LERCO *et al.*, 2003; WIDMAIER *et al.*, 2006; CARPINELLI, 2009). Porém ao compararmos o consumo de água pelos animais saudáveis dos grupos NDNT e NDDT, observa-se um menor consumo de água pelos animais tratados com o extrato aquoso com diferença significativa na segunda semana ($p < 0,01$) e altamente

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

significativa na terceira semana ($p < 0,001$) após o início do tratamento, sugerindo influência desta terapêutica no mecanismo da sede ou na reabsorção renal de água.

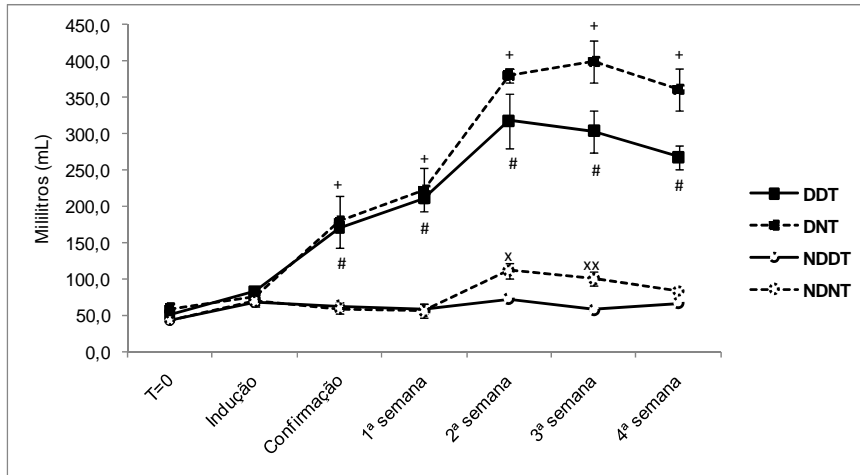


Figura 2. Média da ingestão hídrica (mL/semana) durante o período do estudo.

diferença significativa ($p < 0,01$) entre DDT e NDDT nos respectivos pontos; + diferença significativa ($p < 0,01$) entre DNT e NDNT nos respectivos pontos; x diferença significativa ($p < 0,01$) entre NDNT e NDDT no respectivo ponto; xx diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre NDNT e NDDT no respectivo ponto.

Em relação ao peso dos animais, observa-se diferença significativa ($p < 0,01$) entre os animais diabéticos ($251,6 \pm 2,8g$) comparados com animais não diabéticos ($342,2 \pm 7,7g$). Durante o experimento, ocorreu uma redução brusca de peso corporal nos animais diabéticos, concomitantemente a um aumento na ingestão de água e no consumo de ração, o que difere dos animais não diabéticos que apresentaram ganho progressivo de peso. O emagrecimento dos animais diabéticos (DNT e DDT) pode ter sido causado pela diurese osmótica e também devido à degradação lipídica característica do quadro de DM (WIDMAIER *et al.*, 2006; LEME *et al.*, 2010; CARPINELLI, 2009). Em relação aos animais saudáveis (NDDT e NDNT) não houve alteração significativa no peso dos animais ao longo do período de tratamento com o extrato aquoso da planta.

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

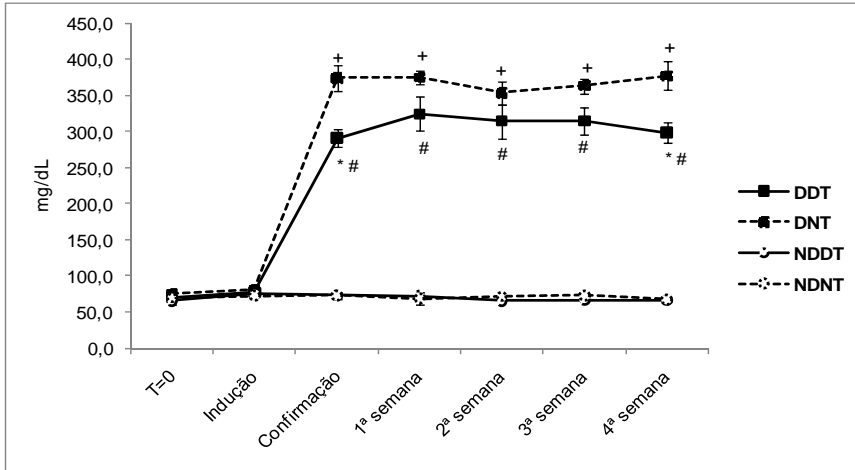


Figura 3. Médias da glicemia (mg/dL) durante o período do estudo.
 # diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre DDT e NDDT nos respectivos pontos; + diferença altamente significativa ($p < 0,001$) entre DNT e NDNT nos respectivos pontos; * diferença significativa ($p < 0,05$) entre DDT e DNT no respectivo ponto.

Quanto aos valores de glicemia dos animais utilizados no estudo salienta-se que todos apresentaram níveis glicêmicos normais para a espécie, com média de $70 \pm 4,2$ mg/dL no início do estudo (T=0 da Figura 3). Nota-se, entretanto que, após a indução do diabetes ocorre diferença altamente significativa ($p < 0,001$) neste parâmetro entre os animais dos grupos diabéticos (DNT e DDT) e os animais sadios (NDNT e NDDT), caracterizando a hiperglicemia induzida pelo Aloxano.

Ao analisar o efeito do extrato aquoso de *H. heptaphyllus* sobre os níveis de glicemia nos animais diabéticos observa-se que houve diferença significativa ($p < 0,05$) para este parâmetro entre os animais dos grupos DNT e DDT na quarta semana de tratamento. A média da glicemia dos animais diabéticos tratados com o extrato aquoso declina e difere de modo significativo em relação à glicemia dos animais diabéticos não tratados, indicando uma ação tardia deste extrato, visto que em nosso estudo a planta parece começar a desempenhar alguma propriedade redutora da glicemia após a terceira semana de tratamento. Contudo, estes resultados apontam para a necessidade de ampliação do período de tratamento para se obter análises mais conclusivas em relação ao efeito do extrato aquoso de *H. heptaphyllus* e sugerem cautela na sua utilização como tratamento do diabetes *mellitus*.

Ao finalizar o período de 32 dias de tratamento, realizou-se o Teste de Tolerância a Glicose (GTT), que tem como objetivo avaliar a resistência à insulina (CARPINELLI, 2009).

Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

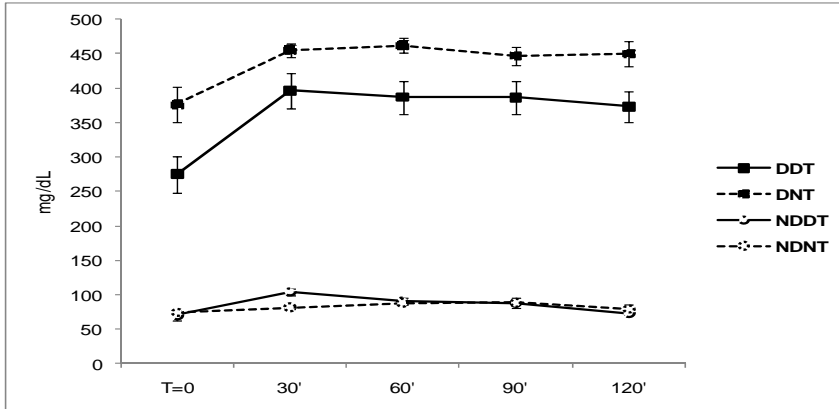


Figura 4. Curvas do Teste de Tolerância a Glicose (GTT) no período de 120 minutos.

Os animais diabéticos apresentam um pico hiperglicêmico 30 minutos após administração da solução de glicose. Este quadro hiperglicêmico se mantém durante o período do teste (Figura 4), ou seja, 120 minutos, e não difere entre os grupos DDT e DNT, caracterizando a condição de intolerância a glicose causada pela deficiência insulínica (DERIVI *et al.*, 2002; CARPINELLI 2009), apontando para a ineficácia do tratamento para esta condição. Nos animais saudáveis a resposta a injeção de glicose é normal, ou seja, o pico hiperglicêmico 30 minutos é revertido com declínio deste parâmetro a níveis normoglicêmicos após 120 minutos.

Conclusões

O extrato aquoso de *H. heptaphyllus* promove o declínio da glicemia dos animais diabéticos na quarta semana de tratamento, porém não produz alterações na resposta dos animais quando submetidos ao teste de tolerância a glicose, no modelo experimental utilizado.

Agradecimentos

Agradecimento a UNIJUI pela infra-estrutura do Laboratório de Pesquisa em Fisiologia e ao Laboratório de Fisiologia Celular (FISCEL) da UFRGS pelo apoio na aquisição de material de consumo.

Referências

BRASIL, Sociedade Brasileira de Diabetes. **Consenso brasileiro sobre diabetes 2002: diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2.** Rio de Janeiro: Diagraphic, 73p. 2003.

BRASIL. Ministério da Saúde. **Cadernos de Atenção Básica: Diabetes Mellitus.** Departamento de Atenção Básica - Brasília: Ministério da Saúde, 56p. 2006a.

BRASIL, Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Assistência Farmacêutica. **Política nacional de plantas medicinais e fitoterápicos** – Brasília: Ministério da Saúde, 60p. 2006b.



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica

CARPINELLI, A.R. Pâncreas Endócrino. In: CURI, R.; PROCOPIO, J. **Fisiologia Básica**. Edição 1. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 765-777, 2009.

DERIVI, S. C. N.; MENDEZ, M. H. M.; FRANCSONI, A. D.; SILVA, C. S.; CASTRO, A. F.; LUZ, D. P. Efeito hipoglicêmico de rações à base de berinjela (*Solanum melongena* L.) em ratos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v.22, n.2, p.164-169, maio/ago. 2002.

FARREL, M. L.; NICOTERRI, J. A. L. **Nutrição em enfermagem: fundamento para uma dieta adequada**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005.

GONÇALVES, M. C. R.; DINIZ, M. de F. F. M.; BORBA, J. D. C.; NUNES, X. P.; BARBOSA-FILHO, J. M. Berinjela (*Solanum melongena* L.) – mito ou realidade no combate às dislipidemias? **Revista Brasileira de farmacognosia**, v.16, n.2, p. 252-257, abr./jun. 2006.

GROSE, S. O.; OLMSTEAD, R. G. Taxonomic Revisions in the Polyphyletic Genus *Tabebuia* s. l. (Bignoniaceae). **Systematic Botany**, v. 32, n. 3, pp. 660–670, 2007.

GROSS, J. L.; SILVEIRO, S. P.; CAMARGO, J. L.; REICHEL, A. J.; AZEVEDO, M. de. Diabetes Mellito: Diagnóstico, Classificação e Avaliação do Controle Glicêmico. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v.46, n.1, p.16-26, fev. 2002.

KRAHN, C.L.; BRAGA, A.; ZIMMER, A.R.; ARAÚJO, B.V. Avaliação do efeito da casca desidratada do maracujá (*Passiflora edulis*) e seu extrato aquoso na redução da glicemia em ratos diabéticos induzidos por aloxano. **Revista Brasileira de Farmacologia**, v.89, n.1, p.32-34, 2008.

LEME, J.A.C.A.; CASTELLAR, A.; REMEDIO, R.N.; BARBOSA, R.A.; MOURA, L.P.; DALIA, R.A.; GOMES, R.J.; CAETANO, F.H.; MELLO, M.A.R.; LUCIANO, E. Efeitos em curto prazo da aplicação de aloxana para indução de diabetes em ratos wistar. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.26, n.3, p.451-456, maio/jun. 2010.

LERCO, M.M.; SPADELLA, C.T.; MACHADO, J.L.M.; SCHELLINI, S.A.; PADOVANI, C.R. Caracterização de um modelo experimental de *Diabetes mellitus*, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v.18, n.2, p.132-142, mar./abr. 2003.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas Medicinais no Brasil: Nativas e Exóticas**. Edição 2. Nova Odessa, SP: Insituito Plantarum, 544p., 2008.

MORI, N. T. **Variabilidade Genética entre e dentro de Subpopulações de Ipê-Roxo *Handroanthus Heptaphyllus* (Vell.) Mattos e seu Sistema Reprodutivo**. Dissertação



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico
Evento: 2011 SIC - XIX Seminário de Iniciação Científica (Mestrado), Universidade estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrônômicas Botucatu, 57f., 2010.

LOPES R.M.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM E.J.; PINTO A.S. Flavonóides. **Biociência & Desenvolvimento**, vol.3, n.17, p.18-22. 2003.

NETO, G. G.; MORAIS R. G. Recursos medicinais de espécies do cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. **Acta Botanica Brasílica**, v.17, n.4, p.561-584, 2003.

PATTERSON, J.W.; LAZAROW, A.; LEVEY, S. Alloxan and Dialuric Acid: Their Stabilities and Ultraviolet Absorption Spectra. p.187-196, jun. 1948.

PEGLOW, K.; VELLOSO, C. Por que e como utilizar plantas medicinais. **Agroecologia e Desenvolvimento Rural Sustentável**, Porto Alegre, v.3, n.3, p.67-68, jul./set. 2002.

SIMÕES, C.M.O.; MENTZ, L.A.; SCHENKEL, P.; IRGANG, B.E.; STEHMANN, J.R. **Plantas da Medicina Popular no Rio Grande do Sul**. Edição 5. Porto Alegre: Editora da Universidade/UFRGS, 173p., 1998.

SIMÕES, C.M.O.; **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Edição 1. Porto Alegre/Florianópolis: Editora UFRGS/USFC, 821p., 1999.

SRINIVASAN, K.; RAMARAO, P. Animal models in type 2 diabetes research: An overview. **Indian Journal of Medical Research**, v.125, p.451-472, março, 2007.

WIDMAIER, E.P.; RAFF, H.; STRANG, K.T. Regulação do metabolismo orgânico e balanço energético. In: WIDMAIER, E.P.; RAFF, H.; STRANG, K.T. **Fisiologia humana: os mecanismos das funções corporais**. Edição 9. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 581-616, 2006.

Projeto: Análise da glicemia, do perfil lipídico e do estresse oxidativo em ratos Wistar diabéticos, tratados com extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos (Ipê-roxo, sinônimo *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo.