



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

AVALIAÇÃO DO EXTRATO AQUOSO DE HANDROANTHUS HEPTAPHYLLUS (MART.) MATTOS NA LIPOPEROXIDAÇÃO EM TECIDOS DE RATOS WISTAR DIABÉTICOS¹

Pauline Brendler Goettems², Bethânia Salamoni³, Paulo Ivo Homem de Bittencourt Jr⁴, Cláudia Ramos Rhoden⁵, Thiago Gomes Heck⁶, Mirna Stela Ludwig⁷.

¹ Projeto de Pesquisa desenvolvido pelo Grupo de Pesquisa em Fisiologia (GPeF) do Departamento de Ciências da Vida - DCVida/UNIJUI

² Mestranda do PPG Ciências da Saúde/UFCSPA.

³ Mestranda do PPG Ciências da Saúde/UFCSPA.

⁴ Laboratório de Fisiologia Celular da UFRGS (FisCel)- Instituto de Ciências Básicas da Saúde – ICBS/UFRGS.

⁵ Laboratório de Estresse Oxidativo e Poluição Atmosférica – LEOPA/UFCSPA.

⁶ Professor do Departamento de Ciências da Vida – DCVida/UNIJUI.

⁷ Professora do Departamento de Ciências da Vida – DCVida/UNIJUI.

Resumo

A utilização de plantas medicinais tem sido uma opção terapêutica para o tratamento de diversas doenças crônicas, como o Diabetes mellitus (DM). Muitas plantas são popularmente utilizadas por apresentar propriedades anti-diabéticas, entre as quais se destaca a *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos. Embora esta planta apresente potencial antioxidante, pela presença do flavonóide quercetina, também apresenta propriedades oxidativas e citotóxicas pela presença da naftoquinona Lapachol. A hiperglicemia, característica do DM, pode aumentar os níveis de lipoperoxidação nos tecidos e no plasma. Neste sentido, objetivou-se verificar o efeito do tratamento com extrato aquoso de *H. heptaphyllus* nos níveis de lipoperoxidação de diferentes tecidos e plasma em animais diabéticos. Para o desenvolvimento da pesquisa foram utilizados 10 ratos Wistar machos (2,5 meses) distribuídos em Diabético (D n=5) e Diabético Tratado (DT n=5). O quadro de Diabetes foi induzido pela administração de Aloxano monohidrato (150mg/Kg IP) e o tratamento consistiu na administração diária (150mg/Kg v.o.) do extrato aquoso da entrecasca de *H. heptaphyllus*. Os níveis de lipoperoxidação foram determinados pelo método de TBARS. Os dados foram analisados por Teste T de Student, no programa Graph Pad 3.0., com $p < 0,05$. O tratamento com extrato aquoso de *H. heptaphyllus* reduziu a lipoperoxidação no tecido pancreático dos ratos diabéticos tratados, porém não demonstrou alteração nestes níveis no plasma, nos músculos gastrocnêmio e sóleo, no fígado e nos rins. Este estudo sugere que o uso do extrato aquoso de *H. heptaphyllus*, nas condições estabelecidas, não oferece risco de elevação da lipoperoxidação nos tecidos mencionados e no plasma.

Palavras-chave: Diabetes mellitus; estresse oxidativo; ipê-roxo.





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

Introdução

As doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) apresentam-se como um problema de saúde global, uma ameaça à saúde e ao desenvolvimento humano. Em 2007, cerca de 72% das mortes no Brasil foram atribuídas às DCNT, como doenças cardiovasculares, respiratórias, câncer, obesidade, hipertensão, dislipidemias e diabetes (BRASIL, 2008).

A preocupação com o tratamento destas doenças promove uma crescente busca por terapias alternativas, como o uso de plantas medicinais. Estas representam uma fonte potencial de acesso a terapias mais baratas, em especial para as camadas mais carentes da sociedade. Deste modo, se constituem em um vasto campo de pesquisa por tratamentos alternativos e de baixo custo (SIMÕES, 1999).

Neste sentido, têm-se investigado as propriedades terapêuticas de plantas medicinais, entre elas, suas capacidades antioxidantes, antimicrobianas e antitumorais, as quais podem produzir efeitos benéficos e eficazes contra condições patológicas. Apesar de possuírem substâncias químicas que podem atuar favoravelmente sobre o organismo, o uso de plantas medicinais pode, por outro lado, apresentar riscos a saúde humana devido as propriedades citotóxicas de seus próprios componentes, pela presença de contaminantes ou por adulterantes presentes nas preparações fitoterápicas (TUROLLA, NASCIMENTO, 2006), podendo desencadear reações adversas que, por vezes, agravam alterações bioquímicas e morfofisiológicas produzidas pela doença.

A utilização popular de plantas no tratamento exclusivo e/ou coadjuvante de doenças crônicas como o Diabetes mellitus, aponta para a necessidade de investigações experimentais e clínicas voltadas à validação das propriedades anti-diabéticas destas. No Brasil, cerca de 200 plantas são utilizadas pela comunidade como alternativa para o tratamento do Diabetes mellitus (BARBOSA-FILHO et al., 2005). Nestes casos, o uso das plantas vem sendo utilizado com o objetivo de reduzir a hiperglicemia e amenizar as complicações da doença ou de doenças associadas. Entre essas plantas apresenta-se a *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos (sinônimo de *Tabebuia heptaphylla* (Vell.) Toledo), conhecida na região sul do Brasil como Ipê-Roxo (GROSE, OLMSTEAD, 2007). Estudos do nosso grupo demonstram que o extrato aquoso desta planta causa redução da glicemia após 4 semanas de uso/tratamento (SALAMONI et al., 2011) e melhora o perfil lipídico dos animais diabéticos, efeito este caracterizado pela redução dos níveis de triglicerídeos e do índice de lipoproteínas de baixa densidade (LDL) (GOETTEMS et al., 2011) e sugestivo de redução do risco de aterosclerose.

O Diabetes mellitus é causado por fatores ambientais e/ou predisposição genética e caracteriza-se pela deficiente secreção de insulina e/ou pela resistência insulínica, com consequente quadro hiperglicêmico. A hiperglicemia persistente leva ao aumento na produção de radicais livres por meio da auto-oxidação da glicose e glicação de proteínas. Além disso, níveis críticos de enzimas antioxidantes, nesta condição, influenciam na susceptibilidade de vários tecidos ao estresse oxidativo, predispondo-os ao desenvolvimento de inúmeras complicações (KAKKAR et al., 1998).

Neste sentido, o perfil antioxidante das plantas e sua implicação no tratamento do Diabetes mellitus e doenças associadas, vem sendo avaliado por pesquisadores (MUKHERJEE et al., 2006). Embora a *Handroanthus heptaphyllus* apresente potencial antioxidante, pela presença do flavonóide quercetina





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

(ISHIGE et al., 2001), suas propriedades oxidativas e citotóxicas, pela presença da naftoquinona Lapachol, já foram descritas (DA SILVA et al., 2003). As plantas medicinais podem, portanto, gerar complicações em razão do potencial citotóxico de alguns de seus princípios ativos (alguns desconhecidos) ou, ainda, pelo uso concomitante de outros medicamentos (AMORIM et al., 2007).

A determinação das propriedades antioxidantes e pró-oxidantes das plantas medicinais pode contribuir no estabelecimento das condições do uso correto destas plantas. Neste sentido, buscou-se avaliar neste trabalho, o efeito do tratamento com extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* nos níveis de lipoperoxidação de diferentes tecidos e plasma em animais diabéticos.

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 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 26 ratos da linhagem Wistar provenientes do Biotério do DCVida 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) 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 quadro de DM foi induzido nos animais por meio da administração de Aloxano monohidrato (Sigma-Aldrich), via intraperitoneal (IP), na dose de 150mg/Kg, após 12 horas de jejum. Nas primeiras 24 horas pós-indução os animais receberam água glicosada 10%. Após 72 horas desde a indução do diabetes verificou-se a glicemia, sendo considerados diabéticos os animais com 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, 10 foram efetivamente incluídos no trabalho experimental; os demais não apresentaram quadro hiperglicêmico persistente (7) ou morreram (9) antes do início do tratamento.

Grupos experimentais: Os animais foram distribuídos nos seguintes grupos experimentais: Diabético (D, n=5), que recebeu apenas água v.o., e Diabético Tratado (DT, n=5), que recebeu extrato aquoso de *H. heptaphyllus* v.o. (150 mg/kg).

Tratamento com extrato aquoso: O tratamento foi desenvolvido com base em estudo piloto e nos estudos de Peglow, Velloso (2002). Calculou-se o valor da dose para humanos correlacionando-a ao peso do animal, estabelecendo-se como dose terapêutica o valor de 150mg/Kg. As entrecascas de *H. heptaphyllus* foram submetidas ao processo de decocção por 5 minutos. O extrato foi preparado diariamente durante 32 dias e administrado por gavagem imediatamente após o preparo.

Avaliação da Lipoperoxidação: A determinação da lipoperoxidação foi realizada utilizando o método de TBARS (BUEGE, AUST, 1978), como medida dos parâmetros de dano oxidativo, por



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

espectrofotometria através do espectrofotômetro UV Vis (Metrolab 1700) em 535nm. A concentração de TBARS formada será expressa em μmol de malonaldeído (MDA) por mg de proteína (μmol MDA/mg Proteína), utilizando padrão de referência de MDA (ZANCHI et al., 2008).

Análise Estatística: Utilizou-se o programa Graph Pad 3.0.; os resultados foram expressos como médias EPM e analisados por Teste T de Student, considerando nível de significância estatística o limite de 5% ($p < 0,05$).

Resultados e Discussão

O tratamento com extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* reduziu a lipoperoxidação (μmol MDA/mg Proteína) no pâncreas dos ratos diabéticos ($p=0,003$), conforme se observa na figura 1. A redução do nível de lipoperoxidação no pâncreas pode ser devida às propriedades antioxidantes do flavonóide quercetina presente na *H. heptaphyllus* (SIMÕES et al., 1998), o qual é responsável pela inibição da oxidação do ácido linolêico e das lipoproteínas de baixa densidade e, pela inibição da peroxidação de fosfolípidos da membrana (SANTANAM et al., 2004). Estudos anteriores do nosso grupo demonstraram que o extrato aquoso de *H. heptaphyllus* também reduziu a glicemia nos animais diabéticos submetidos a doses diárias deste extrato, na quarta semana de tratamento, atenuando o quadro hiperglicêmico.

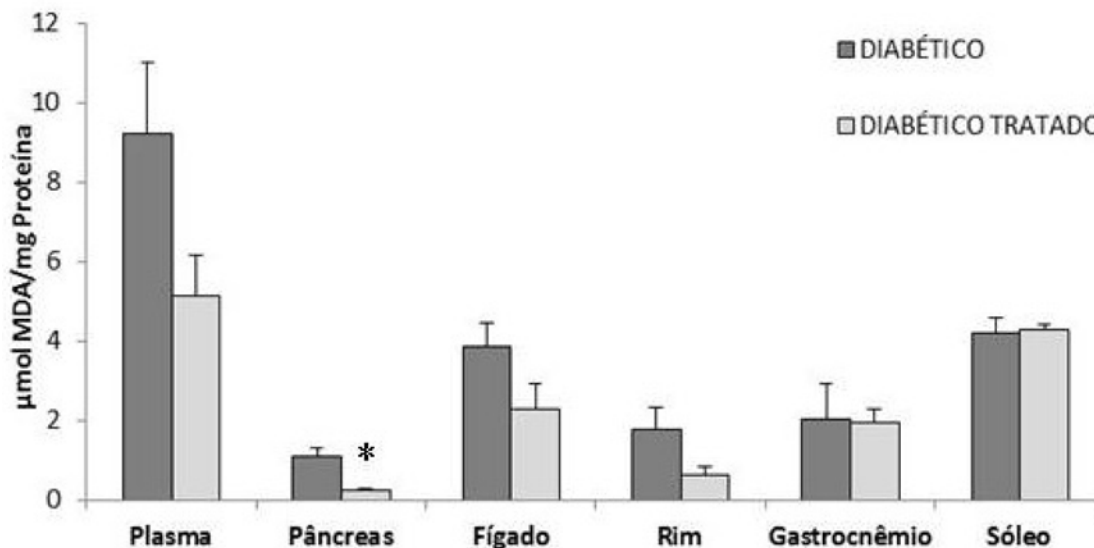


Fig. 1. Níveis de Lipoperoxidação de diferentes tecidos de animais diabéticos (D) e diabéticos tratados (DT) com extrato aquoso de *H. heptaphyllus*. * $p=0,003$. Média \pm EPM de μmol de MDA/mg Proteína. Valores de μmol de MDA: Plasma $\times 100$, Pâncreas $\times 10.000$, Fígado $\times 10$.

O estado de hiperglicemia induz ao aumento na produção de radicais livres e a glicação não enzimática de proteínas, aumentando os níveis de marcadores de estresse oxidativo, como lipoperoxidação nos tecidos (HAMDEN et al., 2009). Kakkar et al. (1998) demonstraram que durante a progressão do DM





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

ocorre um aumento nos níveis de MDA no fígado e pâncreas. O aumento observado nos níveis de lipoperoxidação nestes tecidos pode ser devido a níveis aumentados de radicais livres.

Estudos têm demonstrado que além das propriedades antioxidantes da *H. heptaphyllus*, esta planta apresenta constituintes com atividade biológica pró-oxidativa, como o Lapachol, o que a relaciona com a capacidade de indução ao estresse oxidativo (FERREIRA et al., 2012). Entretanto, nosso estudo não demonstrou alteração nos níveis de lipoperoxidação no plasma ($p=0,08$), no fígado ($p=0,1204$), no rim ($p=0,0784$), no músculo gastrocnêmio ($p=0,9229$) e sóleo ($p=0,8166$), nos animais tratados com o extrato, conforme demonstrado na Figura 1.

O estresse e o dano oxidativo aos tecidos são pontos comuns de doenças crônicas, como aterosclerose, diabetes e artrite reumatoide (BAYNES, THORPE, 1999). Segundo Pizziolo et al. (2011), as plantas com atividade antioxidante comprovadas podem ser direcionadas para estudos farmacológicos e clínicos para o tratamento dessas doenças. Neste estudo, não observamos modificações que indiquem ou contra-indiquem este chá, sob o ponto de vista dos níveis de lipoperoxidação tecidual, com exceção ao pâncreas onde houve uma redução dos níveis de MDA, o que sugere a necessidade da continuidade dos estudos com este extrato no DM.

O envolvimento do estresse oxidativo nas características relacionadas ao DM mostra que estratégias de redução de dano oxidativo terão efeitos protetores significativos, sendo que a redução deste dano no pâncreas pode melhorar a resposta do indivíduo a hiperglicemia.

Conclusão

O extrato aquoso de *Handroanthus heptaphyllus* (Mart.) Mattos reduziu os níveis de lipoperoxidação no pâncreas dos animais diabéticos, mas não foi capaz de reduzir estes níveis em outros tecidos e no plasma. O extrato não demonstrou exercer aumento nos níveis de lipoperoxidação em nenhum tecido avaliado.

Agradecimentos

Agradecimento a UNIJUÍ - DCVida pela infraestrutura, à CAPES pela Bolsa de Pós Graduação, ao Laboratório de Fisiologia Celular da UFRGS e ao Laboratório de Poluição Atmosférica e Estresse Oxidativo pelo apoio técnico-científico e material de consumo.

Referências

- AMORIM, M.F.D.; DINIZ, M.F.F.M.; ARAÚJO, M.S.T.; PITA, J.C.L.R.; DANTAS, J.G.; RAMALHO, J.A.; XAVIER, A.L.; PALOMARO, T.V.; JÚNIOR, N.L.B. The controvertible role of kava (*Piper methysticum* G. Foster) an anxiolytic herb, on toxic hepatitis. *Rev Bras Farmacogn*, v.17, p.448-454, 2007.
- BAYNES, J.W.; THORPE, S.R. Role of Oxidative Stress in Diabetic Complications: A New Perspective on an Old Paradigm. *Diabetes*, v. 48, 1999.
- BARBOSA-FILHO, J.M.; VASCONCELOS, T.H.C.; ALENCAR, A.A.; BATISTA, L.M.; OLIVEIRA, R.A.G.; GUEDES, D.N.; FALCÃO, H.S.; MOURA, M.D.; DINIZ, M.F.F.M.;



Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

MODESTO-FILHO, J. Plants and their active constituents from South, Central, and North America with hypoglycemic activity. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v.15, n.4. p.392-413, 2005.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância à Saúde, Secretaria de Atenção à Saúde. Diretrizes e recomendações para o cuidado integral de doenças crônicas não-transmissíveis: promoção da saúde, vigilância, prevenção e assistência. Brasília: Ministério da Saúde, 72 p., 2008.

BUEGE, J.A.; AUST, S. D. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymology*, v.52, p.302-309, 1978.

DA SILVA, M.N.; FERREIRA, V.F.; SOUZA, M.C.V.B. Um panorama atual da química e da farmacologia de naftoquinonas, com ênfase na #-lapachona e derivados. *Quim. Nova*, v. 26, n. 3, 407-416, 2003.

FERREIRA, V.F.; FERREIRA, S.B.; DA SILVA, F.C. Strategies for the synthesis of bioactive pyran naphthoquinones. *Org. Biomol. Chem.*, v.8, 4793–4802, 2010.

GOETTEMS, P.B.; BRUXEL, M.A.; SALAMONI, B.; LUDWIG, M.S.; BASSO, E.G.P. Efeito do Tratamento com Extrato Aquoso de *Handroanthus Heptaphyllus* (Mart.) Mattos no Perfil Lipídico de Ratos Wistar Diabéticos Induzido com Aloxano. *Anais do XIX Seminário de Iniciação Científica, XVI Jornada de Pesquisa, XII Jornada de Extensão, I Mostra de iniciação Científica Júnior, I Seminário de Inovação e Tecnologia, UNIJUI*, 2011.

ISHIGE, K.; SCHUBERT, D.; SAGARA, Y. Flavonoids Protect Neuronal Cells From Oxidative Stress by Three Distinct Mechanisms. *Free Radical Biology & Medicine*, v. 30, n.4, p. 433–446, 2001.

HAMDEN, K.; BOUJBIHA, M.A.; MASMOUDI, H.; AYADI C, F.M.; JAMOSSI, K.; ELFEKI, A. Combined vitamins (C and E) and insulin improve oxidative stress and pancreatic and hepatic injury in alloxan diabetic rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, v.63, p. 95-99, 2009.

KAKKAR, R.; MANTHA, S.V; RADHI,J.; PRASAD, K.; KALRA, J. Increased oxidative stress in rat liver and pancreas during progression of streptozotocin-induced diabetes. *Clinical Science*, v.94, p.623-632, 1998.

MUKHERJEE, P.K.; MAITI, K.; MUKHERJEE, K.; HOUGHTON, P.J. Leads from Indian medicinal plants with hypoglycemic potentials. *Journal of Ethnopharmacology*, v.106, p.1–28, 2006.

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, 2002.

PIZZIOLO, V.R.; BRASILEIRO, B.G.; OLIVEIRA, T.T.; NAGEM, T.J. Plantas com possível atividade hipolipidêmica: uma revisão bibliográfica de livros editados no Brasil entre 1998 e 2008. *Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu*, v.13, n.1, p.98-109, 2011.

SALAMONI, B.; BRUXEL, M.A.; GOETTEMS, P.B.; MARQUES, R.; LUDWIG, M.S.; HECK, T.G. Efeito do Extrato Aquoso de *Handroanthus Heptaphyllus* (Mart.) Mattos na Glicemia de Ratos Wistar Diabéticos Induzido por Aloxano. *Anais do XIX Seminário de Iniciação Científica, XVI Jornada de Pesquisa, XII Jornada de Extensão, I Mostra de iniciação Científica Júnior, I Seminário de Inovação e Tecnologia, UNIJUI*, 2011.

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.





Modalidade do trabalho: Relatório técnico-científico

Evento: XVII Jornada de Pesquisa

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

TUROLLA, M.S.R.; NASCIMENTO, E.S. Informações toxicológicas de alguns fitoterápicos utilizados no Brasil. Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas. v. 42, n. 2, 2006.

ZANCHI, A.C.; VENTURINI, C.D.; SAIKI, M.; SALDIVA, P.H.N.; BARROS, H.M.T; RHODEN, C.R. Chronic Nasal Instillation of Residual-Oil Fly Ash (ROFA) Induces Brain Lipid Peroxidation and Behavioral Changes in Rats. Inhalation Toxicology, v.20, p.795–800, 2008.



Para uma vida de CONQUISTAS