

Efeitos da suplementação da dieta com a farinha da semente de *Lecythis pisonis* sobre a função hepática e atividade antioxidante em ratos diabéticos

Jordano Sampaio G Silva (bolsista ICV); Thiago Mendes Barbosa (colaborador, UFPI); Anna Karolinne da Silva Brito (colaborador, UFPI); Kátia Bonfim Leite de Moura Sérvulo (colaborador, Depto de Bioquímica e Farmacologia); Prof^ª. Dra. Regina Célia de Assis (orientador, UFPI - CCS)

Introdução: O diabetes mellitus situa-se entre as dez principais causas de morte nos países ocidentais e, apesar dos progressos em seu controle clínico, ainda não foi possível controlar de fato suas conseqüências letais¹. Esta doença vem sendo reconhecida mundialmente como um problema de saúde pública, pois está associada a elevados índices de morbimortalidade e pelo alto custo que a doença representa para a sociedade, além de suas incidência e prevalência estarem aumentando e alcançando proporções epidêmicas^{2,3,4}. Grande número de espécies de plantas tem sido usado experimentalmente para tratar os sintomas do diabetes mellitus e a distância filogenética entre este grupo de plantas é forte indicação da natureza variada de seus constituintes. Tem sido constatado que muitas substâncias extraídas de plantas reduzem o nível de glicose no sangue, e a grande diversidade de classes químicas indica que uma variedade de mecanismos de ação deve estar envolvida na redução do nível de glicose no sangue. Algumas destas substâncias podem ter potencial terapêutico, enquanto outras podem produzir hipoglicemia como um efeito colateral devido a sua toxicidade, especialmente hepatotoxicidade. Na capital piauiense existem inúmeras plantas usadas para o tratamento de enfermidades, inclusive do diabetes mellitus, e seu uso é parte da cultura local, sustentando-se no próprio conhecimento empírico da população. Dentre estas plantas utilizadas empiricamente pela população está a sapucaia (*Lecythis pisonis*), que é muito difundida entre os “raizeiros” para o tratamento do diabetes e é vendida na forma de “garrafada”. Sendo assim, o presente projeto visa estudar os efeitos sistêmicos da farinha obtida a partir da semente da sapucaia (*Lecythis pisonis*) em ratos diabéticos no que diz respeito à função hepática e atividade antioxidante em ratos diabéticos, na tentativa de verificar a validade do uso desta planta no tratamento do diabetes corroborando seu uso popular além de fomentar a busca por novas intervenções capazes de contribuir para a melhoria das alterações endócrino-metabólicas causadas pela doença.

Metodologia: Ratos Wistar machos (248,0±1,69 g) com idade entre 70-80 dias foram distribuídos em grupos de 6-8 animais e tratados com ração padrão para ratos (Controle Normal - CN e Controle Diabético - CD), ração padrão acrescida de 4 % de amêndoas de sapucaia (Grupo Sapucaia – DS) ou com insulina NPH 2,5U/rato/dia (Grupo Insulina - DI). Os animais foram mantidos em período de aclimação no laboratório em gaiolas metabólicas individuais até atingirem peso corporal (230-270 g) para indução do diabetes. A indução foi realizada pela administração endovenosa de estreptozotocina 40 mg/Kg (Sigma Chemical, USA), dissolvida em tampão citrato 10 mM e pH 4,5, utilizando a veia peniana^{28,29}. Após jejum alimentar de 12 horas com acesso livre à água cada rato foi anestesiado por inalação de éter etílico, procedendo-se a administração da droga utilizando agulhas de calibre 13 x 4,5 mm e seringas de 1 mL com divisões de 0,01 mL. Decorridos 30 minutos do tratamento os animais tiveram livre acesso à ração. No quinto dia após indução, foram realizadas avaliações da glicemia de jejum utilizando tiras reagentes accue chek e, a cada 7 dias são realizadas

novas avaliações da glicemia. Seguidamente, o peso corporal, consumo hídrico e a diurese foram avaliados diariamente durante 50 dias após indução do diabetes. Somente foram incluídos no experimento ratos apresentando glicose sanguínea maior ou igual a 250 mg/dL²⁸. As sementes *Lecythis pisonis* foram destegumentadas e trituradas em moinhos até obtenção de uma farinha fina. Esta farinha foi misturada com a ração padrão para ratos (ração Purina labina) na proporção de 4 g da farinha para cada 100 g do peso total da ração. A ração com a farinha da sapucaia foi preparada semanalmente, e após o preparo foi mantida em recipiente fechado em geladeira e ao abrigo da luz. Os animais controle receberão ração Purina labina para ratos. A quantidade ingerida de ração foi determinada pela diferença da quantidade de ração colocada e da quantidade restante 24 horas após. Diariamente quantidade conhecida de ração padrão ou ração enriquecida com farinha da semente da sapucaia foi colocada nos comedouros das gaiolas metabólicas. A quantidade ingerida de ração foi determinada pela diferença da quantidade de ração colocada e da quantidade restante 24 horas após.

Todos os animais foram anestesiados com dose excessiva de tiopental sódico 100 mg/kg por VI para obtenção de sangue venoso para dosagens bioquímicas (fosfatase alcalina, albumina, glicose, proteínas totais séricas e do fígado, catalase, AST e ALT). Os rins, pulmões, fígado, testículo, fêmures e coração foram removidos para verificação do peso e fragmentos foram para a histologia, mas a leitura das lâminas ainda não foi realizada. As dosagens bioquímicas foram pelo método enzimático colorimétrico, utilizando-se reagentes de Kits Labtest. Os dados são representados como média e erro padrão da média (EPM). A análise estatística foi realizada mediante aplicação do teste t pareado para comparar as diferenças dentro dos grupos, e ANOVA seguida de pós-teste de Tukey para comparação entre grupos. O nível de significância estabelecido foi de $p < 0,05$. O projeto foi previamente, ao início dos experimentos, aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal.

Resultados e Discussão: Os resultados das dosagens bioquímicas referentes aos valores de fosfatase alcalina, albumina, glicose sérica, proteínas totais séricas, proteínas totais do fígado, catalase, AST e ALT, foram expressos em forma de tabela no relatório final. Quanto à atividade antioxidante, ficou também prevista, além da catalase, a avaliação dos níveis de glutathiona reduzida no tecido hepático, mas em virtude das dificuldades encontradas, que foram esclarecidas no relatório final, no decorrer da realização do experimento, não foi possível quantificá-la. E essas mesmas dificuldades encontradas também foram responsáveis pela não realização do acompanhamento de dois grupos antes passivos de serem estudados de acordo com o projeto inicial, além também de terem contribuído para que não tivéssemos ao final de cada experimento o número de animais antes estipulados.

Com relação à análise estatística dos resultados obtidos, pôde-se perceber que os parâmetros de proteínas totais séricas e catalase, apresentados no tabela 2, não mostraram diferença significativa entre nenhum dos grupos estudados. Esse resultado nos permite inferir, mesmo de forma ainda inicial, visto que outros parâmetros, como a própria glutathiona reduzida no tecido hepático, ainda devem ser estudados, que a suplementação alimentar com farinha da semente de sapucaia não interfere na atividade antioxidante do tecido hepático.

A avaliação da função hepática dos animais estudados também pôde ser feita através da análise estatística dos níveis de fosfatase alcalina, albumina, proteínas totais do fígado, alanina transaminase (ALT) e aspartato transaminase (AST). Logo, de acordo com os resultados obtidos e análises realizadas, o que se pôde inferir foi que, quanto à análise da fosfatase alcalina o grupo tratado com farinha de semente de sapucaia apresentou valores significativamente mais altos do que os demais (tabela 1); quanto à albumina o grupo DS não mostrou diferença significativa com os demais grupos (tabela 1); quanto às proteínas totais do fígado os grupos DS, CD e CN mostraram diferença significativa para DI; quanto aos níveis de AST o grupo DS apresentou níveis significativamente mais altos que os do grupo DI e CN, entretanto quanto aos níveis de ALT, o grupo DS apresentou níveis significativamente mais baixos do que os do grupo CD.

O outro parâmetro analisado foi o de glicose sérica ao final do tratamento, e através deste, o que se evidenciou foi que os níveis de glicose apresentados pelo grupo diabético sapucaia foram significativamente maiores do que os demais.

Conclusão: Os resultados obtidos mostraram que a semente da farinha da sapucaia adicionada à ração dos animais não foi eficaz no que tange a atividade antioxidante. Ao analisar a glicose sérica, a suplementação com a farinha da semente da sapucaia não possibilitou também a compensação do diabetes. Pode-se concluir ainda que os demais parâmetros que disseram respeito à função hepática se mostraram contraditórios e, dessa forma, serão necessários estudos futuros. **Apoio:** UFPI e Laboratório CENDOMED

Referências Bibliográficas:

1. REIMANN, M.; BONIFACIO, E.; SOLIMENA, M.; SCHWARZ, P. E. H.; LUDWIG, B.; HANEFELD, M. e BORNSTEIN, S.R. An update on preventive and regenerative therapies in diabetes mellitus. *Science direct*, v. 121, n. 3, p. 317 – 331, 2009.
2. AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care* 30:S42–S47, 2007.
3. KATIE, M.; QUEENAN, M.L.; STEWART, K.N.; SMITH, W.; THOMAS, R.; GARY, F.; JOANNE, L. S. Concentrated oat β -glucan, a fermentable fiber, lowers serum cholesterol in hypercholesterolemic adults in a randomized controlled trial (Research)(Clinical report). *Nutrition Journal*, vol.6, n.6, p.6, 2007.
4. ANDERSON, J.W. High-fiber diets for obese diabetic men on insulin therapy: short-term and long-term effects. In: VAHOUNY, G.V. **Ed. Dietary fiber and obesity**. New York: Alan R Liss, Inc. 1985:133-59.
5. SILVA, S. R. et al.. Plantas medicinais do Brasil: aspectos gerais sobre legislação e comércio. Brasília, DF: Ministério de Cooperação Econômica e Desenvolvimento da Alemanha e IBAMA. 2001. SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Consenso brasileiro sobre diabetes 2002: diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito do tipo 2. Rio de Janeiro: Diagraphic, 2003. 72 p.
6. TASSARA, H. 1996. Frutas do Brasil. São Paulo: Empresa Artes.
7. TEIXEIRA, E. 2006. Frutas do Brasil. Disponível em: <http://www.bibvirt.futuro.usp.br/especiais/frutasnobrasil/sapucaia.htm>. Acesso em 13/11/2009
8. VIANA, A.L.; HEIMANN, L.S.; LIMA, L.D.; OLIVEIRA R.G.; RODRIGUES, S.H. Significant changes in the health system decentralization process in Brazil. *Cad Saúde Pública* v. 18, p. 139-151, 2002.
9. LERCO, M. M. et al. Caracterização de um modelo experimental de diabetes mellitus induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. *Acta Cirurgica Brasileira*, v.18, n.2, p 132-142, 2003.
10. SALES, A.L.C.C.Efeito da suplementação da dieta com aveia, linhaça, gergelim, semente de girasol e concentrado de jatobá sobre o controle metabólico de ratos diabéticos. 2010. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). UFPI. Teresina, 2010.

Palavras-Chave: Diabetes, sapucaia, *Lecythis pisonis*, função hepática, atividade antioxidante