

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DO EXTRATO DE *BAUHINIA FORFICATA* LINK EM DANOS OXIDATIVOS NO FÍGADOS DE RATOS DIABÉTICOS

JANAINA GONÇALVES TAVARES¹; FERMINA FRANCESCA ALVES VARGAS², CLAUDIANE DA SILVA MACHADO², EDUARDA RODRIGUEZ RIVERO², THIAGO ALVES VARGAS²; JUCIMARA BALDISSARELLI³

¹Universidade Federal de Pelotas – jana.g.tavares@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– ffrancescaavargas@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – claudianesilvamachado@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas– eduarda01@gmail.com

²Universidade Católica de Pelotas– thiagoovargas@hotmail.com

³Universidadade Federal de Pelotas– jucimarabaldissarelli@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus (DM) é um conjunto de desordens metabólicas, caracterizada por níveis elevados de glicose no sangue (hiperglicemia), resultante da falta de produção de insulina ou resistência à insulina. O diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é a forma mais comum e complexa deste distúrbio, sendo influenciado por fatores como estilo de vida, disposição genética e alimentação desequilibrada (RODACKI, et al.,2022).

Espécies reativas (ER) são produzidas fisiologicamente e o organismo possui defesas antioxidantes enzimáticas e não enzimáticas capazes de neutralizá-las. O estresse oxidativo ocorre quando há desequilíbrio entre essas ER e a capacidade antioxidant. Os danos oxidativos resultam da oxidação de biomoléculas, ocasionando efeitos deletérios que alteram as funções biológicas. Esses danos são responsáveis pela causa de diversas doenças, como é o caso do DM (BARBOSA, et al.,2008). A hiperglicemia crônica, característica do DM, é responsável pelo aumento de ER, que causam danos em diversos tecidos, incluindo o fígado. Diversas opções terapêuticas são utilizadas para tratar a hiperglicemia no DM2, incluindo medicamentos e terapia adjuvante com plantas medicinais. A metformina é um medicamento amplamente utilizado, visto que atua aumentando a sensibilidade insulínica no fígado, reduzindo desse modo a produção hepática de glicose, além de aumentar a sua captação muscular (RODACKI, et al.,2022, FILHO, et al.,2021).

A *Bauhinia forficata* Link (BF), também conhecida popularmente no Brasil como “pata de vaca”, devido à similaridade de suas folhas, é uma planta pertencente ao gênero *Bauhinia* e subfamília *Fabaceae*. Apresenta diversas propriedades biológicas, antidiabéticas, hipoglicemiantes, diuréticas, antioxidantes, hepatoprotetora e hipocolesterolêmica (SALGUEIRO, et al.,2017). Dessa forma, o objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do extrato da BF em danos oxidativos no fígado de ratos Wistar após a indução do DM2 por estreptozozina (STZ).

2. METODOLOGIA

Extrato BF

O extrato da planta BF foi adquirido em uma farmácia em Pelotas-RS, utilizando folhas coletadas em Campos do Tenente-PR. Foi realizada uma extração

hidroalcoólica, seguida de concentração e desidratação, sob o número do lote: NPT.1221/1523.

Animais e protocolo experimental

O protocolo de experimentação animal foi aprovado pelo Comitê de Ética Animal da UFPel (CEUA 038596/2021-10) e seguiu os cuidados exigidos pelo Conselho Nacional de Controle Animal (CONCEA). Ratos machos Wistar com 60 dias foram obtidos no biotério central da UFPel e divididos em 6 grupos: controle (CT); *Bauhinia Forficata Link* (BF) 300 mg/Kg; DM; DM +Metformina (MET) 250 mg/kg; DM+BF300mg/kg; DM+MET 250 mg/kg+BF 300 mg/kg, com n=10 por grupo diabético e n=8 por grupo controle, resultando no total 56 animais.

Indução do diabetes e tratamento com *Bauhinia Forficata Link*

A indução do DM seguiu a metodologia descrita por Mushtaq, et al.,2014, com STZ de baixa dosagem (35 mg/kg) dissolvida em citrato de sódio 0,1M, administrado por via intraperitoneal (IP). A indução ocorreu três semanas após o início de uma dieta de alta densidade energética com adição de frutose, preparada artesanalmente. Os ratos que consumiram dieta controle receberam apenas o veículo por via IP. Após 72 horas, o sangue foi coletado da veia caudal e a glicemia foi medida utilizando um glicosímetro. Os animais com glicemia de jejum acima de 250 mg/dL foram considerados diabéticos e utilizados no experimento.

O tratamento com o extrato da BF foi realizado diariamente, durante quatro semanas, enquanto os grupos controle receberam apenas água pura. A concentração de extrato usado (300 mg/kg) foi determinada considerando a média de valores já relatadas na literatura (LINO, et al.,2003).

Após o tratamento, os animais foram eutanasiados sob anestesia com isoflurano, verificando-se perda dos reflexos corneanos e ausência de dor profunda, sendo coletado sangue por punção intracardíaca. O fígado foi separado para análise de perfil oxidativo.

Determinação dos parâmetros oxidativos e antioxidantes

A peroxidação lipídica foi avaliada por meio da quantificação de TBARS, através do método de Jentzsch, et al.,1996 com adaptações. Os resultados foram expressos em nmol de TBARS/mg de proteína. A quantificação de nitritos foi realizada de acordo com o método descrito por Stuehr e Nathan (1989). Os resultados foram apresentados em µmol de nitrito/mg de proteína. Os níveis de Tióis totais (TSH) e tióis não protéicos (NPSH) foram analisados conforme o método de Ellman (1959). Os resultados dos níveis de TSH foram apresentados em mmol TSH/mg de proteína. Para os níveis de NPSH, 300ul de amostra foram precipitados em 300 ul de ácido tricloroacético a 10%, posteriormente centrifugadas a 2000 rpm por 10 minutos e o sobrenadante usado na análise colorimétrica em tampão fosfato 1M, pH 7,4. Os resultados foram expressos como nmol NPS/mg de proteína.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os níveis de nitritos, TBARS, NPSH e TSH foram avaliados no fígado (figura 1). Em relação aos nitritos (figura 1A) houve um aumento nos níveis nos animais diabéticos em relação ao grupo controle ($p<0,01$). Por outro lado, observa-se que o

tratamento com BF ($p<0,01$), assim como Metformina ($p<0,05$) e a associação de ambos tratamentos DM/BF/MET ($p<0,05$) foram capazes de prevenir esse aumento.

Já em relação à peroxidação lipídica, os níveis de TBARS (figura 1B) aumentaram significativamente nos animais diabéticos em comparação ao grupo controle ($p<0,05$). No entanto, o tratamento com BF foi capaz de prevenir esse aumento. Enquanto nos grupos DM/BF/MET os níveis de TBARS permaneceram semelhantes ao grupo controle.

Na figura 1 C é possível observar que os níveis de NPSH apresentaram uma redução nos animais do grupo DM ($P<0,001$) e ambos os tratamentos preveniram essa diminuição mantendo os níveis semelhantes ao grupo controle. Quanto aos grupamentos TSH (figura 1D) não houve diferença em relação aos grupos tratados.

Nossos resultados demonstram que os animais diabéticos apresentaram um aumento dos danos oxidativos no fígado, o que foi demonstrado pelo aumento na peroxidação lipídica e formação de nitritos, além da depleção de importantes defesas antioxidantes e está associado a um aumento do estresse oxidativo em condições de hiperglicemia. Por outro lado, o tratamento com o extrato Bf previu esse aumento, demonstrando seu papel antioxidant, resultado semelhante ao obtido por Salgueiro, et al., 2017. As propriedades antioxidantes presentes no extrato de BF podem ajudar a proteger o fígado contra danos oxidativos associados ao DM. Além disso, tornar o extrato BF uma opção terapêutica fitoterápica no controle desta patologia.

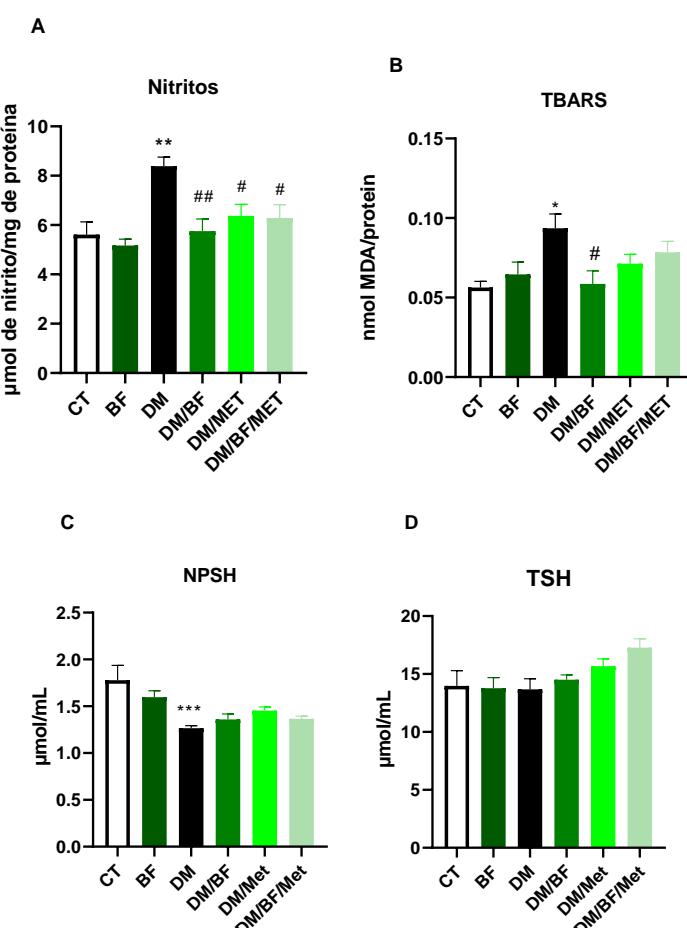


Figura 1. Perfil oxidativo hepático sobre os níveis de nitritos (A), TBARS (B), NPSH (C), TSH (D). *, ** e *** representam diferenças significativas em relação ao grupo CT ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,001$). #, ## representam diferenças estatísticas em relação ao grupo DM ($p<0,05$, $p<0,01$).

4. CONCLUSÃO

Dessa forma, fica evidente que o tratamento com o extrato de BF desempenha um excelente papel antioxidant, o que é de extrema importância em doenças caracterizadas pelo aumento de estresse oxidativo, como ocorre no diabetes mellitus e suas complicações. No entanto, é importante ressaltar, para confirmar se potencial efeito terapêutico é necessário realizar mais estudos com o extrato.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, B. Oxidative Stress: Assessment of biomarkers. **Sociedade Brasileira de Nutrição**, São Paulo, v.33,n.2,p.111-128,2008.
- ELLMAN, G. L. (1959). Tissue sulfhydryl groups. Archives of Biochemistry and Biophysics, 82(1), 70–77.
- FIGUEIREDO, I. D., LIMA, T. F. O., INÁCIO, M.D., et al.. Lycopene Improves the Metformin Effects on Glycemic Control and Decreases Biomarkers of Glycoxidative Stress in Diabetic Rats. Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: **Targets and Therapy** 2020;13 3117–3135.
- FILHO, R; ALBUQUERQUE, L; CAVALCANTI, S; TAMBASCIA, M; VALENT, F; BERTOLUCI, M. Tratamento farmacológico da hiperglicemia no DM2. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**,2021.
- JENTZSCH A.M. Improved analysis of malondialdehyde in human body fluids. **Free Radic Biol Med**, v. 95, p,02043-8,1996.
- LINO, C. S.; DIÓGENES, J.P.L.; PEREIRA, B.A. et al.. Antidiabetic Activity of Bauhinia forficata Extracts in Alloxan-Diabetic Rats. **Biol. Pharm. Bull.** 27(1) 125—127 (2004) 125.
- MUSHTAQ, N.; SCHMATZ, R.; PEREIRA, L. B. et al Rosmarinic acid prevents lipid peroxidation and increase in acetylcholinesterase activity in brain of streptozotocin-induced diabetic rats. **Cell Biochemistry and Function**, v. 32, p. 287-293, 2014.
- SALGUEIRO, A.C.F; FOLMER, V; SILVA, M.P; et al.. Effects of Bauhinia Forficata Tea on oxidative Stress and liver damage in diabetic mice. **Oxid Med Cell Longev**,2015.
- STUEHR, D.J., NATHAN, C.F. (1989) Nitric oxide. A macrophage product responsible for cytostasis and respiratory inhibition in tumor target cells. **J Exp Med** 169:1543–1555. DOI: 10.1084/jem.169.5.1543.
- RODACKI, M; TELES, M; GABBAY, M; Classificação do diabetes. **Diretriz Oficial da Sociedade Brasileira de Diabetes**. 2022.