

## **AVALIAÇÃO DOS NÍVEIS DE ESPÉCIES REATIVAS E TEOR DE ÁCIDO ASCÓRBICO EM FÍGADO, RIM E PÂNCREAS DE RATOS COM DIABETES MELLITUS TIPO 2 TRATADOS COM EXTRATO DE *BAUHINIA FORFICATA* LINK.**

THIAGO ALVES VARGAS<sup>1</sup>; FERMINA FRANCESCA ALVES VARGAS<sup>2</sup>; JULIA EISENHARDT DE MELLO<sup>2</sup>; EDUARDA RODRIGUEZ RIVERO<sup>2</sup>; VINICIUS QUEIROZ KAISER<sup>2</sup>; JUCIMARA BALDISSARELLI<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Católica de Pelotas – thiagoovargas@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – ffrancescaavargas@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – eisenhardtju@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – eduardar01@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – viniciuskaiser2015@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – jucimarabaldissarelli@gmail.com

### **1. INTRODUÇÃO**

A diabetes mellitus tipo 2 (DM2) é uma doença crônica metabólica que caracteriza-se por um elevado nível de glicose no sangue devido, sobretudo, à resistência insulínica, mas também a sua insuficiência relativa. Em decorrência disso, diversos órgãos e tecidos são afetados pela DM 2, como o coração, veias, olhos, fígado, rins e nervos, causando além de diversas complicações, 1,5 milhões de mortes somente em 2019 (OMS 2023).

Uma das vias fisiopatológicas da DM se dá através do estresse oxidativo, um desequilíbrio entre a ação de espécies reativas (ER), que geram danos oxidativos a células e tecidos e a capacidade do organismo de neutralizá-las (IGHODARO, 2018). Através de moléculas antioxidantes, como o ácido ascórbico, mais conhecido como Vitamina C (Vit C), um potente antioxidante (PADAYATTY et al., 2003).

Estudos recentes buscam abordagens mais naturais para o tratamento de doenças e uma das plantas que tem sido objeto de pesquisa é a *Bauhinia forficata* (BF) popularmente conhecida como pata-de-vaca e inclusa na lista de interesse do SUS pelo Ministério da Saúde por apresentar propriedades antidiabéticas, antioxidantes e anti-inflamatórias (TRUS, 2018). No entanto, embora seja crescente a atenção para as potenciais propriedades medicinais da BF, ainda faltam dados substanciais para compreender plenamente seu impacto na saúde. Portanto, este estudo teve como objetivo avaliar o nível de espécies reativas e o teor de ácido ascórbico em fígado, rim e pâncreas de ratos wistar com diabetes tipo 2 tratados com extrato de BF.

### **2. METODOLOGIA**

#### **Extrato**

O extrato foi adquirido em uma farmácia de manipulação da cidade de Pelotas-RS, Brasil, tendo sido obtido por extração hidroalcoólica, concentração e desidratação.

#### **Preparo da ração**

A ração foi preparada manualmente durante o período do experimento, sendo uma ração de alta carga energética, com acréscimo de frutose. Além disso,

foi utilizada ração controle proveniente do Biotério Central da UFPel, da Linha Especialidades, da empresa Neovia Nutrição e Saúde Animal LDTA.

### **Animais**

Foram utilizados ratos Wistar machos adultos, com 60 dias, provenientes do Biotério Central da UFPel. Os animais foram divididos em 6 grupos:: controle (CT); *Bauhinia forficata* link 300 mg/kg; DM; DM + Metformina (Met) 250 mg/kg; DM + BF 300 mg/kg; DM + Met 250 mg/kg + BF 300 mg/kg; com n = 8 a 10 animais, totalizando 56 animais, com aprovação do Comitê de Ética Animal da Universidade Federal de Pelotas, sob o nº CEUA 038596/2021-10.

### **Indução experimental de DM2, tratamento com *Bauhinia forficata* Link e coleta das amostras**

A DM foi induzida com estreptozotocina (STZ), 35mg/kg, administrada por via intraperitoneal, três semanas após o início da administração da dieta. Após 72 horas de indução, amostras de sangue foram coletadas da veia caudal e a glicose foi determinada por meio de um glicosímetro, com os animais em jejum de 4 horas. Animais com glicemia maior que 250 mg/dL foram considerados diabéticos e foram incluídos no estudo (MUSHTAQ, 2014).

O tratamento com extrato de *Bauhinia forficata*, 300mg/kg e metformina 250mg/kg, ocorreu diariamente, durante 4 semanas, por meio de gavagem, por via oral (1 mL/mg), enquanto os grupos CT receberam apenas água pura.

Ao final do período de tratamento, os animais foram eutanasiados após anestesia com Isoflurano e o sangue coletado por punção intracardíaca. O fígado, rim e pâncreas foram separados e usados para análises de perfil oxidativo.

### **Perfil Oxidativo**

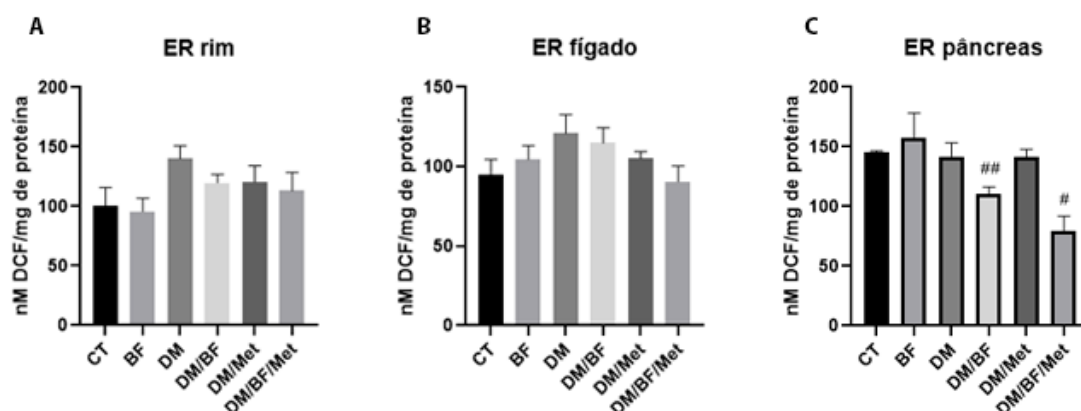
A formação de espécies reativas foi estimada de acordo com Ali et al. (1992). Os resultados foram expressos em nM DCF/mg de proteína para estruturas cerebrais.

O teor de ácido ascórbico foi determinado de acordo com Roe e Kuether (1953) com modificações. Os resultados foram expressos em µmol/mg de proteína.

## **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Como demonstrado na figura 1, a ação da BF sobre o níveis de espécies reativas nos tecidos renal e hepático indicam não haver diferenças significativas entre os grupos. No entanto, a produção de espécies reativas foi significativamente reduzida no tecido pancreático de ratos diabéticos tratados com BF ( $p<0,05$ ) e sobretudo na associação de BF/Met ( $p<0,01$ ), ambos comparados ao grupo DM.

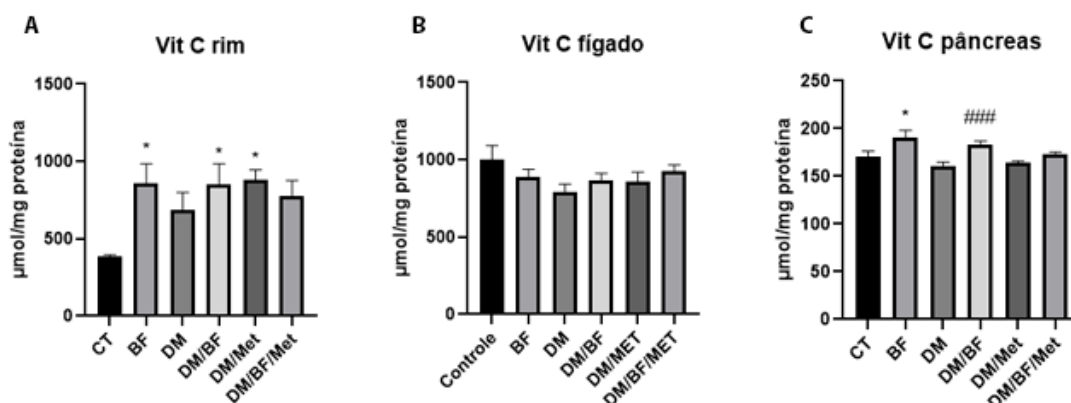
FIGURA 1: Efeito da BF sobre a níveis de ER em rim (A), em fígado (B), e em pâncreas (C).



Onde #, ## representam diferença significativa quando comparado ao DM. ( $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$ , respectivamente,  $n = 8-10$ )

Já na figura 2, pode-se observar efeito significativo da BF no teor de Vit C em tecido renal, aumentado nos grupos BF, DM/BF e DM/Met quando comparados ao grupo CT, enquanto no tecido hepático não houve diferença significativa e no tecido pancreático os grupos BF e DM/BF apresentaram teor significativamente aumentado, comparados ao grupo controle e ao grupo diabético.

**FIGURA 2: Efeito da BF sobre o teor de Vit C em rim (A), fígado (B), e pâncreas (C).**



A: \*, representa diferença significativa quando comparado ao CT ( $p < 0,05$ ). C: \*, ### representam diferença significativa, quando comparado ao CT e a DM ( $p < 0,05$  e  $p < 0,01$ , respectivamente,  $n = 8-10$ )

Quanto à produção de ER em rim e fígado, não houveram alterações significativas, diferentemente dos achados de Salgueiro e colaboradores (2013) que encontraram aumento no grupo STZ e STZ + BF comparado ao grupo controle, em ambos tecidos e o tratamento com a BF levando a um aumento em STZ + BF quando comparados ao STZ em fígado. Dessa forma, embora haja uma tendência ao aumento de ER em ambos os tecidos, pode-se supor que o dano causado pela indução da DM e o tratamento com BF não tiveram influência nos níveis de ER nestes órgãos.

Quanto aos resultados referentes ao teor de Vit C em rins e fígado, encontramos um aumento no tecido renal de animais controle tratados com BF e animais diabéticos tratados tanto com BF quanto Metformina, e nenhuma alteração significativa no tecido

hepático. Portanto, nosso estudo indica um potencial antioxidante do extrato de BF, tendo em vista que obtivemos aumento dos teores de Vit C em animais diabéticos tratados com o extrato. Contudo, ainda são necessários mais estudos para investigar a possível diferença de sensibilidade entre os tecidos.

Quanto aos achados em tecido pancreático, não foram encontrados na literatura estudos que tenham avaliado a capacidade antioxidante da planta. Nossos dados são promissores, já que indicaram que o extrato teve ação sobre ER, diminuindo seus níveis em ambos os grupos diabéticos tratados quando comparados com o grupo DM e aumentando os teores de Vit C nos animais diabéticos tratados somente com BF.

#### 4. CONCLUSÕES

Neste trabalho é possível demonstrar que a planta *Bauhinia forficata* Link possui um interessante potencial antioxidante. Assim, essa característica, principalmente no pâncreas, órgão altamente afetado pela diabetes, indica potenciais benefícios da planta, evitando a progressão da doença e suas comorbidades.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALI, S.F.; LEBEL, C.P.; BONDY, S.C. Reactive oxygen species formation as a biomarker of methylmercury and trimethyltin neurotoxicity. **Neurotoxicology**, v.13, n. 3, p. 637-48, 1992.
- 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.
- ROE, J.H.; KUETHER, C.A. The determination of ascorbic acid in whole blood and urine through the 2,4-dinitrophenylhydrazine derivate of dehydroascorbic acid. **J Biol Chem** 1953; 147: 399 - 407.
- TRUS, Aline D'oria. *Bauhinia forficata* Link (Leguminosae) no tratamento de diabetes. **Faculdades de Ciências Farmacêuticas**, Universidade de São Paulo, 2018.
- IGHODARO, O. M. Molecular pathways associated with oxidative stress in diabetes mellitus. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 108, p. 656–662, dez. 2018.
- PADAYATTY, S. J. et al. Vitamin C as an Antioxidant: Evaluation of Its Role in Disease Prevention. **Journal of the American College of Nutrition**, v. 22, n. 1, p. 18–35, fev. 2003.
- SALGUEIRO, A. C. F. Efeitos do chá de *Bauhinia forficata* (subsp. pruinosa) sobre o dano oxidativo induzido por altas concentrações de glicose em eritrócitos humanos e por estreptozotocina em camundongos. 2013.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Diabetes**. Disponível em: <<https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diabetes>>. Acesso em: 2 set. 2023.