*Acta Farm. Bonaerense* **21** (1): 31-6 (2002)
Recibido el 16 de mayo de 2001
Aceptado el 18 de octubre de 2001



# Efeito Protetor do *Syzygium cumini* contra Diabetes Mellitus induzido por Aloxano em Ratos

Andréia Maria ZANOELLO, Cinthia MELAZZO-MAZZANTI, Jéssica KERPEL GINDRI, Andreane FILAPPI, Danívia PRESTES & Marcelo CECIM *

*Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal, Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil*

*Departamento de Clínica de Grandes Animais, Universidade Federal de Santa Maria, RS. Brazil. 97105-900*

**RESUMO. A influência do uso profilático de S*yzygium cumini* sobre a eficiência diabetogênica do aloxano em ratos foi avaliada neste estudo. A infusão das folhas da planta foi oferecida como substituto da água, antes e durante a administração do aloxano. Após 16 dias de tratamento profilático a glicemia do grupo T estava significativamente maior que a do grupo C (p< 0,004). Sob estas condições foi realizada a indução do diabetes nos dois grupos experimentais. Os níveis glicêmicos do grupo T sofreram uma elevação de 49,86 ± 20,34 % em relação ao período anterior à indução. Esta taxa foi significativamente maior no grupo C (p< 0,03), atingindo um índice de 177,96 ± 47,30 %. Estes resultados indicam que a ingestão *ad libitum* de *Syzygium cumini* tem um efeito hiperglicemiante em ratos não-diabéticos e efeito protetor contra ação diabetogênica do aloxano.**

*SUMMARY.* "Protective Effect of *Syzygium cumini* Against Alloxan-induced Diabetes Mellitus in Rats". The study evaluated the effect of the prophylactic use of *Syzygium cumini* upon the diabetogenic efficiency of alloxan in rats. An infusion prepared with dried leaves of the plant was offered instead of water during 16 days prior to the administration of alloxan. After 16 days of treatment blood glucose was elevated in treated animals as compared to water fed controls (p< 0,004). After induction, blood glucose levels rose 49.86 ± 20.34% in treated animals and 177.96 ± 47.30% in the control group (p< 0.03). The results suggest that the *ad libitum* ingestion of the infusion has a hyperglycemic effect in non-diabetic rats and a protective effect against the diabetogenic action of alloxan.

## INTRODUÇÃO

O diabetes mellitus tipo 1 desenvolve-se quando mais de 90% das células β pancreáticas são destruídas, como resultado de um agressão química, viral ou auto-imune. A variabilidade na extensão da morte das células produtoras de insulina não é somente determinada pela severidade da condição citotóxica, mas também pela intensidade de mecanismos de defesa celular, que podem ser induzidos ou ativados nestas células pancreáticas. Os mecanismos deste efeito protetor ainda não estão completamente elucidados, mas podem envolver a geração de substâncias intracelulares que são depletadas durante o processo de injúria celular [1].

A indução experimental do diabetes mellitus em modelos animais permite a identificação de agentes terapêuticos e preventivos da moléstia, além de um estudo detalhado dos eventos bioquímicos, hormonais e morfológicos que ocorrem durante e após a indução do estado diabético. O aloxano é um dos agentes diabetogênicos mais comumente utilizados, por destruir especificamente as células β das ilhotas de Langerhans, quando em doses adequadas [2]. Segundo Malaisse *et al.* [3], essa citotoxicidade seletiva do aloxano é condicionada pela grande capacidade da célula β em acumular a droga, aliada ao fato desta célula demonstrar uma maior sensibilidade aos radicais peróxidos, quando comparada a outros tecidos. Heikkila *et al.* [4] sugeriram que a toxicidade do aloxano resulta da sua habilidade

PALAVRAS-CHAVE: Jambolão, Plantas medicinais, Prevenção do diabetes.
*KEY WORDS:* Diabetes prevention, Jamun, Medicinal plants.

* Autor para correspondência. E-mail: mcecim@lince.hcv.ufsm.br.

em gerar radicais de oxigênio altamente reativos que, segundo Abdel-Rahman *et al.* [5], afetam o metabolismo oxidativo da célula, com subsequente morte celular. Desconsiderando-se a natureza farmacológica do aloxano, o seu modo de ação é suficientemente geral para que outras substâncias, que ocorrem naturalmente, sejam diabetogênicas por mecanismos similares [6].

O desenvolvimento do diabetes mellitus induzido pelo aloxano pode ser prevenido através do tratamento prévio com diversas substâncias, que diminuem a susceptibilidade das células-alvo ao agente agressor. Uma dessas substâncias é a superóxido dismutase, potente enzima removedora de radicais livres, que age profilaticamente contra a citotoxicidade do aloxano sobre as células β, *in vitro* [5, 6] e *in vivo* [7]. Do mesmo modo, o cloreto de níquel também previne a hiperglicemia induzida pelo aloxano em ratos, devido a sua capacidade de aumentar a atividade da superóxido dismutase no pâncreas desses animais [8]. Por fim, Pipeleers & Van De Winkel [1] demonstraram que o grau de destruição das células β pancreáticas provocado pelo aloxano *in vitro* é reduzido em 80% pela adição de glicose ao meio, antes ou durante a exposição à droga.

*Syzygium cumini* (sinonímias: *Syzygium jambolanum, Eugenia jambolana* e *Myrtus cumini)* é uma árvore originária da Índia, pertencente à família das Mirtáceas e vulgarmente conhecida no Brasil como jambolão [9]. Essa planta é amplamente utilizada, tanto na medicina popular [9-13], como na terapêutica homeopática [14, 15], para o tratamento do diabetes mellitus. O efeito do *Syzygium cumini* sobre os níveis de glicose sanguínea vem sendo cientificamente avaliado, através de estudos realizados em animais com diabetes mellitus induzido por aloxano [16-18].

O mecanismo de ação dos componentes do *Syzygium cumini*, bem como suas possíveis inteirações ainda não estão esclarecidos. Contudo, Prince *et al.* [17] demonstraram que a planta possui propriedades antioxidantes, elevando a atividade das enzimas removedoras de radicais livres no fígado, rim e coração de ratos induzidos com aloxano e, desta forma, protege esses tecidos do estresse oxidativo gerado pela hiperglicemia diabética [19]. Além disso, alguns dos constituintes químicos, biologicamente ativos, da planta, como o eugenol [11], ácido gálico e tanino [12], possuem atividade antioxidante [20].

Uma vez que a ação de radicais livres está envolvida na gênese do diabetes mellitus experimental, e o *Syzygium cumini* demonstrou ser capaz de aumentar o potencial de defesa antioxidante, este estudo foi conduzido para investigar a capacidade desta planta em proteger as células β pancreáticas, reduzindo sua susceptibilidade ao efeito tóxico do aloxano e, desta forma, evitando o desenvolvimento do diabetes mellitus induzido em ratos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Animais*

O estudo foi realizado em 30 ratas adultas da linhagem Wistar, pesando entre 123 e 160 g e provenientes do Biotério Central da UFSM. A dieta sólida (SUPRA LAB, Alisul Ind. Alimentos Ltda, São Leopoldo, RS), bem como a hídrica (água ou infusão de Syzygium cumini), foram fornecidas *ad libitum*.

### *Indução do diabetes mellitus*

Os ratos receberam uma dose diária de 60 mg/kg de aloxano (alloxan monohydrate, Sigma-Aldrich Inc, St Louis, MO), diluído a 2% em solução de citrato 0,05 M, pH 4,5, por via intraperitoneal, durante três dias consecutivos [18]. Um período de 48 horas de restrição alimentar foi respeitado antes da primeira dose de aloxano ser administrada.

### *Material vegetal*

As folhas de *Syzygium cumini* foram coletadas em fevereiro de 2000, no município de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil), pelo biólogo Gilberto Zanetti (inscrito no "Cadastro Técnico Federal de Atividades e Instrumentos de Defesa Ambiental" com o número 4131/98, conforme exigência do Instituto Brasileiro de Amparo ao Meio Ambiente). Após foi realizada a determinação botânica destas folhas e, só então, a planta foi registrada no Herbário de Plantas Medicinais e Tóxicas do Departamento de Farmácia Industrial da UFSM, pela exsicata de número 130.

### *Preparação da infusão de Syzygium cumini*

A infusão foi obtida através da adição de 20 g de folhas secas e trituradas em 1 litro de água a 80 °C, conforme protocolo seguido por Soares *et al.* [18]. Esta solução permanecia em repouso até o completo resfriamento e então era filtrada e oferecida aos animais.

### *Determinação da glicose sanguínea*

Os níveis plasmáticos de glicose foram determinados através de teste enzimático colorimétrico (Glicose God Clin, Quibasa Química Básica Ltda, Belo Horizonte, MG), a partir de amostras

sanguíneas coletadas do plexo retro-orbitário, de animais em jejum sólido de 24 horas e sob anestesia inalatória em campânula com éter.

### *Análise estatística*

O teste t de Student não pareado foi utilizado para determinar as diferenças entre o grupo C e o grupo T nos diferentes momentos do estudo. O teste t de Student pareado foi utilizado para determinar as diferenças na glicemia, dentro do mesmo grupo, antes e após a indução do diabetes. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média.

### *Cronograma experimental*

Após um período de 7 dias de adaptação, os animais foram divididos, de forma aleatória, em dois grupos (C e T), numericamente iguais. Os ratos do grupo C receberam água e os do grupo T, chá das folhas *Syzygium cumini* como única fonte hídrica. A indução do diabetes mellitus foi realizada nos dias 17, 18 e 19, nos animais do grupo C e T. No dia 20 os animais do grupo T, assim como os do grupo C, passaram a ingerir somente água. O peso corporal e o consumo sólido diário foram avaliados nos dias 1, 15 e 22. A glicemia de jejum foi avaliada nos dias 16 e 23 do experimento.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Após a ingestão *ad libitum* do chá de *Syzygium cumini* durante 16 dias, os níveis glicêmicos dos ratos do grupo T eram significativamente maiores ($p < 0,004$) que aqueles apresentados pelo grupo C, que não ingeriu a infusão durante esta fase do tratamento (Tabela 1). Uma vez que os valores normais da glicemia, em ratos, variam entre 47,7 a 107 mg/dl, pode-se observar que a ingestão da infusão da planta demonstrou elevar os níveis glicêmicos do grupo T a valores próximos ao limite fisiológico máximo definido para a espécie.

| Glicemia de jejum (mg/dl) | Grupo C | | Grupo T | |
|---|---|---|---|---|
| | Pré-indução | Pós-indução | Pré-indução | Pós-indução |
| Média | 73,83 a | 192,67 b **** | 112,00 c *** | 145,75 d * |
| Erro padrão da média | ± 4,72 | ± 33,45 | ± 11,46 | ± 10,71 |
| Variação (%) | | 177,96 e | | 49,86 f ** |
| Erro padrão da média | | ± 47,30 | | ± 20,34 |

**Tabela 1**. Níveis de glicose sanguínea de ratos que receberam água (grupo C) ou *Syzygium cumini* (grupo T) durante 16 dias, previamente a administração de aloxano, e 4 dias após a indução do diabetes mellitus. * ($p < 0,04$) c *vs* d. Teste t pareado. ** ($p < 0,02$) e *vs* f. Teste t não pareado. *** ($p < 0,004$) a *vs* c. Teste t não pareado. **** ($p < 0,001$) a *vs* b. Teste t pareado.

A administração de *Syzygium cumini* reduz a hiperglicemia induzida por aloxano em ratos, tanto em doses homeopáticas [16], quanto em doses alopáticas [17,18] . Contudo, a sua influência sobre a glicemia de animais não-diabéticos não foi avaliada em nenhum desses experimentos. Por outro lado, *Syzygium cumini* é capaz de provocar o aparecimento de sinais clínicos indicativos de diabetes, quando ingerido em doses abundantes e concentradas [14]. Considerando-se esses dados, a elevação da glicemia de jejum, no grupo T deste experimento, para valores próximos aos fisiológicos máximos, poderia ser justificada. Entretanto, Soares *et al.* [18] demonstraram que a ingestão do chá de *Syzygium cumini*, na mesma concentração utilizada neste estudo, e também *ad libitum* e durante 16 dias, tem efeito hipoglicemiante em animais diabéticos.

Os níveis de hiperglicemia provocada pela administração diária de 60 mg/kg de aloxano, durante 3 dias consecutivos, nos grupos C e T deste estudo, estão mostrados na Tabela 1. No quarto dia após o término da aplicação da droga, os níveis de glicose sanguínea estavam significativamente aumentados, tanto no grupo C ($p < 0,001$) quanto no grupo T ($p < 0,04$), quando comparados àqueles apresentados por estes animais antes do uso de aloxano. Contudo, a diferença percentual desta elevação foi significativamente maior ($p < 0,02$) no grupo C (177,96 %), quando comparado ao grupo T (49,86%).

Os níveis de hiperglicemia induzidos pelo aloxano, tanto no grupo C, quanto no grupo T deste experimento podem ser considerados baixos, quando comparados a graus de hiperglicemia mais severos já obtidos com o uso desta droga [7,8,17]. Esta menor severidade pode ser explicada em virtude das diferenças entre o protocolos de indução do diabetes utilizados. Grankvist *et al.* [7] e Soares *et al.* [18] demonstraram que o grau de destruição das células β produtoras de insulina e, portanto, a severidade da hiperglicemia induzida em ratos pelo aloxano, é dose-dependente. Entretanto, Pipeleers & Van De Winkel [1] verificaram que as células β das ilhotas de Langerhans possuem mecanismos de defesa capazes de reduzir a sua susceptibilidade a um agente diabetogênico em particular ou ao processo de destruição em geral. Segundo esses autores, a geração de substâncias intracelulares, que são consumidas durante o processo agressivo, estimula as células β a neutralizarem o dano tóxico. A administração profilática de enzimas antioxidantes, cuja atividade se encontra diminuída após o uso de aloxano [5,17], tem efeito protetor, impedindo o desenvolvimento do diabetes mellitus aloxano-induzido [5-7].

O *Syzygium cumini*, assim como o cloreto de níquel, aumenta a atividade das enzimas removedoras de radicais livres, normalizando sua ação em diversos tecidos de ratos diabéticos [8,17]. Desta forma, a administração da planta, antes do uso de aloxano poderia ter diminuído a susceptibilidade das células β à toxicidade deste agente tóxico neste estudo, da mesma maneira que o cloreto de níquel diminuiu, em estudo realizado por Novelli *et al.* [8]. Essas considerações poderiam justificar a menor eficiência diabetogênica do aloxano, verificada pela menor capacidade deste agente elevar os níveis de glicose sanguínea no grupo T, quando comparado ao grupo C deste experimento.

Por outro lado, a glicose possui a capacidade de ativar os mecanismos de defesa celular, aumentando a sobrevivência das células produtoras de insulina, após administração de aloxano, possivelmente por prevenir a oxidação celular que ocorre imediatamente após a exposição das células β a essa droga [1]. Os níveis de glicose sanguínea de jejum nos ratos do grupo T atingiram o limite fisiológico máximo no dia anterior à indução do diabetes, e eram significativamente maiores que os do grupo C, o que poderia ter minimizado o efeito tóxico do aloxano no grupo tratado com *Syzygium cumini.*

A variação no consumo sólido diário e no peso corporal nos animais do grupo C e T, durante a realização do experimento, é demonstrada na Tabela 2. O peso corporal dos ratos do grupo C e T não apresentou diferença significativa, quando avaliado nos dias 1 e 15 do experimento, portanto antes da administração do aloxano. Os animais de ambos os grupos aumentaram de peso durante estas duas primeiras semanas do estudo, independentemente da ingestão de água ou do chá de *Syzygium cumini.* Contudo, no dia 22 do experimento, três dias após a indução do diabetes mellitus, o peso corporal do Grupo T era significativamente maior ($p < 0,02$) que o do Grupo C. Os animais do grupo C apresentaram perda de peso após a administração do aloxano, um sinal clínico clássico do diabetes. Por outro lado, os ratos do grupo T mantiveram o peso corporal do período anterior ao da indução do estado diabético, o que poderia ser justificado pela menor severidade da hiperglicemia apresentada por este grupo.

| Grupo | Dias | Peso corporal (g) | | Consumo sólido (g) | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | M | EPM | M | EPM |
| C | 1 | 142,20 | ± 2,70 | 17,4 | ± 5,14 |
| T | 1 | 143,67 | ± 3,16 | 16,7 | ± 0,87 |
| C | 15 | 170,73 | ± 3,07 | 17,7 c | ± 0,46 |
| T | 15 | 176,53 | ± 2,73 | 20,0 d ** | ± 0,81 |
| C | 22 | 164,73 a | ± 4,07 | 20,1 | ± 0,27 |
| T | 22 | 177,50 b * | ± 3,37 | 19,85 | ± 0,82 |

**Tabela 2**. Peso corporal e consumo sólido individual de ratos que receberam água (Grupo C) ou *Syzygium cumini* (Grupo T), antes (dias 1 e 15) e após (dia 22) a indução do diabetes mellitus. M= Média. EPM= Erro Padrão da Média. * ($p < 0,02$) a vs b. Teste t não pareado. ** ($p < 0,007$) c *vs* d. Teste t não pareado.

A única diferença significativa detectada no consumo sólido diário entre os grupos C e T foi no dia 15 do experimento, quando os ratos do grupo T consumiram uma maior quantidade de ração quando comparado ao grupo C ($p < 0,007$). Da mesma forma que a elevação na glicemia, o aumento do apetite também é outro sinal clínico do diabetes mellitus que, segundo Quezada [14], pode ser induzido pelo *Syzygium cumini*. Assim sendo, este resultado poderia ser justificado pela ingestão ad libitum da infusão das folhas da planta pelo grupo C durante um período de 15 dias.

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos no presente estudo, pode-se concluir que a ingestão do chá das folhas de *Syzygium cumini* tem um efeito protetor contra a ação diabetogênica do aloxano. A planta possui um efeito hiperglicemiante em ratos não-diabéticos, no entanto, não se pode afirmar que o efeito protetor do *Syzygium cumini* foi induzido pela elevação na glicemia provocada pela planta em ratos normais.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS


1. Pipeleers, D. & M. Van De Winkel (1986) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **83**: 5267-71.
2. Mendez, J.D. & H.G. Ramos (1994) *Arch. Med. Res.* **25**: 367-75.
3. Malaisse, W.J., F. Malaisse-Lagae, A. Sener & D.G. Pipeleers (1982) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **79**: 927-30.
4. Heikkila, R.E., B. Winston, G. Cohen & H. Barden (1976) *Biochem Pharmacol.* **25**: 1085-92.
5. Abdel-Rahman, M.S., F.I. Elrakhawy & F.A. Iskander (1992) *Toxicol. Lett.* **63**: 155-64.
6. Grankvist, K., S. Marklund, J. Sehlin & I.B. Täljedal (1979) *Biochem. J.* **182**: 17-25
7. Grankvist, K., S. Marklund & I.B. Taljedal (1981) *Nature* **294**: 158-60.
8. Novelli, E.L.B., N.L. Rodrigues & B.O. Ribas (1988) *Brazilian J. Med. Biol. Res.* **21**: 129-32.
9. Cruz, G.L. (1995) *"Dicionário das plantas úteis do Brasil"*, 5 ed., Bertrand Brasil, Rio de Janeiro, pág. 397.
10. Brahmachari, H.D. & K.T. Augusti (1961) *J. Pharm. Pharmacol.* **13**: 381-2.
11. Albuquerque, J.M. (1989) *"Plantas medicinais de uso popular"*, ABEAS/MEC, Brasília, pág. 63.
12. Kapoor, L.D. (1990) *"Handbook of Ayurvedic medicinal plants"*, CRC Press, Boca Raton, págs. 179-80.
13. Teixeira, C.C., R.M. Blotta, A.P. Costa, D.G. Müssnich, G.G. Ranquetat & F.D. Fuchs (1992) *Fitoterapia* **63***: 320-2*.
14. Quezada, R.M. (1987) *Homeopatía Mex.* **506**: 2-6.
15. Hoare, J. (1992) Homeopatía Mex. 559: 26-8.
16. Flores, R.L., J.T. Gómez, S.G. Tena, M.C. Jiménez, P.F. Servín & C.H. Chanona (1988) *Homeopatía Mex.* **521**: 10-20.
17. Prince, P.S.M., V.P. Menon & L. Pari (1998) *J. Ethnopharmacol.* **61**: 1-7.
18. Soares, J.C.M., S.T. Costa & M. Cecim (2000) *Ciência Rural* **30**: 113-8.
19. Hunt, J.V., R.T. Dean & S.P. Wolff (1988) *Biochem. J.* **256**: 205-12 .
20. Duke, J.A. (1992) "Handbook of biologically active phytochemicals and their activities", CRC Press, Boca Raton, págs. 1-159.
21. Kaneko, J.J., J.W. Harvey, M.L. Bruss (1997) *"Clinical biochemistry of domestic animals"*, 5ª ed., Academic Press, San Diego, pág. 896.