

Tratamento crônico com extrato hidroalcoólico de *Plathymenia reticulata* promove hiperplasia de ilhotas e controle glicêmico em ratos diabéticos

Chronic treatment with hydroalcoholic extract of *Plathymenia reticulata* promotes islet hyperplasia and improves glycemic control in diabetic rats

Fernanda Oliveira Magalhães¹, Elizabeth Uber-Bucek¹, Patricia Ibler Bernardo Ceron¹, Thiago Fellipe Name¹, Humberto Eustáquio Coelho¹, Claudio Henrique Gonçalves Barbosa¹, Tatiane Carvalho¹, Milton Groppo²

¹ Universidade de Uberaba, Uberaba, MG, Brasil.

² Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, SP, Brasil.

DOI: 10.31744/einstein_journal/2019A04635

RESUMO

Objetivo: Avaliar o efeito anti-hiperglicêmico do extrato hidroalcoólico de *Plathymenia reticulata*, alterações no peso, lipídeos e efeito sobre o pâncreas. **Métodos:** O diabetes foi induzido pela administração de estreptozotocina 65mg/kg, em 75 ratos Wistar adultos machos, divididos em 8 grupos diferentes: ratos diabéticos e controle + água, ratos diabéticos e controle + 100mg/kg ou 200mg/kg de extrato, ratos diabéticos e controle + gliburida. O tratamento foi realizado por gavagem (oral) por 30 dias. Níveis de glicose e peso foram verificados semanalmente. Os animais foram sacrificados, e amostras de lipídeos e do pâncreas foram analisadas. A análise estatística incluiu ANOVA, *post-hoc* Tukey-Kramer, teste *t* de Student pareado e teste do χ^2 , com nível de significância de 5%. **Resultados:** O extrato 100mg/kg promoveu redução nos níveis de glicose sanguínea em ratos diabéticos na segunda, terceira (198,71±65,27 *versus* 428,00±15,25) e quarta semanas (253,29±47,37 *versus* 443,22±42,72), perda de peso (13,22±5,70 *versus* 109,60±9,95) e diminuição do colesterol (58,75±3,13 *versus* 80,11±4,01) em ratos controle. Com extrato de 200mg/kg, houve redução dos níveis de glicose na quarta semana, nos ratos diabéticos; de peso na segunda, terceira e quarta semanas, nos ratos controle; e de colesterol nos animais diabéticos e controle. Ocorreram hiperplasia de ilhotas ($p=0,005$) e dilatação dos ductos pancreáticos ($p=0,047$) em ratos diabéticos e controles. **Conclusão:** O extrato de *Plathymenia* reduziu os níveis de glicose em ratos diabéticos e de peso em ratos controle, além de ter promovido hiperplasia de ilhotas pancreáticas em diabéticos e controles.

Descritores: *Plathymenia reticulata*; *Diabetes mellitus*; Estreptozocina; Ilhotas pancreáticas; Extratos vegetais; *Fabaceae*; Pâncreas

ABSTRACT

Objective: To investigate the anti-hyperglycemic effects of *Plathymenia reticulata* hydroalcoholic extract and related changes in body weight, lipid profile and the pancreas. **Methods:** Diabetes was induced in 75 adult male Wistar rats via oral gavage of 65mg/Kg of streptozotocin. Rats were allocated to one of 8 groups, as follows: diabetic and control rats treated with water, diabetic and control rats treated with 100mg/kg or 200mg/kg of plant extract, and diabetic and control rats treated with glyburide. Treatment consisted of oral gavage for 30 days. Blood glucose levels

Como citar este artigo:

Magalhães FO, Uber-Bucek E, Ceron PI, Name TF, Coelho HE, Barbosa CH, et al. Tratamento crônico com extrato hidroalcoólico de *Plathymenia reticulata* promove hiperplasia de ilhotas e controle glicêmico em ratos diabéticos. *einstein* (São Paulo). 2019;17(3):eAO4635. http://dx.doi.org/10.31744/einstein_journal/2019A04635

Autor correspondente:

Fernanda Oliveira Magalhães
Avenida Nenê Sabino, 1.801
Bairro Universitário
CEP: 38055-500 – Uberaba, MG, Brasil
Tel.: (34) 3319-8933
E-mail: fernanda.magalhaes@uniube.br

Data de submissão:

29/6/2018

Data de aceite:

8/4/2019

Conflitos de interesse:

não há.

Copyright 2019



Esta obra está licenciada sob
uma Licença *Creative Commons*
Atribuição 4.0 Internacional.

and body weight were measured weekly. Animals were sacrificed and lipid profile and pancreatic tissue samples analyzed. Statistical analysis consisted of ANOVA, post-hoc Tukey-Kramer, paired Student's *t* and χ^2 tests; the level of significance was set at 5%. **Results:** Extract gavage at 100mg/kg led to a decrease in blood glucose levels in diabetic rats in the second, third (198.71 ± 65.27 versus 428.00 ± 15.25) and fourth weeks (253.29 ± 47.37 versus 443.22 ± 42.72), body weight loss (13.22 ± 5.70 versus 109.60 ± 9.95) and lower cholesterol levels (58.75 ± 3.13 versus 80.11 ± 4.01) in control rats. Extract gavage at 200mg/Kg led to a decrease in glucose levels on the fourth week in diabetic rats, body weight loss in the second, third and fourth weeks in control rats, and lower cholesterol levels in diabetic and control rats. Islet hyperplasia ($p=0.005$) and pancreatic duct dilation ($p=0.047$) were observed in diabetic and control rats. **Conclusion:** *Plathymenia* extract reduced blood glucose levels in diabetic rats, and body weight in control rats, and promoted pancreatic islet hyperplasia in diabetic and control rats.

Keywords: *Plathymenia reticulada*; *Diabetes mellitus*; Streptozocin; Islets of langerhans; Plant extracts; *Fabaceae*; Pancreas

INTRODUÇÃO

Diabetes mellitus, uma das doenças crônicas mais comuns no mundo, afeta mais de 245 milhões de pessoas e representa a quarta ou quinta principal causa de óbito em países em desenvolvimento. O número mundial de casos de *diabetes mellitus* chegou a 135 milhões em 1995, e 415 milhões em 2015, devendo atingir 642 milhões em 2040, sendo dois terços dos afetados residentes de países em desenvolvimento.⁽¹⁾ No Brasil, houve aumento de 61,8% no número de casos diagnosticados ao longo de 10 anos.⁽²⁾

O aumento da sobrevivência dos indivíduos diabéticos trouxe maior risco de complicações crônicas associadas ao tempo de exposição à hiperglicemia. Tais complicações podem ser debilitantes para os indivíduos afetados, comprometendo a longevidade e a qualidade de vida, além de onerar o sistema de saúde.⁽³⁾

Sabe-se que diversos extratos vegetais são capazes de reduzir os níveis sanguíneos de glicose em animais, e a grande diversidade de classes de compostos químicos sugere o envolvimento de diversos modos de ação. Apesar do potencial valor terapêutico de algumas dessas substâncias em alguns casos, em outros a hipoglicemia pode ser um efeito colateral da toxicidade, principalmente da hepatotoxicidade.^(4,5)

Plathymenia reticulata Benth, da família *Leguminosae*, é uma planta típica do Cerrado, rica em compostos fenólicos, como taninos e flavonoides. Os taninos hidrolisáveis são capazes de inibir o desenvolvimento de insetos, fungos e bactérias.⁽⁶⁾ Os flavonoides são substâncias abundantes na natureza, e sua importância deriva de efeitos biológicos, como atividade antimicrobiana e cardiovascular.⁽⁷⁾

A planta popularmente conhecida como vinhático, uma árvore pertencente ao gênero *Plathymenia Benth*, foi estudada, e duas espécies foram descritas: *P. reticulata Benth* (vinhático do campo) e *Plathymenia foliolosa Benth* (vinhático da floresta).⁽⁸⁾ Existe ainda uma terceira espécie, *Plathymenia modest Burk*, que cresce na Argentina, segundo Rizzini.⁽⁹⁾ Segundo Corrêa et al.,⁽¹⁰⁾ o sinônimo científico de *P. reticulata Benth* é "*Chrysoxylon vinhatico casar*". Entretanto, para Antezana,⁽¹¹⁾ *P. reticulata Benth* seria *P. foliolosa Benth*.

As características químicas de *P. reticulata* foram associadas à atividade anti-inflamatória;⁽⁶⁾ além disso, dois diterpenos cassânicos foram descritos,⁽¹²⁾ assim como a atividade antimicrobiana. A fração definida como rica em taninos condensados (CTPr) constitui boa fonte de inibidores naturais da inflamação local induzida por veneno de serpente.⁽¹³⁾ A inibição de 84,7% dos estafilococos pelo extrato hidroalcoólico de *P. reticulata* na concentração de 0,625mg/mL foi relatada.⁽¹⁴⁾ Apesar do emprego desse extrato vegetal no tratamento do diabetes na medicina popular, seu potencial hipoglicemiante não foi comprovado cientificamente.

OBJETIVO

Avaliar o efeito anti-hiperglicêmico do extrato hidroalcoólico de *Plathymenia* e alterações de peso corporal, perfil lipídico e pancreáticas relacionadas.

MÉTODOS

Este estudo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA 002/2011). Foram utilizados 75 ratos machos adultos jovens da linhagem Wistar, pesando entre 180 e 220g e provenientes do biotério da Universidade de Uberaba. Os animais foram mantidos em ambiente com temperatura controlada (22° a 25°C) e receberam ração e água à vontade. Após um período de adaptação de 10 dias, os animais foram alocados aleatoriamente em diferentes grupos experimentais.

Indução do diabetes

Após jejum de 24 horas, os animais receberam 65mg/kg de uma solução aquosa de estreptozotocina pela via intraperitoneal, que foi previamente preparada com 10mmol/L de tampão de citrato de sódio (pH 4,5).^(15,16) O monitoramento dos níveis glicêmicos teve início 7 dias após a indução do diabetes, por meio de amostras sanguíneas coletadas da veia caudal com Accu-Chek Performa. O diabetes foi definido como a perda de peso associada à glicemia de jejum superior a 200mg/dL.

Estudo da planta

Coleção e identificação botânica

As amostras empregadas no preparo de exsicatas destinadas à identificação botânica e das entrecascas do caule secundário destinadas aos testes farmacológicos foram obtidas de um espécime de *P. reticulata Benth* (família *Leguminosae*, subfamília *Mimosoideae*), tendo sido coletadas no mês de setembro (mês de floração) de 2006, na seguinte localização geográfica: 15° 47' 16,65" S e 48° 33' 26,96" (Google Earth, 2010), distrito de Edilândia, Município de Cocalzinho (GO), Brasília, Distrito Federal. O espécime-testemunha foi preparado de acordo com métodos padrão de herborização^(17,18) e armazenado no herbário do Departamento de Biologia da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (USP), número de registro 13120 SPFR, coletor e número M. Groppo 2073.(b)

Preparo do extrato da planta

Os extratos foram preparados a partir de entrecascas previamente selecionadas e fragmentadas, por extração com solução alcoólica (70°C, temperatura ambiente). O extrato foi seco a vapor e ressuspenso em água destilada nas concentrações de 100 e 200mg de vegetal/mL para fins de testes farmacológicos.

Controle farmacognóstico do material vegetal e respectivo extrato

Os testes foram realizados de acordo com a quarta edição da Farmacopeia Brasileira⁽¹⁹⁾ e com Simões et al.⁽²⁰⁾ O controle farmacognóstico consistiu dos seguintes testes: teor de cinzas, acidez das cinzas, teor de umidade, substâncias voláteis totais, teor de substâncias passíveis de extração por etanol, teor de lipídeos e resinas, determinação da densidade e pH dos extratos, teor de matéria seca do extrato e da planta medicinal e confirmação da presença de grupos químicos (saponinas, fenóis, taninos e flavonoides) por meio de reações físico-químicas e colorimétricas, segundo descrições constantes nas referências bibliográficas.

Tratamento dos animais

Os animais utilizados no estudo foram distribuídos em oito grupos: animais diabéticos e não diabéticos tratados com extrato hidroalcoólico na dose de 100mg/kg (D100 e C100) ou 200mg/kg (D200 e C200), ou gliburida na dose de 600mcg/Kg (DG e CG), e animais diabéticos e não diabéticos não tratados (CD e CC – administração oral de água). A administração de extrato vegetal ou água (controles) foi mantida por 30 dias.

Dosagem de glicose sanguínea e aferição do peso corporal

As dosagens de glicose sanguínea foram realizadas semanalmente por meio de amostras coletadas da veia caudal com Accu-Chek Performa, após jejum mínimo de 12 horas. O peso corporal foi aferido e registrado antes do procedimento descrito.

Sacrifício dos animais

No trigésimo e último dia de tratamento, todos os animais (63) foram submetidos a jejum de 12 hora e, então, anestesiados com tiopental sódico (50mg/kg) pela via intraperitoneal. Os órgãos abdominais e torácicos foram removidos em bloco, e o sangue foi coletado por punção cardíaca ou da veia cava inferior com seringa de 10mL e agulha calibre 25×8. As amostras de sangue foram transferidas para tubos secos e centrifugadas a 4.500rpm por 15 minutos. Após a centrifugação, o soro foi transferido para outro tubo para dosagem de colesterol-lipoproteína de alta densidade (HDL-c), colesterol total e triglicérides por meio de kits comerciais (LABTEST). Os testes foram realizados no setor de bioquímica do Laboratório de Análises Clínicas da Universidade de Uberaba, em Uberaba (MG).

Anatomopatológico

As amostras de órgãos torácicos e abdominais foram preservadas em formalina a 10% e enviadas para o Laboratório de Patologia Animal do Hospital Veterinário de Uberaba, para fins de confecção das lâminas. As amostras foram cortadas para obter fragmentos de pâncreas de aproximadamente 1cm³. Após o corte, cada fragmento foi fixado em formalina a 10% enviado para o Laboratório de Histologia da Universidade de Uberaba. Para confecção das lâminas, as amostras foram desidratadas em concentrações crescentes de álcool (até 100%), imersas em solução de xileno para branqueamento e colocadas em blocos de parafina. Cortes de 6µm foram realizados com micrótomo. As amostras foram reidratadas, coradas com hematoxilina-eosina (HE), desidratadas, clareadas, cobertas com resina e protegidas por lamínula para leitura.

Análise estatística

Os dados foram colocados na base de dados do *Statistical Package for Social Science* (SPSS), versão 14.0. Os resultados foram expressos como média ± erro padrão da média (EPM). As análises entre os grupos foram baseadas na análise de variância (ANOVA) e no teste (*post-hoc*) de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. As aná-

lises intragrupo foram realizadas empregando-se o teste *t* de Student para dados pareados. Os achados anatomopatológicos foram submetidos ao teste χ^2 ou ao teste de Fischer, se necessário. O nível de significância adotado foi de alfa igual a 5%.

RESULTADOS

Houve redução significativa dos níveis glicêmicos no grupo de animais diabéticos tratados com 100mg/kg de extrato hidroalcoólico (D100) em relação ao grupo animais diabéticos não tratados (DC) na segunda semana de tratamento (DC com $374,78 \pm 32,77$ mg/dL versus D100 com $246,22 \pm 45,33$ mg/dL; $p=0,039$), efeito esse que se manteve na terceira (DC com $428,00 \pm 15,25$ mg/dL versus D100 com $198,71 \pm 65,27$ mg/dL; $p=0,005$) e na quarta (DC com $443,22 \pm 42,72$ mg/dL versus D100 com $253,29 \pm 47,37$ mg/dL; $p=0,021$) semanas de tratamento. O tratamento com 200mg/kg de extrato hidroalcoólico (D200) também promoveu redução significativa nos níveis glicêmicos nos animais diabéticos (DC com $443,22 \pm 42,72$ mg/dL versus D200 com $201,00 \pm 66,97$ mg/dL; $p=0,013$), porém somente após 4 semanas de tratamento. A alteração média dos níveis sanguíneos de glicose durante o experimento (ou seja, a diferença entre glicemia final e glicemia inicial) foi significativamente menor no grupo D200 do que no

controle ($-243,50 \pm 92,66$ mg/dL e $87,77 \pm 64,01$ mg/dL; $p=0,012$) (Tabela 1).

A análise da variação intragrupo em animais diabéticos mostra que a dose de 100mg/kg promoveu redução dos níveis glicêmicos em relação aos níveis iniciais na primeira semana ($t=3,254$; $p=0,010$), enquanto a dose de 200mg/kg promoveu redução na segunda semana em relação à primeira ($t=2,609$; $p=0,048$) e na quarta em relação à terceira ($t=2,815$; $p=0,067$) semana de tratamento. Não houve redução nos animais tratados com gliburida ou água – controles (Figura 1).

Os dados da tabela 2 mostram que o tratamento de ratos não diabéticos com 100mg/kg de extrato hidroalcoólico (C100) promoveu queda significativa dos níveis glicêmicos nesses animais em relação aos controles na primeira (CC com $93,60 \pm 2,68$ mg/dL versus C100 com $81,20 \pm 1,94$ mg/dL; $p=0,006$), segunda (CC com $102,60 \pm 2,31$ mg/dL versus C100 com $80,80 \pm 4,84$ mg/dL; $p=0,014$) e quarta (CC com $93,10 \pm 3,61$ mg/dL versus C100 com $74,33 \pm 1,31$ mg/dL; $p=0,001$) semanas de tratamento. O tratamento com 200mg/kg de extrato hidroalcoólico (C200) levou a uma redução significativa dos níveis glicêmicos na quarta semana (CC com $93,10 \pm 3,61$ mg/dL versus C200 com $74,83 \pm 8,41$ mg/dL; $p=0,055$).

A análise da variação intragrupo em animais não diabéticos mostrou redução dos níveis sanguíneos de

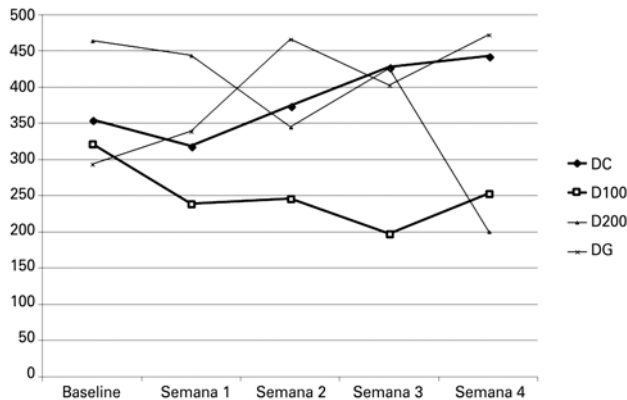
Tabela 1. Análise da glicose sanguínea, peso corporal e perfil lipídico nos animais diabéticos tratados com extrato hidroalcoólico nas doses de 100 (D100) e 200mg/kg (D200) ou gliburida (DG) por quatro semanas, comparados com os animais controle (CD)

	CD	D100	D200	DG	Valor de p
Glicemia					
Valor inicial	355,44±25,83 (n=9)	322,90±14,09 (n=10)	464,00±22,49 (n=8)	294,56±24,07 (n=9)	0,009
1ª semana	319,00±43,85 (n=9)	239,50±29,27 (n=10)	444,38±23,73 (n=8)	339,29±43,29 (n=7)	0,362
2ª semana	374,78±32,77 (n=9)	246,22±45,33 [†] (n=9)	345,83±18,11 (n=6)	466,14±17,02 (n=7)	0,039
3ª semana	428,00±15,25 (n=9)	198,71±65,27* (n=9)	426,00±9,73 (n=5)	403,71±60,56 (n=7)	0,005
4ª semana	443,22±42,72 (n=9)	253,29±47,37 [†] (n=9)	201,00±66,97* (n=4)	472,67±32,31 (n=6)	0,021; 0,013
Variação da glicemia	87,77±64,01 (n=9)	-73,28±45,13 (n=9)	-243,50±92,66* (n=4)	199,16±52,84 (n=6)	0,012
Peso					
Peso inicial	188,44±7,59 (n=9)	210,60±8,11 (n=10)	185,00±2,84 (n=8)	191,11±4,96 (n=9)	0,086
1ª semana	193,88±8,19 (n=9)	198,00±9,45 (n=10)	167,63±5,30 (n=8)	198,63±10,42 (n=8)	0,189
2ª semana	213,78±11,42 (n=9)	191,56±11,61 (n=9)	165,17±3,04 [†] (n=6)	210,14±14,19 (n=7)	0,037
3ª semana	205,44±15,28 (n=9)	182,88±12,43 (n=8)	164,00±3,67 (n=5)	211,50±18,15 (n=6)	0,156
4ª semana	207,56±14,71 (n=9)	196,14±14,51 (n=7)	165,40±3,84 (n=5)	197,83±19,80 (n=6)	0,322
Variação de peso	19,11±11,63 (n=9)	-10,28±7,71 (n=7)	-19,40±6,73 (n=5)	9,66±13,93 (n=6)	0,080
Lpídeos					
Colesterol total	84,22±7,26 (n=9)	62,28±2,93 [†] (n=7)	52,40±5,83* (n=5)	87,40±5,76 (n=5)	0,053; 0,008
HDL-c	44,33±4,70 (n=9)	19,86±3,33* (n=7)	21,60±4,24* (n=5)	40,33±5,23 (n=5)	0,002; 0,011
LDL-c	32,78±4,01 (n=9)	33,57±4,18 (n=7)	23,80±1,83 (n=5)	38,40±5,57 (n=5)	0,219
Triglicérides	34,89±6,31 (n=9)	46,43±4,29 (n=7)	34,00±4,92 (n=5)	50,60±22,62 (n=5)	0,599

Resultados expressos como média e erro padrão da média (análise de variância, *post-hoc* Tukey). * $p<0,01$; [†] $p<0,05$.

glicose em relação aos valores iniciais na primeira semana ($t=2,594$; $p=0,029$) e entre a quarta e a terceira semanas ($t=3,690$; $p=0,006$) de tratamento com 100mg/kg de extrato (Figura 2).

O efeito sobre o ganho de peso dos animais também foi avaliado. O tratamento com 100mg/kg (D100) ou 200mg/kg (D200) do extrato hidroalcoólico não promoveu ganho significativo de peso corporal nos animais diabéticos, exceto na segunda semana de administração



Análise intragrupo: teste t de Student para dados pareados. * $p<0,05$; † $p<0,01$.

Figura 1. Níveis glicêmicos em animais diabéticos tratados com extrato hidroalcoólico de *Plathymenia reticulata* nas doses de 100mg/kg (D100) e 200mg/kg (D200), com glibenclâmida (DG) e água (DC)

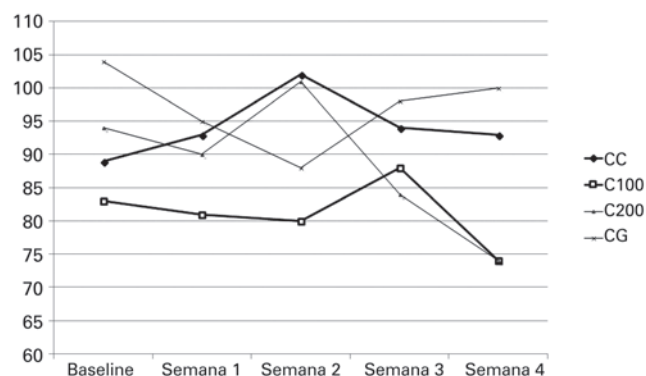
de 200mg/kg extrato (DC com $213,78\pm 11,42$ versus D200 com $165,17\pm 3,04$; $p=0,037$). Também não houve variação significativa de peso (peso final menos peso inicial) nos animais diabéticos (Tabela 1). Em contrapartida, observou-se que o tratamento de animais não diabéticos com 200mg/kg de extrato hidroalcoólico (C200) promoveu redução significativa do ganho natural de peso nesses animais ao longo da segunda (CC com $273,20\pm 9,21g$ versus C200 com $225,17\pm 9,42g$; $p=0,018$), terceira (CC com $292,60\pm 10,36g$ versus C200 com $242,83\pm 7,23g$; $p=0,003$) e quarta (CC com $310,80\pm 11,00g$ versus C200 com $241,60\pm 12,60g$; $p<0,001$) semanas de tratamento. Além disso, não houve diferença significativa de ganho total de peso nos grupos tratados com 100 ou 200mg/kg de extrato (CC com $109,60\pm 9,95g$ versus C100 com $13,22\pm 5,70g$ versus C200 com $29,00\pm 9,08g$; $p<0,001$) (Tabela 2).

O tratamento de animais diabéticos com 100mg/kg de extrato promoveu redução significativa do colesterol total (DC com $84,22\pm 7,26mg/dL$ versus D100 com $62,28\pm 2,93mg/dL$; $p=0,053$) e HDL-c (DC com $44,33\pm 4,70mg/dL$ versus D100 com $19,86\pm 3,33mg/dL$; $p=0,002$) (Tabela 1). Nos animais não diabéticos, houve queda do colesterol total (CC com $80,11\pm 4,01mg/dL$ versus C100 com $58,75\pm 3,13mg/dL$; $p=0,01$) e do HDL-c (CC com $37,60\pm 3,75mg/dL$ versus C100 com $20,86\pm 1,33mg/dL$; $p=0,005$) (Tabela 2).

Tabela 2. Análise dos níveis glicêmicos, peso corporal e perfil lipídico nos animais não diabéticos tratados com extrato hidroalcoólico nas doses de 100 (D100) ou 200mg/kg (D200) de peso corporal ou gliburida (GC) por quatro semanas, comparados com os animais controle (CC)

	CC	C100	C200	GC	Valor de p
Glicemia					
Valor inicial	89,40±3,32 (n=10)	83,80±1,81 (n=10)	94,67±3,42 (n=9)	104,38±4,16* (n=8)	<0,001
1ª semana	93,60±2,68 (n=10)	81,20±1,94† (n=10)	90,00±5,47 (n=9)	95,88±2,61 (n=8)	0,006
2ª semana	102,60±2,31 (n=10)	80,80±4,84† (n=10)	101,14±8,41 (n=6)	88,86±8,46 (n=8)	0,014
3ª semana	94,40±4,03 (n=10)	88,56±3,39 (n=9)	84,57±2,88 (n=6)	98,25±5,40 (n=8)	0,149
4ª semana	93,10±3,61 (n=10)	74,33±1,31† (n=9)	74,83±8,41† (n=6)	100,50±4,23 (n=8)	0,001; 0,055
Varição da glicemia	3,7±6,35 (n=10)	-8,89±1,89 (n=9)	-17,00±9,92 (n=6)	-3,87±6,18 (n=8)	0,154
Peso corporal					
Peso inicial	201,20±7,25 (n=10)	317,20±5,76* (n=10)	207,25±5,52 (n=9)	195,00±3,45 (n=8)	< 0,001
1ª semana	232,60±11,07 (n=10)	316,30±8,39* (n=10)	195,25±18,86 (n=9)	201,00±5,82 (n=8)	< 0,001
2ª semana	273,20±9,21 (n=10)	293,60±12,69 (n=10)	225,17±9,42† (n=6)	241,88±5,04 (n=8)	0,018
3ª semana	292,60±10,36 (n=10)	318,11±11,21 (n=9)	242,83±7,23† (n=6)	270,88±3,60 (n=8)	0,003
4ª semana	310,80±11,00 (n=10)	330,11±7,65 (n=9)	241,60±12,60* (n=6)	287,13±4,54 (n=8)	< 0,001
Varição de peso corporal	109,60±9,95 (n=10)	13,22±5,70* (n=9)	29,00±9,08* (n=6)	92,12±3,32 (n=8)	<0,001; <0,001
Lipídeos					
Colesterol total	80,11±4,01 (n=9)	58,75±3,13* (n=8)	64,83±2,84† (n=6)	83,43±4,02 (n=7)	0,001; 0,037
HDL-c	37,60±3,75 (n=9)	20,86±1,33* (n=8)	31,33±3,66 (n=6)	50,17±2,94† (n=7)	0,004; 0,053
LDL-c	27,33±4,65 (n=9)	30,25±2,18 (n=8)	23,00±3,59 (n=6)	24,83±4,78 (n=7)	0,623
Triglicérides	75,89±10,00 (n=9)	52,62±3,92 (n=8)	51,33±3,65 (n=6)	45,00±4,01† (n=7)	0,013

Resultados expressos como média e erro padrão da média (análise de variância, *post-hoc*: Tukey). * $p<0,01$; † $p<0,05$.



Análise intragrupo: teste t de Student para dados pareados. * p<0,05; † p<0,01.

Figura 2. Glicose sanguínea em animais não diabéticos tratados com extrato hidroalcoólico de *Plathyenia reticulata* nas doses de 100mg/kg (D100) ou 200mg/kg (D200), glibenclamida (DG) ou água (DC)

O tratamento com 200mg/kg de extrato levou a uma redução significativa dos níveis de colesterol total tanto em ratos diabéticos (DC com $84,22 \pm 7,26$ mg/dL versus D200 com $52,40 \pm 5,83$ mg/dL; $p=0,008$) quanto em ratos não diabéticos (CC com $80,11 \pm 4,01$ mg/dL n=9 versus C200 com $64,83 \pm 2,84$ mg/dL; $p=0,037$) e também à queda do HDL-c em ratos diabéticos (DC com $44,33 \pm 4,70$ mg/dL versus D200 com $21,60 \pm 4,24$ mg/dL; $p=0,011$) (Tabela 2).

A análise histopatológica revelou ausência de diferenças significantes em relação à hemorragia, degeneração hidrópica, hiperemia e presença de cistos pancreáticos. Observou-se hiperplasia significativa das ilhotas (teste do χ^2 de 20,384; $p=0,005$) (Figura 3) e dilatação significativa de ductos pancreáticos ($\chi^2=14,232$; $p=0,047$) nos grupos D200 e C100 (Tabela 3).

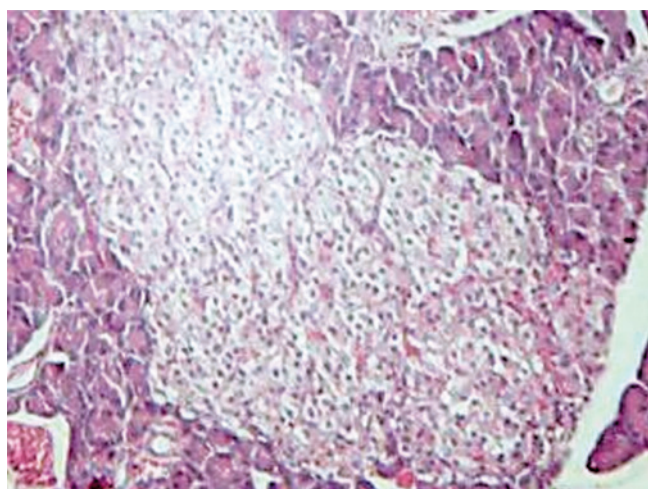


Figura 3. Hiperplasia das ilhotas de Langerhans em animais diabéticos tratados com *Plathyenia*

Tabela 3. Percentagem de alterações patológicas encontradas no pâncreas de animais diabéticos tratados com extrato hidroalcoólico de *Plathyenia* e animais controle

Pâncreas	CC	DC	C100	C200	D100	D200	GD	GC	Valor de p*
Sem alterações	28,6	28,6	71,4	28,6	42,9	50,0	42,9	28,6	0,755
Hemorragia em ilhotas	0	0	0	0	0	0	0	0	
Hemorragia no pâncreas	0	0	0	0	0	0	0	0	
Degeneração hidrópica	0	42,9	0	14,3	0	0	28,6	14,3	0,13
Hiperemia	0	0	0	0	14,3	33,3	0	0	0,08
Cistos pancreáticos	14,3	0	0	57,1	57,1	33,3	47,9	14,3	0,06
Hiperplasia de ilhotas	42,9	0	28,6	0	0	33,3	0	71,4	0,005
Dilatação de ductos pancreáticos	0	28,6	0	0	0	0	0	0	0,047

* teste χ^2 .

DISCUSSÃO

P. reticulata é uma planta do cerrado brasileiro com altos teores de proteína e enzimas.⁽²¹⁾ Estudos prévios mostraram que o extrato hidroalcoólico dessa planta possui atividade antimicrobiana contra bactérias Gram-positivas (*Streptococcus mutans* e *Staphylococcus sp.*) *in vitro*.⁽¹⁴⁾ Os extratos brutos (quente e frio) mostraram atividade anti-inflamatória, reduzindo a migração leucocitária na peritonite induzida por carragenina em camundongos. Os extratos brutos também induziram atividade anti-edematogênica, reduzindo o edema de patas induzido pela carragenina, além de mostrar atividade antiproliferativa em células tumorais no pulmão, ovário e melanoma, e inibição da nocicepção em testes de algesia induzida por ácido acético, com perfil similar ao da indometacina.⁽⁷⁾

Relatos recentes mostraram que o extrato hidroalcoólico de *P. reticulata* (à base de cachaça) possui atividade antifúngica⁽²²⁾ e que as frações hexano, diclorometano e etil-acética do extrato etanólico inibem o efeito tóxico do veneno de *Bothrops jararacussu*, provavelmente por meio de taninos.⁽²³⁾

Os efeitos anti-hiperglicêmicos do extrato de *P. reticulata* ainda não foram relatados. Entretanto, esse estudo abre a possibilidade de um novo tratamento para o *diabetes mellitus*, com possível proteção pancreática, além de nova estratégia preventiva da doença, dada a capacidade de o extrato de induzir perda de peso e hiperplasia de ilhota em animais não diabéticos.

A ação farmacológica da planta estudada se traduziu em efeito anti-hiperglicêmico importante, com queda dos níveis sanguíneos de glicose em ratos diabéticos e não diabéticos, sendo que, nos animais não diabéticos, a queda foi significativa, embora sem manifestação clínica (hipoglicemia). Além disso, foi observado efeito protetor sobre o pâncreas (hiperplasia de ilhotas pancreáticas). O efeito hipoglicemiante pode refletir a capacidade do extrato vegetal de promover a neogênese de células beta, conforme sugere a ocorrência de hiperplasia de ilhotas e da dilatação de ductos pancreáticos, ou restaurar a diferenciação de células beta, um processo por meio do qual as células desdiferenciadas revertem para células *progenitor-like* que expressam Neurogenin 3, Oct4, Nanog e L-Myc. Algumas drogas destinadas ao tratamento do diabetes disponíveis no mercado são capazes de promover a neogênese de células beta ou restaurar a diferenciação.^(24,25)

O efeito hipoglicemiante foi precoce nos animais tratados com 100mg/kg de peso corporal (na segunda semana) e tardio nos animais tratados com 200mg/kg de peso corporal, e pode ter refletido o efeito hormese: um fenômeno dose-resposta caracterizado pela estimulação por baixas doses e inibição por altas doses. Esse conceito indica nova percepção da natureza fundamental da relação dose-resposta, que não é linear nem de limiar, e sim em formato de U, alterando o conceito e a condução da avaliação toxicológica e de risco.⁽²⁶⁾

A disfunção das células beta tem papel fundamental no desencadeamento e progressão do diabetes tipo 2. Dentre os fatores adquiridos, a lipotoxicidade e a glicotoxicidade podem ter importância singular na lesão celular. Mais recentemente, foi proposto que a inflamação tem papel predominante na disfunção das células beta no diabetes tipo 2.⁽²⁷⁾ Portanto, a planta estudada poderia ser indicada tanto para o *diabetes mellitus* tipo 1 quanto para o tipo 2.

O papel da disfunção mitocondrial na lesão de células beta (apoptose de células beta em decorrência da produção de espécies reativas de oxigênio (ROS - *reactive oxygen species*) – mediada por estresse metabólico) foi relatado no diabetes tipo 2⁽²⁸⁾ e em animais com diabetes tipo 2.⁽²⁹⁾ Outros relatos recentes indicam que a presença de depósitos de amiloides nas ilhotas pancreáticas, observada em material coletado em autópsia, contribui para a redução da massa de células beta em pacientes com diabetes tipo 2.⁽³⁰⁾ Experimentos em macacos (modelo primata não humano) também mostraram correlação com a hiperplasia de células alfa, levando à deficiência de insulina, hipergliconemia e resistência à insulina.⁽³¹⁾

A perda de peso observada nos ratos não diabéticos tratados com doses de 200mg/kg ou 100mg/kg sugere

efeito adicional no controle da obesidade. A perda de peso pode ter refletido a redução do consumo alimentar ou a menor absorção alimentar em resposta aos taninos presentes no extrato vegetal.⁽²³⁾ Estudos analisando o consumo alimentar e hídrico nesses animais estão em andamento para elucidar o mecanismo responsável pelo efeito antiobesidade observado.

O mesmo efeito hormese pode ser observado na variação de peso nos animais não diabéticos, que apresentaram menor ganho de peso com a dose de 100mg/kg, seguida pela dose de 200mg/kg.⁽²⁶⁾ A diferença de peso corporal inicial entre os animais levou à adoção da variação de peso (peso inicial menos peso final) como parâmetro nesse estudo.

Houve efeito positivo sobre os níveis de colesterol total, porém redução do HDL-c. O HDL-c transporta o colesterol para o fígado, onde este é captado pelos receptores SR-B1, contribuindo para a proteção do leito vascular contra a aterogênese por meio de mecanismos como a remoção de lipoproteína de baixa densidade (LDL) oxidada, a inibição da fixação de moléculas de adesão e monócitos ao endotélio, e o estímulo da liberação de óxido nítrico.⁽³²⁾

A redução do colesterol total é salutar para a população em geral e para indivíduos diabéticos em particular. Entretanto, a redução do HDL-c pode aumentar o risco cardiovascular, o que não é desejável em indivíduos diabéticos.

O modelo experimental de diabetes induzida por altas doses de estreptozotocina empregado é uma ferramenta útil para o estudo de diversos aspectos relacionados ao diabetes tipo 1.⁽³³⁾ Neste estudo, o extrato hidroalcoólico de *P. reticulata Benth* administrado pela via oral promoveu redução importante da glicose sanguínea e levou à hiperplasia de ilhotas no animais. Tais resultados podem representar o início do processo de obtenção de nova droga de uso oral para tratamento do diabetes tipo 1 e, possivelmente, do tipo 2.

CONCLUSÃO

Outros estudos se fazem necessários para desvendar os mecanismos relacionados aos efeitos do extrato, investigar sua toxicidade e identificar o composto responsável pelos efeitos descritos. Este estudo abre a perspectiva para novas terapias para o diabetes tipos 1 e 2, baseadas no efeito hipoglicemiante e na preservação das células beta e, ainda mais importante, para a identificação de um composto capaz de prevenir o desencadeamento do diabetes tipo 2 em indivíduos suscetíveis, por meio da proteção pancreática e de perda de peso. Os efeitos benéficos descritos podem refletir a capacidade do extrato

vegetal de promover a neogênese ou restaurar a desdiferenciação de células beta.

AGRADECIMENTOS

A Deborah Hallal Jorge, pela revisão do artigo original em inglês. Este estudo teve apoio da Universidade de Uberaba.

INFORMAÇÃO DOS AUTORES

Magalhães FO: <http://orcid.org/0000-0002-0581-4279>

Uber-Bucek E: <http://orcid.org/0000-0001-5163-4116>

Ceron PI: <http://orcid.org/0000-0003-4359-6548>

Name TF: <http://orcid.org/0000-0001-5446-6007>

Coelho HE: <http://orcid.org/0000-0001-5961-3985>

Barbosa CH: <http://orcid.org/0000-0001-6977-4459>

Carvalho T: <http://orcid.org/0000-0002-3053-7242>

Groppo M: <http://orcid.org/0000-0003-2932-7798>

REFERÊNCIAS

- International Diabetes Federation (IDF). Diabetes Atlas. 7th ed [Internet]. Belgium: IDF; 2015 [cited 2019 Apr 2]. Available from: <https://www.idf.org/e-library/epidemiology-research/diabetes-atlas/13-diabetes-atlas-seventh-edition.html>
- Brasil. Ministério da Saúde. Diabetes aumenta no país e já atinge 9% dos brasileiros [Internet]. Brasília: Ministério da Saúde; 2017 [citado 2018 Set 1]. Disponível em: <http://portalms.saude.gov.br/noticias/sas/41846-diabetes-aumenta-no-pais-e-ja-atinge-9-dos-brasileiros>
- Sociedade Brasileira de Diabetes (SBD). Aspectos epidemiológicos do diabetes mellitus e seu impacto no indivíduo e na sociedade. Diabetes na prática clínica [Internet]. São Paulo: SBD; 2011 [citado 2019 Abr 2]. Disponível em: <https://www.diabetes.org.br/ebook/component/k2/item/73-capitulo-1-aspectos-epidemiologicos-do-diabetes-mellitus-e-seu-impacto-no-individuo-e-na-sociedade>
- Yeh GY, Eisenberg DM, Kaptchuk TJ, Phillips RS. Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes. *Diabetes Care*. 2003;26(4):1277-94. Review.
- Negri G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. *Rev Bras Cienc Farm*. 2005;41(2):121-42.
- Fernandes AT. Atividade farmacológica dos extratos obtidos da *Plathymania reticulata* Benth (leguminosae) [Dissertação]. Campinas: Universidade Estadual de Campinas; 2002.
- Martini ND, Katerere DR, Eloff JN. Biological activity of five antibacterial flavonoids from *Combretum erythrophyllum* (Combretaceae). *J Ethnopharmacol*. 2004;93(2-3):207-12.
- Lopes RM, Freitas VL, Lemos Filho JP. Biometria de frutos e sementes e germinação de *Plathymania reticulata* benth. e *Plathymania foliolosa* benth. (Fabaceae - mimosoideae). *Rev Árvore*. 2010;34(5):797-805.
- Rizzini CT. Árvores e Madeiras Úteis do Brasil. 2a ed. São Paulo: Edgard Blucher; 1978. p. 304. [Manual de Dendrologia Brasileira].
- Corrêa MP, Penna LA. Dicionário das Plantas Úteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas. 2a ed. v. 6. Rio de Janeiro: Instituto Brasileiro de Desenvolvimento Florestal; 1984. p. 777.
- Antezana LF. Crescimento Inicial de 15 Espécies Nativas do Bioma Cerrado sob Diferentes Condições de Adubação e Roçagem [Dissertação]. Brasília (DF): Universidade Federal De Brasília; 2008.
- Leal SR, Lima MA, Silveira ER. Cassane diterpenes from *Plathymania reticulata*. *J Bras Chem Soc*. 2003;14(1):120-5.
- de Moura VM, da Silva WC, Raposo JD, Freitas-de-Sousa LA, Dos-Santos MC, Oliveira RB, et al. The inhibitory potential of the condensed-tannin-rich fraction of *Plathymania reticulata* Benth. (Fabaceae) against *Bothrops atrox* envenomation. *J Ethnopharmacol*. 2016;183:136-42.
- Fernandes TT, Santos AT, Pimenta FC. Atividade antimicrobianas das plantas *Plathymania reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. *Rev Patol Trop*. 2005;34(2):113-22.
- Junod A, Lambert AE, Stauffacher W, Renold AE. Diabetogenic action of streptozotocin: relationship of dose to metabolic response. *J Clin Invest*. 1969;48(11):2129-39.
- Delfino VD, Figueiredo JF, Matsuo T, Favero ME, Matni AM, Mocelin A. Diabetes mellitus induzido por estreptozotocina: comparação em longo prazo entre duas vias de administração. *J Bras Nefrol*. 2002;24(1):31-6.
- Oliveira F, Akisue G. Fundamentos de Farmacobotânica. 2a ed. São Paulo: Atheneu; 2000. Coleta de Plantas Fanerógamas. p. 9-12.
- Stasi LC, organizador. Plantas Mediciniais: arte e ciência. Um guia de estudo interdisciplinar. São Paulo: Unesp; 1996. Coleta de Plantas Mediciniais. p. 69-86.
- Farmacopeia Brasileira. 4a ed. São Paulo: Atheneu; 1988.
- Simões CM, Schenkel EP, Gosmann G, Mello JC, Mentz LA, Petrovick PR, organizadores. Farmacognosia: da planta ao Medicamento. 6a ed. Porto Alegre: UFRGS; 2010. 1104 p.
- Caramori SS, Lima CS, Fernandes KF. Biochemical characterization of selected plant species from Brazilian Savannas. *Braz Arch Biol Technol*. 2004;47(2):253-9.
- De Toledo CE, Britta EA, Ceole LF, Silva ER, de Mello JC, Dias Filho BP, et al. Antimicrobial and cytotoxic activities of medicinal plants of the Brazilian cerrado, using Brazilian cachaça as extractor liquid. *J Ethnopharmacol*. 2011;133(2):420-5.
- Nocole MF, Gleidy Aa S, Karine NC, Magali GS, José CC, Cháriston A Dal B, et al. Inhibition of *Bothrops jararacussu* venom activities by *Plathymania reticulata* Benth extracts. *J Venom Res*. 2011;2:52-8.
- Bonner-Weir S, Guo L, Li WC, Ouziel-Yahalom L, Lysy PA, Weir GC, et al. Islet neogenesis: a possible pathway for beta-cell replenishment. *Rev Diabet Stud*. 2012;9(4):407-16. Review.
- Talchai C, Xuan S, Lin HV, Sussel L, Accili D. Pancreatic β -Cell dedifferentiation as mechanism of diabetic β -cell failure. *Cell*. 2012;150(6):1223-34.
- Calabrese EJ, Baldwin LA. Hormesis: the dose-response revolution. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2003;43:175-97. Review.
- Marchetti P, Lupi R, Del Guerra S, Bugliani M, Marselli L, Boggi U. The beta-cell in human type 2 diabetes. *Adv Exp Med Biol*. 2010;654:501-14. Review.
- Ma ZA, Zhao Z, Turk J. Mitochondrial dysfunction and β -cell failure in type 2 diabetes mellitus. *Exp Diabetes Res*. 2012;2012:703538. Review.
- Zraika S, Hull RL, Udayasankar J, Aston-Mourney K, Subramanian SL, Kisilevsky R, et al. Oxidative stress is induced by islet amyloid formation and time-dependently mediates amyloid-induced beta cell apoptosis. *Diabetologia*. 2009;52(4):626-35.
- Jurgens CA, Toukatly MN, Fligner CL, Udayasankar J, Subramanian SL, Zraika S, et al. β -cell loss and β -cell apoptosis in human type 2 diabetes are related to islet amyloid deposition. *Am J Pathol*. 2011;178(6):2632-40. Erratum in: *Am J Pathol*. 2011;179(1):537-8.
- Guardado-Mendoza R, Davalli AM, Chavez AO, Hubbard GB, Dick EJ, Majluf-Cruz A, et al. Pancreatic islet amyloidosis, beta-cell apoptosis, and alpha-cell proliferation are determinants of islet remodeling in type-2 diabetic baboons. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2009;106(33):13992-7.
- IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*. 2007;88(Supl I):2-19.
- Rakieten N, Rakieten L, Nadkarni M. Studies on the diabetogenic action of streptozotocin (NSC-37917). *Cancer Chemother Rep*. 1963;29:91-8.