

Efeito do extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* (yacon) em ratas diabéticas

VOLPATO, G.T.^{1,2}; VIEIRA, F.L.³; DAMASCENO, D.C.¹; CÂMARA, F.L.A.⁴; DI STASI, L.C.³; LEMONICA, I.P.³

¹Laboratório de Pesquisa Experimental de Ginecologia e Obstetrícia, Depto. de Ginecologia e Obstetrícia, Faculdade de Medicina de Botucatu - UNESP, Distrito de Rubião Jr. s/n . CEP: 18618-000, Botucatu - SP, Fone/Fax: (14) 3811 6181, E-mail: gtvlpato@yahoo.com ²Disciplina de Educação Física, Faculdades Integradas de Botucatu – UNIFAC. Depto. de Farmacologia, Instituto de Biociências de Botucatu - UNESP. ⁴Setor de Horticultura, Depto. de Produção Vegetal, Faculdade de Ciências Agrônômicas de Botucatu - UNESP.

RESUMO: *Polymnia sonchifolia* é uma planta usada na medicina popular como hipoglicemiante entre outros fins. O objetivo foi avaliar o efeito de yacon no diabetes em ratas *Wistar* divididas em 4 grupos (n=12): não-diabético que recebeu (*gavage*) 32,4 mg kg⁻¹ do extrato aquoso de folhas da planta (grupo tratado) ou veículo (grupo não-tratado), e um grupo diabético com tratamento similar aos animais não-diabéticos. O diabetes foi induzido por *streptozotocin* (via i.v., 40 mg kg⁻¹). A glicemia foi monitorada após aclimatação dos animais, quinze dias após a indução do diabetes e a cada 10 dias após o início do tratamento. Durante todo o experimento, foram medidos diariamente o peso corporal, o consumo de ração e a ingestão de água de todas as ratas. Os animais tratados com extrato de yacon, não-diabéticos e diabéticos, não apresentaram diferenças significativas relacionadas à glicemia, ganho de peso, consumo de ração e ingestão de água. Portanto, novos experimentos são necessários como aumentar o número de animais de acordo com diferentes níveis glicêmicos e a dose do extrato.

Palavras-chave: *Polymnia sonchifolia*, yacon, *streptozotocin*, rata, *Diabetes mellitus*

ABSTRACT: Effects of leaves of *Polymnia sonchifolia* (yacon) aqueous extract in diabetic rats. *Polymnia sonchifolia* is a medicinal plant used as hypoglycemic agent and other ends. The aim was to evaluate the yacon effect on diabetes in *Wistar* female rats, which was divided in 4 groups: non-diabetic (n=24) given (*gavage*) 32.4 mg kg⁻¹ of an aqueous extract of plant (treated group) or vehicle (non-treated group), and one diabetic group (n=24) with similar treatment compared to non-diabetic rats. Diabetes was induced using *streptozotocin* (i.v. route, 40 mg kg⁻¹). Glycemia was monitored after rodent adaptation period, 15 days after diabetes induction, and each 10 days after yacon/vehicle in early treatment. During experiment period, body weights, food and water intake were daily measured. The rats (non-diabetic or diabetic) given yacon extract treatment presented no significant difference related with glycemia, body weight gain, and food and water intake. Thus, further studies such increase of rat number in agreement with different glycaemic levels and increase of the plant extract dose are necessary.

Key words: *Polymnia sonchifolia*, yacon, *streptozotocin*, rat, *Diabetes mellitus*

INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, um grande interesse na utilização de produtos naturais vem sendo observado. Essa utilização é feita tanto com finalidade alimentícia quanto terapêutica, por questões sócio-econômicas, culturais ou como busca de terapias complementares ou substitutivas. Nos países em desenvolvimento, mais de 80% da população usam a medicina tradicional como cuidado básico da saúde. Esta

prática não se restringe apenas a zonas rurais ou regiões desprovidas de assistência médica e farmacêutica (World Health Organization, 2005). No Brasil, apesar do uso de plantas ser comum e muitas vezes a única alternativa terapêutica para grande parte da população, o estudo desse tipo de terapia não é prioritário como solução para alguns dos problemas de saúde, sendo ignorado pelo governo e pela

comunidade médica.

Diabetes mellitus é uma síndrome caracterizada por hiperglicemia que altera o metabolismo de carboidratos, lipídios e proteínas. No diabetes tipo 1, o pâncreas perde sua capacidade de sintetizar insulina e, portanto, a glicose sanguínea não é captada pelas células para ser usada como fonte de energia. No diabetes tipo 2, ocorre resistência à insulina em combinação com uma deficiência relativa na secreção de insulina. Ambos os tipos de diabetes dependem de fatores genéticos, metabólicos e ambientais, que se combinam e contribuem para a patogênese dessas síndromes (Bennett & Knowler, 2005; American Diabetes Association, 2005).

O diabetes é uma síndrome de enorme importância, pois afeta cerca de 7% da população mundial. No Brasil, existem mais de cinco milhões de portadores de diabetes, dos quais metade desconhece o diagnóstico. A doença acomete igualmente homens e mulheres, aumentando de modo considerável em relação à idade, com prevalência de 7,6%, semelhante a dos países desenvolvidos (Sociedade Brasileira de Diabetes, 2002).

Dentre as patologias que são tratadas utilizando-se plantas medicinais, podemos citar o diabetes, cujo tratamento popular se faz através do uso dessas plantas, o qual é bastante comum em nosso meio (Volpato et al., 2002).

Polymnia sonchifolia (Yacon) é uma planta da família Compositae, originária da região andina do Equador, Colômbia e Peru, sendo conhecida por acumular uma grande quantidade de oligossacarídeos em suas raízes tuberosas. Estas, peculiarmente, são ricas em inulina, um polímero composto essencialmente por frutose. Além disso, sabe-se que o organismo humano não produz inulase, enzima que hidrolisa a inulina, sendo essa planta, portanto, também utilizada como alimento dietético e para diabéticos (Zietmeyer, 1989). Atualmente, muitos autores classificam o yacon como pertencente ao gênero *Smallanthus* (Grau & Rea, 1997).

Nos últimos anos, diversos trabalhos têm verificado que o extrato de folhas de *P. sonchifolia* promove proteção contra radicais livres sendo, portanto, um candidato à prevenção e tratamento de doenças crônicas envolvendo estresse oxidativo, particularmente diabetes (Valentová et al., 2003, 2004, 2005).

Embora relatos populares sugiram que a ingestão de *Polymnia sonchifolia* na forma de infusão feita com suas folhas diminua a hiperglicemia em indivíduos diabéticos, poucos estudos comprovaram sua utilização no tratamento do diabetes (Aybar et al., 2001)

Porém, o objetivo do uso de plantas medicinais não é substituir produtos sintéticos já registrados e comercializados, mas aumentar a opção

terapêutica para oferecer medicamentos equivalentes, talvez mais baratos, com amplo espectro de ação, mas sempre obedecendo aos preceitos éticos que regem o emprego de xenobióticos na espécie humana (Lapa et al., 1999).

Antes da utilização de plantas medicinais como hipoglicemiantes em humanos, mais investigações científicas devem ser realizadas. Portanto, o uso popular, e mesmo o tradicional, não são suficientes para validar eticamente as plantas medicinais como medicamentos eficazes e seguros. Nesse sentido, as plantas medicinais não diferem de qualquer outro xenobiótico sintético e sua preconização, ou a autorização de seu uso, devem ser fundamentadas em evidências experimentais comprobatórias de que o risco do uso é suplantado pelos benefícios (Brasil, 1995).

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi testar experimentalmente, em ratos diabéticos e não-diabéticos, se a ingestão do extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia*, na dose utilizada pela população no tratamento do diabetes, altera os níveis de glicose sanguínea, peso corpóreo e consumo de água e ração.

MATERIALE E MÉTODO

Animais

Foram utilizadas ratas *Wistar* adultas, pesando aproximadamente 200g, provenientes do Biotério Central do Câmpus de Botucatu.

Planta

A planta *Polymnia sonchifolia*, conhecida popularmente com yacon, foi coletada na Fazenda Experimental Lageado (Unesp/Campus de Botucatu), no mês de maio e identificada no Departamento de Botânica do Instituto do Biociências - Unesp.

Após identificação, as folhas da planta foram dessecadas em estufa com circulação de ar à temperatura de 50°C por um período de 24 horas. Após esse período, sofreram processo de trituração por liquidificador. O pó obtido colocado em água na temperatura de 100°C procedendo-se assim a extração por infusão. O extrato foi então resfriado sob agitação durante 3 horas e, posteriormente, filtrado. Após extração, foi determinado o peso seco do extrato para avaliar com exatidão a dose a ser administrada (Farmacopéia Brasileira, 1988). O extrato foi então dividido em alíquotas, que foram mantidas em freezer, até o momento do consumo.

Delineamento experimental

A seqüência das atividades foi dividida em três períodos: adaptação, diabetogênico e tratamento.

Período de adaptação

Os animais foram adaptados no biotério do Departamento de Farmacologia do Instituto de Biociências de Botucatu, Unesp, durante dez dias, permanecendo em gaiolas individuais de polietileno, forradas com maravalha, sob condições controladas ($21 \pm 4^\circ\text{C}$, fotoperíodo de 12 horas). Água e ração foram oferecidas “ad libitum”.

Período de diabetogênese

Após o período de adaptação, foi realizada a determinação da glicemia (glicemia inicial). Para isto foi retirada uma gota de sangue por punção com agulha na parte distal da cauda dos animais, e essa gota foi depositada em glicofitas (Blood Glucose Monitoring Test Strips Ultra +, HDI Home Diagnostics Inc., Florida) que introduzidas em glicosímetro (Blood Glucose Monitoring Meta Ultra +) de leitura digital, permitiu determinar o nível de glicose sanguínea. As glicemias foram realizadas sempre às 08:30 h, após jejum de 12 horas.

A *streptozotocin* foi a droga escolhida para indução do diabetes nas fêmeas. Após a realização da leitura da glicemia inicial, o diabetes foi induzido através de injeção intravenosa (veia da cauda) de *streptozotocin* (Sigma Chemical, St. Louis) diluída em tampão citrato (0,01M), pH 4,6, na dose de 40 mg kg^{-1} (Damasceno et al., 2004). As ratas não-diabéticas (controle) receberam solução fisiológica a 0,9% em volume equivalente à droga utilizada para uma rata do mesmo peso.

Além da determinação da glicemia inicial das ratas, foi também verificado o nível de glicose antes do início do período de tratamento (dia 0) e a cada 10 dias durante os 40 dias de tratamento, totalizando 6 coletas.

Período de tratamento

O tratamento consistiu na ingestão do extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* em doses que correspondem às utilizadas popularmente ($32,4 \text{ mg kg}^{-1}$). Essa ingestão foi feita através de sonda gástrica (*gavage*), sendo que o volume administrado não ultrapassou a quantidade de 3,0 mL. O tratamento foi realizado durante 40 dias, sempre no período da tarde (por volta das 16 horas), para que o animal recebesse o extrato em condições padronizadas de absorção do extrato.

Durante todo o experimento, foram verificados diariamente o peso corporal, a ingestão de ração e a ingestão de água de cada animal.

Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos experimentais:

-Grupo não-diabético não-tratado (controle) (CNT): composto de 12 ratas que

receberam diariamente o veículo durante o período experimental com volume semelhante ao administrado no grupo tratado.

-Grupo não-diabético tratado (CT): composto de 12 ratas que receberam diariamente extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* ($32,4 \text{ mg kg}^{-1}$) durante o período experimental.

-Grupo diabético não-tratado (DNT): composto de 12 ratas diabéticas que receberam diariamente o veículo durante o período experimental com volume semelhante ao administrado no grupo tratado.

-Grupo diabético tratado (DT): composto de 12 ratas diabéticas que receberam diariamente extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* ($32,4 \text{ mg kg}^{-1}$) durante o período experimental.

Análise estatística

Os resultados foram expressos como média \pm desvio-padrão. Os dados foram analisados por Análise de Variância (ANOVA) seguida pelo teste de Student-Newman-Keuls (Zar, 1999). Foi considerado como nível de significância estatística o limite de 5% ($p < 0,05$).

RESULTADO

A Figura 1 mostra que a glicemia de jejum dos animais encontrava-se normal no início do período experimental, em torno de 83 mg dL^{-1} . Após a indução do diabetes, as ratas pertencentes ao grupo diabético apresentaram no dia 0 uma glicemia em torno de 300 mg dL^{-1} , confirmando o diabetes grave. Durante o período de tratamento, as glicemias dos animais diabéticos tratados tiveram queda, embora sem significância estatística, comparado ao grupo de ratas diabéticas não-tratadas. Ao final do período experimental (40 dias de tratamento), foi observado que a glicemia das ratas do grupo diabético tratado apresentaram glicemia em torno de 250 mg dL^{-1} , mas este valor não diferiu significativamente do grupo diabético não-tratado. Quanto às ratas do grupo não-diabéticas, não houve diferença significativa entre as tratadas e as não-tratadas com o extrato da planta, sendo mantida a glicemia de 83 mg dL^{-1} em média durante todo o período experimental.

As ratas do grupo diabético tratado e não-tratado, apresentaram o mesmo peso no início do experimento (inicial), como mostra a Figura 2. Após a indução do diabetes, as ratas diabéticas, independente do tratamento, começaram a perder peso, chegando ao final do período experimental com o peso menor que o do início do tratamento. Contrariamente, as ratas do grupo não-diabético apresentaram ganho de peso ao longo do mesmo período.

Como mostra a Figura 3, no dia 0 as ratas

diabéticas tratadas e não-tratadas apresentaram uma ingestão de ração semelhante. Houve hiperfagia nos animais diabéticos após a indução do diabetes, nitidamente observada comparando-se com o dia inicial do experimento, e o tratamento com o extrato da planta não alterou essa tendência. As ratas não-diabéticas, tratadas e não-tratadas, mantiveram um consumo constante de ração em torno de 18,0 g ao longo do experimento. Foi observado um comportamento semelhante com relação à ingestão hídrica (Figura 4). O consumo de água das ratas diabéticas tratada e não-tratadas (dia 0) não se alteraram, apresentando somente uma elevação não significativa ao final do período experimental. As ratas do grupo não-diabético mantiveram os níveis de

ingestão hídrica média de 31 mL dia⁻¹ durante todo o período experimental, independente do tratamento.

DISCUSSÃO

O *Diabetes mellitus* é uma patologia na qual ocorrem diversas alterações metabólicas, sendo que essas alterações levam ao aparecimento de vários sintomas, como sede excessiva, a alta taxa de diurese, a hiperfagia e a perda de peso. Isso tudo se deve a uma anormalidade primária do diabetes, que é a hiperglicemia, sendo este um parâmetro direto para determinar a severidade desta patologia em um indivíduo (Bandeira, 2003).

A determinação inicial da glicemia de todos os animais teve como finalidade que cada indivíduo

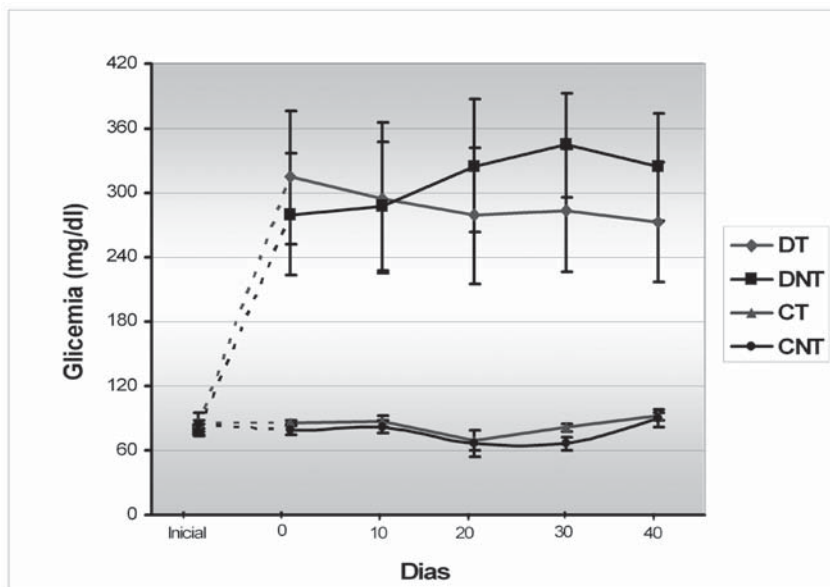


FIGURA 1. Média e respectivo desvio-padrão do nível glicêmico (mg dL⁻¹) de ratas *Wistar* diabéticas (D) e não-diabética (C), tratadas com *Polymnia sonchifolia* na dose de 32,4 mg kg⁻¹ (T) ou veículo (NT).

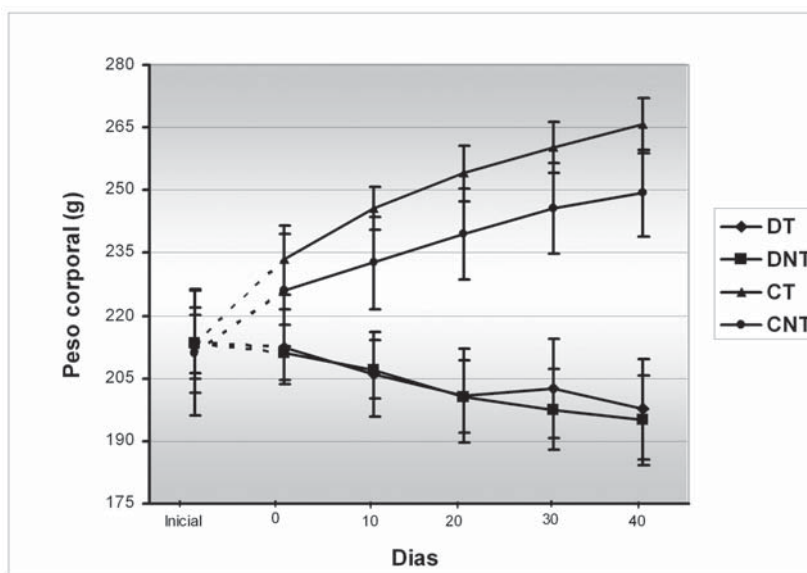


FIGURA 2. Média e respectivo desvio-padrão do peso corpóreo (g) de ratas *Wistar* diabéticas (D) e não-diabética (C), tratadas com *Polymnia sonchifolia* na dose de 32,4 mg kg⁻¹ (T) ou veículo (NT).

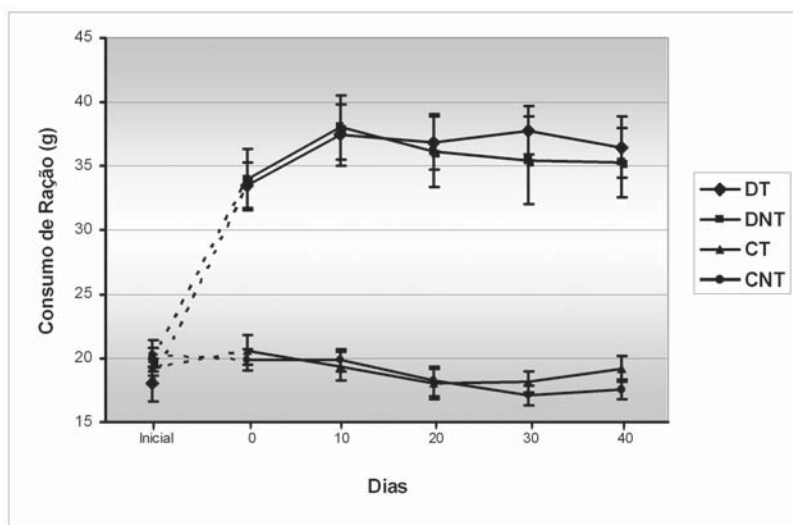


FIGURA 3. Média e respectivo desvio-padrão do consumo de ração (g) de ratas *Wistar* diabéticas (D) e não-diabética (C), tratadas com *Polymnia sonchifolia* na dose de 32,4 mg kg⁻¹ (T) ou veículo (NT).

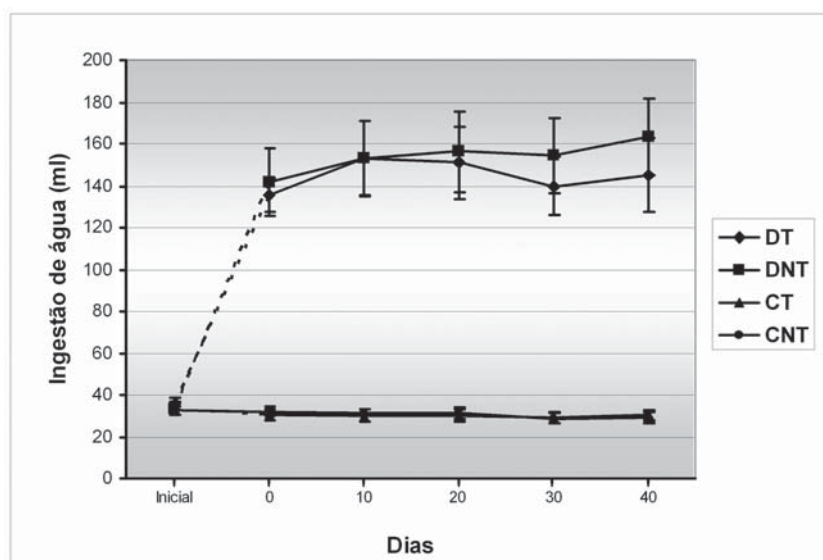


FIGURA 4. Média e respectivo desvio-padrão da ingestão hídrica (mL) de ratas *Wistar* diabéticas (D) e não-diabética (C), tratadas com *Polymnia sonchifolia* na dose de 32,4 mg kg⁻¹ (T) ou veículo (NT).

servisse de controle para si mesmo em termos de aumento ou diminuição da glicemia. Apesar da glicemia não diferir significativamente nos grupos tratados, observamos uma queda gradativa do nível glicêmico das ratas do grupo diabético tratado e contrariamente, uma pequena elevação desses níveis nas ratas do grupo diabético não-tratado, demonstrando um aumento da severidade da patologia neste grupo. No grupo não-diabético, o tratamento não alterou a glicemia, que manteve os níveis de normalidade durante todo o experimento.

Esses dados são diferentes aos encontrados por Aybar et al. (2001), que observaram efeito hipoglicemiante em ratas diabéticas tratadas com *yacon* durante 30 dias, devido a aumento da produção de insulina. Porém, a indução do estado diabético foi realizada através de injeção intraperitoneal na dose de

35 mg kg⁻¹, enquanto nossa indução foi de 40 mg kg⁻¹ através de injeção intravenosa, o que acarreta um estado diabético grave, com destruição de praticamente todas as células β -pancreáticas, fazendo com que o extrato planta não apresentasse efeito. Experimentos demonstraram que o organismo humano é mais sensível que agentes químicos que o de animais (Lemonica, 2001), e como a dose administrada foi a mesma utilizada pela população no tratamento do diabetes, é plausível que o aumento da dose pudesse levar ao efeito desejado. Outra hipótese seria que a glicemia dos animais estaria em um nível muito elevado, e que o tratamento já não conseguisse reverter este quadro devido as alterações metabólicas causadas pela hiperglicemia. Apesar do extrato não ter sido benéfico para as ratas diabéticas, ele não foi prejudicial para os animais não-diabéticos.

A glicose tubular em excesso faz com que a pressão osmótica se eleve à níveis muito altos, o que reduz a absorção de água a esse nível e conseqüentemente, o indivíduo diabético passa a eliminar grandes quantidades de água e de glicose através da urina. Devido a esta diurese aumentada, isto é, da desidratação que esta acarreta, ocorre excessiva ingestão de água pelo indivíduo por estimulação do centro da sede, sendo esta outra característica dessa patologia (Davis & Granner, 2003). Os resultados mostraram que as ratas diabéticas apresentaram um aumento da ingestão hídrica quando comparadas às ratas do grupo não-diabético. O tratamento com extrato de *Polymnia sonchifolia* não alterou esse parâmetro.

O apetite exagerado, outra disfunção causada pelo *Diabetes mellitus*, é um sintoma que traduz, pelo menos em parte, uma compensação pela perda de glicose através da urina, que priva o organismo de considerável parte das calorias ingeridas com os alimentos (Kahn et al., 2004). O tratamento com extrato da planta não alterou a hiperfagia das ratas diabéticas e não modificou o consumo de ração das ratas do grupo não-diabético.

A perda de peso figura como uma das manifestações mais comuns do *Diabetes mellitus*, pois a despeito do aumento do apetite, a deficiência de insulina reduz todos os processos anabólicos e acelera os processos catabólicos, contribuindo para agravar a perda de peso, que já ocorria pela glicosúria e poliúria (Bandeira, 2003).

As ratas de todos os grupos experimentais apresentaram o mesmo peso no início do experimento (peso inicial). Após indução do diabete, as ratas do grupo diabético, independentemente do tratamento com a planta, começaram a perder peso, chegando ao final do período experimental com o peso menor com ralação ao início da administração do extrato da planta. Contrariamente, as ratas não-diabéticas apresentaram ganho de peso ao longo do mesmo período.

Como verificado pelos dados apresentados, o tratamento com o extrato aquoso de folhas de *Polymnia sonchifolia* na mesma dose utilizada pela população não diminuiu significativamente os níveis glicêmicos, além de não diminuir os outros sintomas característicos do diabete. Portanto, novos experimentos se fazem necessários, não somente aumentando o número de animais para podermos subdividi-los em subgrupos com diferentes níveis glicêmicos, como também aumentando a dose com a finalidade de verificarmos se os parâmetros estudados tenderiam ao normal.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*, v.28, n.1, p.S37-S42, 2005.

AYBAR, M.J. et al. Hypoglycemic effect of the water extract of *Smallanthus sonchifolius* (yakon) leaves in normal and diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, v.74, p.125-32, 2001.

BANDEIRA, F. **Endocrinologia e diabetes**. Rio de Janeiro: Editora Médica e Científica Ltda., 2003. 1109p.

BENNETT, P.H.; KNOWLER, W.C. Definition, diagnosis, and classification of Diabetes mellitus and glucose homeostasis. In: KAHN, C.R. et al. **Joslin's Diabetes mellitus**. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkans, 2005. p.331-40.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria n. 6/95, de 31 de janeiro de 1995.

Diário Oficial da União, Brasília, v.200, 6 de fev. 1995. Seção 1, p.1523-4.

DAMASCENO, D.C. et al. Effect of *Bauhinia forficata* extract in diabetic pregnant rats: maternal repercussions. *Phytomedicine*, v.11, p.196-201, 2004.

DAVIS, S.N.; GRANNER, D.K. Insulina, Fármacos Hipoglicemiantes Orais e a Farmacologia do Pâncreas Endócrino. In: HARDMAN, J.G.; LIMBIRD, L.E. **Goodman & Gilman As bases farmacológicas da terapêutica**. 10.ed. México: McGraw-Hill, 2003. p.1263-90.

FARMACOPEIA BRASILEIRA. 4.ed. São Paulo: Atheneu, 1988. v.2.9.

GRAU, A.; REA, J. Yacon. *Smallanthus sonchifolius* (Poep. & Endl.) H. Robinson. In: HERMANN, M.; HELLER, J. **Andean roots and tubers**: Ahipa, arracacha, maca and yacon. Rome: IPGRI, 1997. p.199-242.

LAPA, A.J. et al. Farmacologia e Toxicologia de Produtos Naturais. In: SIMÕES, C.M.O. et al. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. Porto Alegre: Editora Universidade (UFRGS), 1999. p.181-96.

LEMONICA, I.P. Teratogenesis experimental e sua aplicação em humanos. In: SANSEVERINO, M.T.V.; SPRITZER, D.T.; SHULER-FACCINI, L. **Manual de Teratologia**. Rio Grande do Sul: Editora da Universidade, 2001. p.19-40.

KAHN, C.R. et al. **Joslin's Diabetes mellitus**. 4.ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkans, 2005. 1209p. Sociedade Brasileira de Diabetes. **Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito tipo 2**. São Paulo, 2002. 75p.

VALENTOVÁ, K. et al. Antioxidant activity of extracts from the leaves of *Smallanthus sonchifolius*. **European Journal of Nutrition**, v.42. p.61-6, 2003.

VALENTOVÁ, K. et al. The effect of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts on rat hepatic metabolism. **Cell Biology and Toxicology**, v.20, n.2, p.109-20, 2004.

VALENTOVÁ, K.; SERSEN, F.; ULRICHOVÁ, J. Radical scavenging and anti-lipoperoxidative activities of *Smallanthus sonchifolius* leaf extracts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.53, p.5577-82, 2005.

VOLPATO, G.T. et al. Revisão de plantas brasileiras com comprovado efeito hipoglicemiante no controle do *Diabetes mellitus*. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v.4, n.2, p.35-45, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Traditional Medicine: Global situation 2005**. Available from <<http://www.who.int/gb>> Cited : 2005 jan 7.

ZAR, J.H. **Bioestatistical analysis**. 4.ed. New Jersey: Prentice Hall, 1999. 929p.

ZIETMEYER, N.E. **Lost crop of the Inca**. Washington: National Academic Press, 1989. 415p.