

## AVALIAÇÃO DE PROPRIEDADE ANTIDIABÉTICA DO ESTEVIOLBIOSÍDEO

João Paulo Gonçalves da Costa Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Silvano Piovan, Luana Marcelly Martins, Silvio Claudio da Costa, Cecília Edna Mareze da Costa (Orientadora), e-mail: cemcosta@uem.br

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas / Maringá, PR.

### 2.07.02.05-1 Fisiologia Endócrina

**Palavras-chave:** *Stevia rebaudiana*, diabetes, estreptozotocina.

#### Resumo:

Resultados prévios obtidos por nosso grupo de pesquisa demonstraram que o esteviolbiosídeo (STB) apresenta propriedades insulínótropicas em ilhotas isoladas de ratos normais. Esta é uma propriedade relevante, pois o diabetes mellitus é, atualmente, uma das mais importantes doenças crônicas, tanto pela prevalência como pela alta morbidade e mortalidade. Assim, dando continuidade, este trabalho avaliou o efeito do tratamento oral de ratos diabéticos com o STB. Foram estabelecidos três grupos, sendo dois de ratos diabéticos por administração de estreptozotocina (40 mg/Kg i.v.) e um grupo de ratos normais. Um dos grupos de ratos diabéticos recebeu o tratamento oral (sonda esofágica) com o esteviolbiosídeo (0,1 mg/Kg p.c.) por um período de 30 dias. Foram avaliados o ganho de peso corporal, a glicemia de jejum, os valores plasmáticos de triglicerídeos, colesterol, AST e ALT, a tolerância oral à glicose e o peso dos depósitos de tecido adiposo e outros órgãos. Os resultados obtidos não diferiram significativamente entre os grupos de animais diabéticos controle e tratados, concluindo que o esteviolbiosídeo não apresentou propriedades antidiabéticas quando administrado oralmente à ratos diabéticos.

#### Introdução:

Nosso grupo de pesquisa tem estudado compostos presentes na planta *Stevia rebaudiana* com o objetivo de desenvolver um adoçante funcional com propriedades antidiabéticas. Esta planta apresenta mais de 100 compostos e dentre os quais se destacam os glicosídeos do esteviol, com alto poder edulcorante que são formados pelo esteviol, um diterpeno glicosilado em C-19 e C-13, onde o átomo de hidrogênio do grupo hidroxila é substituído por combinações de glicose, xilose e ramnose (CHATURVEDULA; UPRETI; PRAKASH, 2011). Neste trabalho estudamos o esteviolbiosídeo (STB), que apresenta uma capacidade de dulçor 44 vezes maior que a sacarose (KHATTAB et al., 2017). Recentemente, nosso grupo de pesquisa avaliou os efeitos do STB na secreção de insulina em ilhotas isoladas de ratos normais e verificamos importantes efeitos insulínótropicos. O STB estimulou a secreção de insulina apenas na em altas concentrações de glicose, por mecanismos

envolvem a ativação da enzima adenilato-ciclase (dados não publicados). Estes resultados são inéditos e, para dar continuidade a estas investigações, neste trabalho avaliamos a hipótese de que ratos diabéticos, induzidos por estreptozotocina, tratados com STB poderiam apresentar melhor controle metabólico do que ratos diabéticos controle.

## Materiais e métodos

*Obtenção do esteviolbiosideo (STB):* o esteviosideo puro foi dissolvido em 250 ml de KOH (m/v) e transferido para um balão de 500 ml. A solução foi aquecida por uma hora sob refluxo e, após resfriamento sob temperatura ambiente, foi tratada com ácido clorídrico 50% (v/v) até pH levemente ácido. O precipitado foi removido por filtração e caracterizado por meio da determinação de suas características físico-químicas.

*Animais experimentais:* Para o tratamento foram utilizados 30 ratos Wistar machos com 60 dias de idade, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais foram mantidos no Biotério do Departamento de Ciências Fisiológicas nas seguintes condições: temperatura de 23°C, fotoperíodo de 12 horas claro / 12 horas escuro, água e ração balanceada (marca Nuvilab - Colombo - PR) ad libitum. Os animais ficaram acondicionados em gaiolas coletivas (46 x 24 x 20 cm), 5 animais por gaiola, ou em gaiolas metabólicas individuais. O protocolo experimental foi aprovado pelo Comitê de Ética da UEM (CEUA nº 9076141116).

*Indução do diabetes e tratamento com o esteviolbiosideo:* Os animais, com 60 dias de idade e em jejum noturno de 12 horas, foram anestesiados (tiopental 40 mg + lidocaína 10mg/Kg, i.p.) e receberam uma única aplicação intravenosa de estreptozotocina (Sigma; 40 mg/kg p.c.) dissolvida em tampão citrato (0,05M; pH 4,5), ficando por mais quatro horas em jejum. O tratamento com o STB (0,1mg/Kg/dia), iniciado três dias após a indução do diabetes, foi por via oral (sonda esofágica), por um período de 30 dias. Foram estabelecidos três grupos experimentais com n=10 para cada grupo: 1) Grupo de animais não diabéticos (C) - este grupo não recebeu nenhum tipo de tratamento; 2) Grupo de animais diabéticos controle (DC) - este grupo recebeu água pura; 3) Grupo de animais diabéticos tratados com o STB (DT) - este grupo recebeu o STB (0,1mg/Kg/dia), por via oral (sonda esofágica), por um período de 30 dias.

*Peso corporal, ingestão alimentar, hídrica e volume de urina:* Os dados de peso corporal foram registrados semanalmente. Os animais foram colocados em gaiolas metabólicas individuais, por um período de 24 horas, que permitiu o registro da ingestão alimentar e hídrica e do volume de urina.

*Teste de Tolerância à Glicose (GTT):* Ao final do tratamento, os animais, em restrição alimentar de 12 horas, receberam uma solução de glicose (1,5g/kg) por via oral (sonda esofágica). Amostras de sangue foram colhidas por punção caudal nos

tempos: 0, 5, 15, 30 e 60 minutos. Os valores de glicemia sanguínea determinados em um glicosímetro da marca MediSence Optium.

*Eutanásia dos animais:* A eutanásia dos animais (jejum noturno de 12 horas) foi realizada por sobrecarga anestésica (tiopental sódico, 120mg/kg, i.p.). Após laparotomia mediana, amostras de sangue foram colhidas através da veia cava inferior e, em seguida, foram retirados e pesados os depósitos de gorduras retroperitoneais e periepípidímidais, os músculos gastrocnêmio, os testículos, as vesículas seminais, os rins, o fígado e o baço.

*Dosagens bioquímicas:* A determinação das concentrações sanguíneas de glicose, colesterol total, HDL, triglicerídeos, aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) foram realizadas com uso de Kits específicos - métodos colorimétricos (Gold Analisa®, Belo Horizonte, MG) e espectrofotômetro (Bioplus2000®, São Paulo, SP).

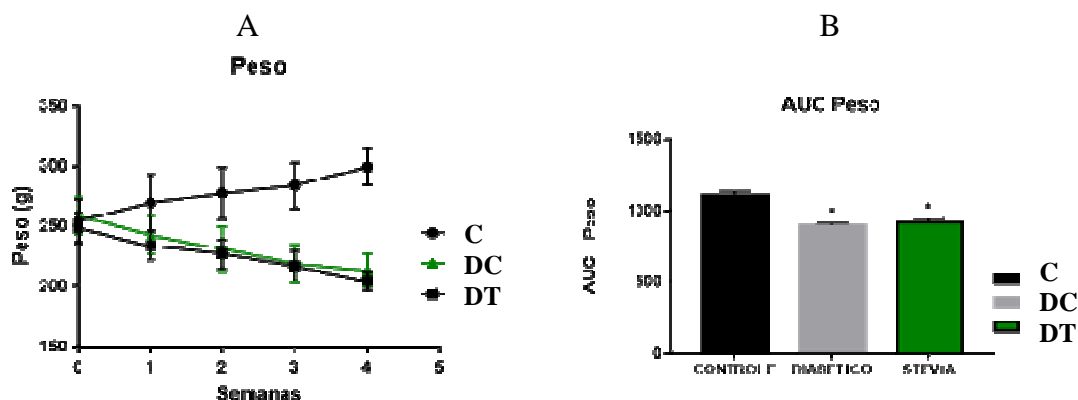
*Análise Estatística:* Os resultados, apresentados como média  $\pm$  epm, foram submetidos à análise de variância, seguido de teste de Tukey ( $p < 0,05$ ). Foi utilizado o programa GraphPad Prism versão 6.0.

## Resultados e discussão

A variação do peso corporal e os valores da área sob a curva são mostrados na Figura 1. Verifica-se que animais não diabéticos apresentaram um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) do peso corporal, enquanto os animais diabéticos perderam peso. Observa-se, também, que o tratamento oral com o STB, durante trinta dias, não teve nenhum efeito sobre este parâmetro. Na Tabela 1 estão os resultados dos parâmetros plasmáticos. Verifica-se que os grupos de animais diabéticos apresentaram hiperglicemia quando comparados com não diabéticos. Também apresentaram as alterações fisiológicas clássicas deste modelo de diabetes experimental, como poliúria e polidipsia (dados não mostrados). Foi observado uma redução expressiva no peso dos órgãos dos animais diabéticos quando comparados com o controle, no entanto, não houve efeito do tratamento com STB sobre este parâmetro (dados não mostrados). O tratamento com STB não modificou significativamente a glicemia, assim como não causou nenhuma alteração nas concentrações plasmáticas de colesterol, triglicerídeos, AST e ALT (Tabela 1). Animais diabéticos controle e tratados com STB apresentaram tolerância à glicose semelhantes no GTT oral e nenhum efeito do tratamentos foi registrado quando se avaliou o peso dos órgãos (dados não mostrados).

## Conclusão

O esteviolbiosídeo não apresentou propriedades antidiabéticas quando administrado oralmente à ratos diabéticos.



**Figura 1.** Efeito do tratamento com esteviolbiosídeo no peso corporal (g) de ratos diabéticos. **(A)** Variação do peso corporal durante o tratamento. **(B)** Área sob a curva dos valores de peso corporal. Os valores representam a média  $\pm$  e.p.m. C: Animais não diabéticos; DC: animais diabéticos controle; DT: animais diabéticos tratados com esteviolbiosídeo (\* $P < 0,05$  ANOVA one-way,  $n = 10$  por grupo).

**Tabela 1.** Parâmetros plasmáticos de ratos não diabéticos (C), diabéticos controle (DC) e diabéticos tratados com esteviolbiosídeo (DT).

Grupo	Colesterol total (mg/dL)	Triglicerídeos (mg/dL)	AST (U/L)	ALT (U/L)	Glicemia de jejum (mg/dL)
C	68,75 $\pm$ 10,30	61,25 $\pm$ 9,20	44,25 $\pm$ 11,30	73,75 $\pm$ 5,20	188,9 $\pm$ 6,17
DC	69,14 $\pm$ 13,60	54,57 $\pm$ 14,60	41,86 $\pm$ 4,10	54,57 $\pm$ 17,20	257,14 $\pm$ 5,79
DT	74,06 $\pm$ 6,30	78,59 $\pm$ 10,40	60,53 $\pm$ 9,30	78,53 $\pm$ 10,30	264,41 $\pm$ 7,14

Valores são média  $\pm$  e.p.m e não diferem significativamente ( $p > 0,0$ ; ANOVA);  $n = 10$  por grupo.

## Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa. À Universidade Estadual de Maringá; ao corpo docente e técnico do Departamento de Ciências Fisiológicas; ao grupo de pesquisa em stevia e à minha orientadora Profa Dra. Cecília Edna Mareze da Costa, pela oportunidade e ensinamentos.

## Referências

CHATURVEDULA, V. S. P.; UPRETI, M.; PRAKASH, I. Diterpene glycosides from stevia rebaudiana. **Molecules**, 16, 3552–3562, 2011.

KHATTAB, S. N.; MASSOUD, M. I.; ABD EL-RAZEK, A. M.; EL-FAHAM, A. Physico-chemical and sensory characteristics of steviolbioside synthesized from stevioside and its application in fruit drinks and food. **J. Food Sci. Technol.**, 54, 185–195, 2017.