

## AVALIAÇÃO DOS EFEITOS ADVERSOS DO *Syzygium cumini* NO SISTEMA NERVOSO CENTRAL E TRATO GASTROINTESTINAL DE RATOS NORMAIS E DIABÉTICOS

Evaluation of *Syzygium cumini* adverse effects on the central nervous system and gastrointestinal tract of normal and diabetics rats

Deila Rosély Carneiro Schossler<sup>1</sup>, Cíntia Melazzo Mazzant<sup>2</sup>, Aron Ferreira da Silveira<sup>3</sup>,  
Sônia Cristina Almeida da Luz<sup>4</sup>, Danívia Prestes<sup>5</sup>, Andreane Filapp<sup>6</sup>,  
Maria Rosa Chitolina Schetinger<sup>6</sup>, Marcelo Cecim<sup>7</sup>

### RESUMO

O *Syzygium cumini*, conhecido popularmente como Jambolão é uma planta amplamente utilizada no tratamento da diabetes melito insulino dependente (DMID). Este estudo verificou a ação do *Syzygium cumini* no sistema nervoso central e gastrointestinal de ratos normais e diabéticos induzidos com aloxano. Os animais foram divididos em grupo controle (C), controle tratado (CT), diabético controle (DC) e diabético tratado (DT). Foi realizada a administração oral por gavagem do extrato aquoso da casca de *Syzygium cumini*, na dose de 1g/kg de peso vivo. Após um período de trinta dias, os animais foram submetidos à eutanásia e o sistema nervoso central (SNC) e trato gastrointestinal foram retirados, avaliados macroscopicamente e microscopicamente. A atividade da acetilcolinesterase (AChE) foi analisada nas seguintes estruturas cerebrais: cerebelo, córtex cerebral, estriato, e hipocampo. Não houve diferença histológica no sistema digestório entre os animais do grupo C e CT e entre DC e DT. Apesar de não haver alteração histológica no encéfalo de nenhum animal, foi observado uma inibição na atividade da acetilcolinesterase no cerebelo e córtex cerebral de

ratos do grupo DT ( $p < 0,05$ ), comparado com o CT. No estriato houve um aumento significativo na atividade da AChE nos ratos do grupo CT ( $p < 0,01$ ) comparado com o C, e no hipocampo não foi encontrado nenhuma variação significativa. Esses resultados indicam que o *Syzygium cumini* demonstrou ser seguro para utilização por via oral, porém possivelmente intensifica alterações na funcionalidade do SNC em ratos diabéticos.

**Palavras-chave:** *Syzygium cumini*, diabetes, sistema nervoso central, trato gastrointestinal.

### ABSTRACT

This study verified the action of *Syzygium cumini* bark extract on CNS and GI tract in normal and alloxan induced diabetic rats. *Syzygium cumini*, popularly known as Jambolão, is a plant widely used in the treatment of insulin dependent diabetes mellitus (DMID). The animals were divided into four groups, control (C), treated control (TC), diabetic control (DC) and treated diabetic (TD). An aqueous extract from *Syzygium cumini* bark, was given by

<sup>1</sup> Médica Veterinária. Doutora. Professora Adjunta Departamento de Morfologia. UFSM. Prédio 19, Departamento de Morfologia. UFSM. Santa Maria, RS. 97100-000. deila@ccs.ufsm.br

<sup>2</sup> Médica Veterinária. Doutoranda. Curso de Bioquímica. UFRGS.

<sup>3</sup> Médico Veterinário. Doutor. Professor Titular Departamento de Morfologia. UFSM.

<sup>4</sup> Médica. Professora Auxiliar. Departamento de Morfologia. UFSM.

<sup>5</sup> Médica Veterinária. Aluna do programa de pós-graduação em Medicina Veterinária. UFSM.

<sup>6</sup> Bióloga. Doutora. Professora Adjunta do Departamento de Química. UFSM.

<sup>7</sup> Médico Veterinário, PhD. Professor Adjunto. Departamento Clínica Grande Animais. UFSM.

gavage in a daily dose of 1 g/kg of body weight. After a thirty day period, the animals were euthanized, the CNS and GI tract were evaluated macroscopically and samples preserved for histological and enzymatic analysis. There were no differences neither between C and TC nor DC and TD groups. In the striatum there was an increase of the enzyme activity in the TC group ( $p < 0.05$ ). The hippocampus showed no significant variation. In spite of the absence of histological alterations in any the brain regions studied, there was an inhibition in acetylcholinesterases activity in the cerebellum and cerebral cortex of TD rats ( $p < 0.05$ ), as compared to TC animals. Such results indicate that *Syzygium cumini* bark extract appears to be safe to oral administration. The results also suggest that the extract possibly induces functional alterations on the CNS of diabetic rats.

**Keywords:** Diabetes, *Syzygium cumini*, central nervous system, gastrointestinal system.

## INTRODUÇÃO

O *Syzygium cumini* é uma das plantas mais utilizadas no tratamento da DMID. É uma planta originária da Índia, aclimatada no Brasil e pertencente à família das Mirtáceas, sendo vulgarmente conhecida como Jambolão. A planta possui em seus constituintes os flavonóides, as saponinas, os ácidos graxos, o tanino, o eugenol, a antimielina e os triterpenos. Todas as partes da planta são utilizadas para fins medicinais e tem grande tradição na medicina alternativa (SIANI et al., 2000).

Além do seu efeito hipoglicemiante, a casca da planta vem sendo pesquisada por sua atividade antiinflamatória, conforme pesquisa realizada por Muruganandan et al. (2001) que utilizaram o extrato etanólico da casca do *Syzygium cumini* em ratos com inflamação aguda e sub-aguda produzida experimentalmente e concluíram que a casca desta planta tem um alto poder antiinflamatório. A casca é também utilizada para o tratamento de diarreias e desordens gastrintestinais, porém pode ocorrer irritação da mucosa devido à alta concentração de tanino presente nesta parte da planta (SIANI et al., 2000). Por outro lado, o *Syzygium cumini* demonstrou uma ação sedativa, anticonvulsivante (DE LIMA et al., 1998) e depressora do sistema nervoso central (SNC) (CHAKRABORTY et al., 1986).

A diabetes melito está associada com alterações cognitivas, estruturais e fisiológicas do cérebro (BIESSELS et al., 2002). Entre essas

alterações o estado diabético causa uma diminuição de 40% no transporte da colina através da barreira hemato-encefálica e uma diminuição na síntese e liberação da acetilcolina em regiões específicas do cérebro. Consequentemente, uma diminuição no transporte axonal da acetilcolinesterase (AChE) em neurônios colinérgicos (KHANDKAR et al., 1995).

AChE é uma serina hidrolase que desempenha um papel essencial no mecanismo colinérgico, catalizando a hidrólise natural do substrato acetilcolina em ácido acético e colina. É uma importante enzima regulatória que controla a transmissão de impulsos nervosos através de sinapse colinérgica, hidrolizando o neurotransmissor excitatório acetilcolina (ACh), que têm sido associada com as funções cognitivas, processamento de informações sensoriais, organização cortical do movimento e controle do fluxo sanguíneo cerebral (MILATOVIC et al., 1996).

Considerando que o *Syzygium cumini* possui um efeito depressor no SNC, torna-se relevante o estudo da atividade da AChE nas estruturas (cerebelo, córtex cerebral, estriato e hipocampo), uma vez que na literatura disponível, não foram encontrados dados referentes à atividade desta enzima, relacionada com a planta em estudo.

Este trabalho foi conduzido para investigar possíveis efeitos adversos do *Syzygium cumini* no SNC e trato gastrintestinal de ratos normais e diabéticos, correlacionando os achados microscópicos do encéfalo com a atividade da AChE nas estruturas cerebrais (cerebelo, córtex cerebral, estriato e hipocampo).

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo foi realizado em 39 ratas adultas da linhagem Wistar, pesando entre 180 e 300g, provenientes do Biotério Central da Universidade Federal de Santa Maria (UFSM). Foi oferecido aos animais dieta sólida<sup>a</sup> e hídrica *ad libitum*. As cascas do caule de *Syzygium cumini* foram coletadas em maio de 2001, no município de Santa Maria (Rio Grande do Sul, Brasil). A identificação botânica da planta foi realizada pelo biólogo Gilberto Zanetti (inscrito no "Cadastro Técnico Federal de Atividades e Instrumento de Defesa Ambiental" sob o número 4131/98 conforme exigência do IBAMA) e então registrada no Herbário de Plantas Medicinais e Tóxicas do Departamento de Farmácia Industrial da UFSM, pela exsicata de número 160. O material vegetal (casca do caule) de *Syzygium cumini* foi seco, inicialmente sob luz e após em uma estufa à

temperatura de 50°C por um período de 72 horas, sendo em seguida processado em moinho Wiley. Foi realizada a seguir a extração a frio, utilizando-se o etanol como solvente. O material obtido foi submetido à evaporação do solvente em rotavapor com pressão reduzida, obtendo-se um resíduo escuro viscoso, denominado extrato bruto com rendimento de 10% do peso (4100 g) da casca do caule.

Para a indução da DMID administrou-se aloxano<sup>b</sup> (diluído a 2% em solução de citrato de sódio 0,05 M, pH 4,5) na dose de 150 mg/kg, via intraperitoneal, dose única. Após seis horas da indução, os animais receberam glicose a 10% *ad libitum* como única fonte de alimentação. Após 15 dias a glicose sanguínea foi determinada e somente os animais com glicemia de jejum superior a 180mg/dL foram considerados diabéticos e selecionados para o experimento.

Os animais foram divididos de forma aleatória em 4 grupos: Grupo 1: controle (C=11); Grupo 2: controle tratado (CT=9); Grupo 3: diabético controle (DC=10); Grupo 4: diabético tratado (DT=9). Os grupos C e DC receberam diariamente 2mL de água destilada e os grupos CT e DT receberam diariamente o extrato da casca de *Syzygium cumini* na dose de 1g/Kg de peso vivo. O tratamento de todos os grupos foi realizado através de uma sonda oroesofágica (gavagem) durante 30 dias.

Após o período experimental os animais foram submetidos à eutanásia sendo os encéfalos retirados e os hemisférios cerebrais separados e distribuídos para avaliação histológica e atividade enzimática. Os hemisférios esquerdos foram acondicionados em bouin por 12 horas e emblocados em parafina para confecção de lâminas histológicas. Os hemisférios direitos foram colocados sobre um papel filtro umedecido com medium I (sacarose 0,32M, tris 1,0mM, EDTA 0,1 mM, pH 7,5) e as estruturas cerebrais separadas em cerebelo, córtex cerebral, estriado e hipocampo para determinação da atividade da AChE. Após avaliação macroscópica, o estômago e duodeno foram acondicionados em formol tamponado.

Após um período de 12 horas os hemisférios cerebrais esquerdos, as regiões fúndica e antral do estômago e os intestinos delgados foram emblocados em parafina e submetidos a cortes seriados (5 mm). As lâminas foram imersas em xilol por 5 min e depois em álcool a 70%, 80%, 90% e 100% sucessivamente, permanecendo 5 min em cada concentração. Posteriormente, foram imersas em água destilada por 5 min, Hematoxilina de Harris por 3 min, lavadas em água corrente e imersas em

eosina floxina por 3 min. Em seguida, foram lavadas em água destilada e em álcool em concentrações decrescentes (95%, 80%, 50% e 40%). As lâminas foram avaliadas em microscópio óptico binocular nos aumentos de 100, 200, 400 e 1000X.

A atividade da AChE foi determinada no cerebelo, córtex cerebral, estriado e hipocampo através do método de Ellman et al. (1961), modificado por Villescas et al. (1981).

Realizou-se análise estatística dos valores da AChE aplicando-se a análise de variância (ANOVA) de uma via seguido pelo teste de comparações múltiplas de Tukey-Kramer. Todos os resultados foram indicados pela média  $\pm$  EPM.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação macroscópica do estômago dos animais do grupo C, CT, DC, DT, demonstrou que a mucosa estava com preequívoco habitual, sem sinais hemorrágicos ou erosivos. Em dois animais do grupo DC foi observada uma discreta hiperemia da mucosa gástrica. Essas alterações provavelmente devem-se ao estado diabético dos animais induzidos experimentalmente, já que, na diabetes, mais de 76% dos pacientes apresentam sinais clínicos provenientes do trato gastrintestinal como náusea, vômito, azia, constipação, diarreia e incontinência fecal (LOCKE III, 1995; SPANGEUS, 2000).

Não houve diferença significativa entre os grupos C, CT, DC e DT na avaliação microscópica do estômago, sendo observadas em todos os animais as regiões fúndica e antral com camada de revestimento íntegro e lâmina própria altamente vascularizada com grande população de fibroblastos e plasmócitos, porém livres de infiltração por neutrófilos e linfócitos.

O duodeno de todos os animais apresentou anatomia macroscópica com características similares. Na avaliação microscópica de todos os grupos foi observada uma camada de epitélio simples recoberta por vilos, e core de tecido conjuntivo frouxo contendo moderada quantidade de fibras colágenas, muitos fibroblastos e pequena a moderada infiltração plasmocitária. Esses resultados indicam que a utilização do extrato da casca de *Syzygium cumini* na dose de 1g/kg durante 30 dias, não promoveu nenhuma alteração macroscópica ou microscópica no estômago e duodeno dos animais tratados com o Jambolão. Esses resultados condizem com os achados de Muruganandan et al. (2001) e Siani et al. (2000), onde observaram que o extrato da casca de *Syzygium cumini* não apresentou toxicidade e

capacidade ulcerogênica na mucosa gástrica dos animais tratados com a planta, tornando-a segura para ser utilizada em pacientes diabéticos.

Ao exame macroscópico, o tecido cerebral de todos os grupos mostrou-se de consistência característica. Na avaliação microscópica foram observados corpos neuronais piramidais e fusiformes, acompanhados de pequenos núcleos de células gliais e estruturas fibrosas curtas dendríticas e axonais. Não houve evidência de injúria neuronal como

picnose e apoptose. Esses resultados indicam que no período de 30 dias o estado diabético não promoveu alterações no tecido cerebral ocasionado por distúrbios metabólicos e vasculares descritos por Milatovic et al. (1996) e Bielsse et al. (2002).

A atividade da acetilcolinesterase (AChE) teve uma diminuição significativa no cerebelo de ratos do grupo DT ( $p < 0,05$ ), comparado com o grupo C, CT e DC (Tabela 1).

Tabela 1. Atividade da acetilcolinesterase (AChE) no cerebelo, córtex cerebral, estriado e hipocampo de ratos normais e diabéticos tratados com o extrato da casca de *Syzygium cumini* durante 30 dias.

Grupo	AChE (imoles/ AcSCh/mg/h) <sup>-1</sup>			
	Cerebelo	Córtex	Estriado	Hipocampo
Controle (C=11)	2,62 ±0,36 a	5,14 ±0,56 a	19,75 ±2,17 a	5,48 ±1,08
Controle Tratado (CT=9)	2,75 ±0,29 a	5,96 ±1,07 a	27,75 ±1,93 b	5,49 ±0,52
Diabético Controle (DC=10)	2,74 ±0,21a	4,07 ±0,18 a	16,45 ±1,32 c	3,91 ±0,87
Diabético Tratado (DT=9)	1,42 ±0,18 b	3,32 ±0,29 b	17,60 ±1,99 c	3,04 ±0,72

Os valores representam as médias ± erro padrão da média (EPM); letras diferentes dentro da mesma coluna representam diferenças significativas ( $p < 0,05$ ) entre si.

Observou-se também uma diminuição significativa na atividade da AChE no córtex cerebral de ratos do grupo DT ( $p < 0,05$ ), comparado com o grupo CT. Esses resultados indicam que apesar de não haver lesões nas estruturas neuronais, como degeneração, necrose e apoptose, o *Syzygium cumini* promoveu uma alteração na atividade de hidrólise da ACh liberada por esses neurônios em animais diabéticos. Essa alteração deve-se à diminuição na atividade da AChE, ocorrendo, portanto, um efeito inibitório na degradação da ACh, concordando com estudos realizados por Lakhman & Kaur (1993) e Khandkar et al. (1995), os quais observaram uma diminuição nos níveis de AChE em ratos diabéticos induzidos pelo aloxano. Porém, o fato desta diminuição ser significativa somente nos animais diabéticos tratados com a planta, sugere que o *Syzygium cumini* potencializa as alterações no metabolismo cerebral causadas pelo estado diabético.

No estriado foi observada uma maior atividade da AChE no grupo CT comparado com o C (Tabela1), sugerindo que a planta por si só pode intensificar a atividade da AChE, o que também foi relatado por Chakraborty et al. (1996) e De Lima et al. (1998), os quais observaram que a planta possui algum princípio ativo, ainda não caracterizado, com ação no SNC. Nenhuma variação significativa foi encontrada no hipocampo dos grupos estudados.

Devem ser realizados estudos mais aprofundados para avaliação do efeito do extrato da casca do *Syzygium cumini* no SNC pois, segundo Bianchi (1999), na utilização de fitoterápicos, a relação eficácia/ segurança deve ser levada em consideração para a escolha do tratamento adequado.

## CONCLUSÕES

Com base nos resultados obtidos neste

experimento, pode-se concluir que o extrato da casca de *Syzygium cumini* não produz alterações macroscópicas e histológicas no estômago e duodeno. A planta não promove alterações macroscópicas e histológicas no encéfalo e causa um efeito inibitório na atividade da acetilcolinesterase no cerebelo e córtex cerebral, um aumento na atividade dessa enzima no estriado e não promove alteração na atividade da acetilcolinesterase no hipocampo.

#### MATERIAIS DE PESQUISA

- a- SUPRA LAB, Alisul Ind. Alimentos Ltda., São Leopoldo, RS.
- b- ALLOXAN MONOHYDRATE, Sigma-Aldrich Inc, St Louis, MO.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BIANCHI, A. Phytotherapy between tradicional medicine and alternative practices: how much safety and how much efficacy?. **Annali dell Istituto Superiore di Sanita**, Roma, v. 35, v. 4, p. 505-508, 1999.
- BIESSELS, G. J., VAN DER HEIDE, L. P., KAMAL, A. Ageing and diabetes: implications for brain function. **European Journal of Pharmacology**, Amsterdam, v. 441, n. 1-2, p. 1-14, 2002.
- CHAKRABORTY, D., MAHAPATRA, P.K., CHAUDHURI, A.K.N. A neuropsychopharmacological study of *Syzygium cumini*. **Planta Médica**, Stuttgart, v. 2, p. 130-143, 1986.
- DE LIMA, T.M., KLUEGER, P.A., PEREIRA, P.A., NETO, W.P.M., MORATO, G.S., FARIAS, M.R. Behavioural effects of crude and semi-purified extracts of *Syzygium cumini* linn. Skeels. **Phytotherapy Research**, London, v. 12, p. 488-493, 1998.
- ELLMAN, G. C. COURTNEY, K.D., ANDRES, V., FHEATHERSTONE, R.M.A. New and rapid colorimetric determination of acetilcolinesterase activity. **Biochemical Pharmacology**, New York, v. 7, n. 2, p. 88-95, 1961.
- KHANDKAR, M.A., MUKHERJEE, E., PARMAR, D.V., KATYARE, S. Alloxan-diabetes alters kinetic properties of membrane-bound form, but not of the soluble form, of acetylcholinesterase in rat brain. **The Biochemical Journal**, London, v. 307, n. 3, p. 647-649, 1995.
- LAKHMAN, S.S., KAUR, G. Effect of alloxan-induced diabetes on acetylcholinesterase activity from discrete areas of rat brain. **Neurochemistry International**, Oxford, v. 24, n. 2, p. 159-163, 1994.
- LOCKE III, G.R. Epidemiology of gastrointestinal complications of diabetes mellitus. **Journal of Gastroenterology and Hepatology**, Carlton, v. 7, n. 8, p. 711-716, 1995.
- MILATOVIC, D., DETTBARN, W-D. Modification of acetylcholinesterase during adaptation to chronic subcutaneous paraoxon application in rat. **Toxicology and Applied Pharmacology**, San Diego, v. 136, n. 1, p. 20-28, 1996.
- MURUGANANDAN, S., SRINIVASAN, K., CANDRA, S., TANDAN, S.K., LAL, J., RAVIPRAKASH. Anti-inflammatory activity of *Syzygium cumini bark*. **Fitoterapia**, Milano, v. 72, n. 4, p.369-375, 2001.
- SIANI, A.C., SAMPAIO, A.L.F., SOUZA, M.C., HENRIQUES, M.G.M.O., RAMOS, M.F.S. Óleos essenciais, potencial antiinflamatório, **Revista Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento**, v. 3, n. 16, p.38-43, 2000.
- SPANGEUS, A., SUHR, O. EL-SALHY, M. Diabetics state affects the innervation of gut in animal model of human type 1 diabetes. **Histology and Histopathology**, Murcia, v. 15, n. 3, p. 739-744, 2000.
- VILLESCAS, R., OSTWAALD, R., MORIMOTO, H., BENNET, E. Effects of neonatal undernutrition and cold stress on behavior and biochemical brain parameters in rats. **Journal of Nutrition**, Philadelphia, v. 111, n. 6, p. 1103-1110, 1981.