
ARTIGO ORIGINAL

Índice de polifenóis totais do chá da semente do abacate (*Persea americana*) e seu efeito sobre o perfil bioquímico de ratos induzidos ao diabetes mellitus tipo 2

Index of total polyphenol in avocado's seed tea (*Persea americana*) and its effect on the biochemical profile of diabetes mellitus type 2 induced rats

Sandra Soares Melo, D.Sc.*, Cíntia Milene Comelli Odorizzi**, Tatiana Mezdari, D.Sc.***, Adriana Bramorski, M.Sc.****

Docente do Curso de Nutrição da Universidade do Vale do Itajaí, **Acadêmica do Curso de Nutrição da Universidade do Vale do Itajaí, Bolsista do Programa de Bolsas de Pesquisa do Artigo 170, *Docente do Curso de Nutrição da Universidade do Vale do Itajaí, ****Docente do Curso de Nutrição da Universidade do Vale do Itajaí*

Resumo

Objetivo: Avaliar o Índice de Polifenóis Totais (IPT) do chá da semente do abacate e seu efeito sobre perfil glicêmico e lipídico de ratos induzidos ao diabetes tipo 2. *Método:* Foram estudados 36 ratos machos, adultos, divididos em 4 Grupos: CA (dieta padrão; água); CC (dieta padrão; chá da semente do abacate); DA (dieta hiperlipídica; água); DC (dieta hiperlipídica; chá da semente do abacate). Após duas semanas de dieta hiperlipídica, o diabetes foi induzido com administração de estreptozotocina para os Grupos DA e DC. Posteriormente, os animais receberam chá da semente do abacate ou água por 3 semanas. Ao final do estudo o sangue foi utilizado para determinar as concentrações de glicose, hemoglobina glicosilada, colesterol total e triglicérides. *Resultados:* O IPT do chá da semente do abacate foi de 630 mg de ácido gálico/l. Ao comparar as médias séricas de glicose basal e final do Grupo DC verificou-se redução destes valores (400,5 x 335,5 mg/dl p = 0,04). Este grupo apresentou menor valor médio de colesterol em relação ao Grupo DA (407,10 x 524,63 mg/dl). *Conclusão:* O efeito do chá sobre a glicemia e o colesterol foi constatado apenas frente à administração de dieta hiperlipídica, sendo esta ação atribuída possivelmente à presença de polifenóis.

Palavras-chave: *Diabetes mellitus* tipo 2, hipercolesterolemia, glicemia, abacate.

Abstract

Objective: To evaluate the Total Polyphenol Index (TPI) of tea made from avocado seeds and its effect on the glycemic and lipid profiles of rats induced to type 2 diabetes. *Method:* 36 adult, male rats were studied, divided into 4 Groups: CA (standard diet; water); CC (standard diet; avocado seed tea); DA (hyperlipidemic diet; water); DC (hyperlipidemic diet; avocado seed tea). After two weeks of the hyperlipidemic diet, diabetes was induced by the administration of streptozotocin in Groups DA

Recebido 18 de julho de 2008; aceito 15 de março de 2009.

Endereço para correspondência: Prof. Dra. Sandra Soares Melo, Universidade do Vale do Itajaí, Laboratório de Nutrição Experimental – Curso de Nutrição Bloco 27 Térreo CCS, Rua Uruguai, 458 Centro 88302-202 Itajaí SC, Tel: (47) 3341-7952, (48) 99805798, E-mail: ssmelo@gmail.com/ssmelo@univali.br

and DC. Subsequently, the animals received avocado seed tea or water for 3 weeks. At the end of the study, the animals blood was used to determine the concentrations of glucose, glycosylated hemoglobin, total cholesterol and triglycerides. *Results:* The TPI of avocado seed tea was 630 mg of gallic acid/l. Comparing the serum averages of the basal and final glucose of Group DC, a reduction in these values was seen (400.5 x 335.5 mg/dl p = 0.04). This group presented lower average cholesterol values in relation to Group DA (407.10 x 524.63 mg/dl). *Conclusion:* The effect of the tea on the glicemia and cholesterol was observed only for the hyperlipidemic diet, this action being possibility attributed to the presence of polyphenols.

Key-words: *Diabetes mellitus* type 2, hipercolesterolemia, glicemia, avocado.

Introdução

A ocorrência de *diabetes mellitus* em um grupo populacional está ligada, principalmente, a fatores socioeconômicos e culturais, tais como: urbanização, hábitos alimentares, estilo de vida sedentário, estresse, bem como, a predisposição familiar [1].

De acordo com a Sociedade Brasileira de Diabetes o *diabetes mellitus* é uma síndrome de etiologia múltipla, decorrente da falta de insulina associado ou não a incapacidade da insulina exercer adequadamente seus efeitos. Caracteriza-se por hiperglicemia crônica, frequentemente acompanhada de dislipidemia, hipertensão arterial e disfunção endotelial. [2].

Atualmente o diabetes é caracterizado e exclusivamente definido pela elevada concentração de glicose sanguínea. Embora a hiperglicemia seja o fenômeno comum no diabetes existem muitas variedades do mesmo, sendo que as formas mais observadas são o tipo 1 e tipo 2. O diabetes tipo 1 é causado pela destruição das células beta, e ocorre principalmente em crianças, sendo representado por 10% dos casos. O diabetes tipo 2 é a forma mais comum sendo que representa 80 a 90% dos casos acometendo principalmente indivíduos adultos, embora atualmente vem sendo diagnosticado casos em crianças em virtude de hábitos alimentares incorretos e falta de atividade física [3].

O *diabetes mellitus* e as complicações advindas com o mesmo estão relacionadas com o estresse oxidativo. Este ocorre durante a hiperglicemia persistente do diabetes devido ao aumento da produção de radicais livres, que por sua vez exercem efeitos citotóxicos no organismo, em especial sobre as células pancreáticas [4].

Geralmente a conduta do *diabetes mellitus* tipo 2 envolve a combinação de um plano dietético, um programa de exercícios e o uso de drogas hipoglicemiantes. Existe interesse crescente no uso de plantas medicinais e alimentos saudáveis para auxiliar no tratamento e redução de riscos da doença [5].

Um grande número de espécies de plantas tem sido utilizadas no tratamento do diabetes, de modo que várias substâncias extraídas destas têm efeitos sobre as concentrações sanguíneas de glicose [6].

Entre estas encontra-se o abacateiro, cuja semente do fruto vem sendo investigada pela presença de compostos fenólicos. Estes podem atuar no estresse oxidativo, pois oferecem proteção as células uma vez que podem inibir a fase de propagação de auto-oxidação e assim evitar uma variedade de agressões causadas pelos radicais livres [7].

Apesar do chá da semente do abacate ser amplamente utilizado na medicina popular, ainda são escassas as evidências científicas quanto à presença de substâncias na semente do abacate que estariam atuando como coadjuvantes na melhora do perfil glicêmico e lipídico de indivíduos diabéticos. Deste modo, torna-se importante a investigação de possíveis efeitos do chá da semente do abacate, o qual poderia ser utilizado para auxiliar no controle metabólico do *diabetes mellitus* tipo 2.

O presente estudo teve por objetivo determinar o índice de polifenóis totais do chá da semente do abacate (*Persea americana*) e seu efeito sobre o perfil glicêmico e lipídico em ratos induzidos ao *diabetes mellitus* tipo 2.

Material e métodos

Este experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Experimental (LANEX), do Curso de Nutrição, da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), Balneário Camboriú-SC, de acordo com as Normas Internacionais para Pesquisa Biomédica em Animais. O presente projeto foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa da UNIVALI, sob o número do protocolo 227/07.

Índice de polifenóis totais

A determinação do índice de polifenóis totais foi realizada no Laboratório de Bromatologia (LABRO), do Curso de Nutrição, da Universidade do Vale do Itajaí (UNIVALI), Balneário Camboriú-SC. Para determinação foi utilizado o chá da semente do abacate preparado conforme citado no item Preparação do chá, e após diluído a 10/50. A medida espectrofotométrica foi realizada utilizando-se o espectrofotômetro UV

da marca Shimadzu®. Para a reta de calibração foram preparadas diferentes concentrações do fenol padrão (0; 50; 100; 150; 250 e 500 mg/l). De cada uma dessas concentrações, foi retirado 1 mL e transferido a balões volumétricos de 100 ml aos quais foram acrescentados aproximadamente 60 ml de água e 5 mL do reagente Folin-Ciocalteu®, então foi agitado e após 30 segundos e antes de 8 minutos adicionado 15 ml da solução de carbonato de sódio. Logo, cada balão volumétrico foi completado até 100 ml com água destilada, esta solução repousou por 2 horas a 24°C. A absorvância foi determinada a uma longitude de onda de 765 nm e representada a absorvância frente à concentração do fenol padrão. A amostra de chá foi diluída a uma concentração que permanecesse dentro do espectro de absorção UV (0,1-1). Foi retirado 1 ml da amostra de chá diluído a 10/50 para determinação do IPT segundo o método de Folin-Ciocalteu [8], como descrito previamente para a reta de calibração. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico/l de chá.

Animais

No experimento foram utilizados 36 ratos machos, adultos, espécie *Rattus norvegicus*, linhagem Wistar e variação *albinus*, com peso médio de $166 \pm 12,1$ gramas (g), procedentes do Biotério Central da UNIVALI, Campus I, Itajaí-SC. Os animais foram divididos em blocos ao acaso, em quatro grupos, conforme descrito abaixo:

Grupo CA – dieta padrão AIN-93M e água destilada (n = 6);

Grupo CC – dieta padrão AIN-93M e tratamento com chá da semente do abacate (n = 6);

Grupo DA – dieta hiperlipídica e água destilada (n = 12);

Grupo DC – dieta hiperlipídica e tratamento com chá da semente do abacate (n = 12).

O número de animais utilizado no experimento foi definido com base no levantamento bibliográfico realizado sobre o tema, considerando possíveis óbitos decorrentes da indução ao *diabetes mellitus*.

Dietas

As dietas para os Grupos CA e CC foram preparadas segundo a recomendação do *American Institute of Nutrition* para manutenção de ratos adultos (AIN-93 M) [9]. A dieta para os Grupos DA e DC foi composta segundo a recomendação do AIN-93M acrescida de 310 g de banha de porco/kg de dieta e 10 g de colesterol sintético (Vetec®). A dieta com alta concentração de gordura foi oferecida durante as 2 semanas iniciais do estudo, baseada na metodologia

para indução de *diabetes mellitus* tipo 2 experimental descrita por Srinivasan *et al.* [10].

Ingestão de líquidos

Para os Grupos CC e DC foi oferecido chá da semente do abacate durante três semanas após a indução do diabetes, e para os demais grupos água destilada *ad libitum*.

Preparação do chá

O chá foi preparado diariamente no Laboratório de Nutrição Experimental. Utilizou-se o método de decocção: em um recipiente foram colocados 1000 ml de água destilada com 2 sementes de abacate; após entrar em ebulição foi fervido por 5 minutos, retirado do fogo e coado. Em seguida o chá foi oferecido para os animais em temperatura ambiente, com troca a cada 24 horas. Os frutos foram adquiridos no comércio local da cidade de Balneário Camboriú/SC.

Ambiente e Gaiolas

Durante o experimento os animais foram alojados em gaiolas metabólicas de aço inoxidável, em sala fechada com temperatura controlada ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), com ventilação artificial por meio de exaustores e insuflador, e com ciclo de luz 12 horas claro/escuro.

Indução do diabetes

Os animais dos Grupos DC e DA receberam dieta hiperlipídica por 2 semanas e em seguida receberam sem jejum prévio dose de estreptozotocina (Sigma®) de 35 mg por kg de peso do animal, via intraperitoneal, pH 4,4 e concentração de 32,5 mg de streptozotocina/1ml de solução citrato. Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicemia ≥ 300 mg/dl [10].

Delineamento experimental

Os animais permaneceram em período de adaptação ao ambiente durante três dias recebendo dieta comercial peletizada (Nuvital®).

Após o período de adaptação os animais foram colocados em seus respectivos regimes alimentares por um período de duas semanas. Posteriormente, os grupos com dieta hiperlipídica receberam, sem jejum prévio, dose de estreptozotocina de 35 mg/kg de peso corporal, via intraperitoneal e os grupos com dieta normal receberam dose de solução citrato de 1 ml/kg de peso corporal.

Os animais dos Grupos CC e DC após indução do diabetes passaram a receber além das respectivas dietas chá da semente do abacate *ad libitum* por período de três semanas e os demais grupos continuaram recebendo água destilada *ad libitum*.

A reposição das dietas, bem como a higienização dos comedouros, bebedouros e gaiolas foi realizada três vezes por semana e as reposições de água ou chá foram realizadas diariamente. O peso dos animais, consumo alimentar e ingestão de líquidos foram registrados três vezes por semana e o volume urinário e o peso fecal semanalmente.

A mensuração da glicemia foi realizada 24 horas após a administração de estreptozotocina e de solução citrato, na terceira semana do experimento e no último dia do experimento, sem jejum prévio dos animais utilizando glicosímetro Advantage Roche®.

No 35º dia de experimento foi realizada a eutanásia dos animais. Primeiramente, foi aplicado 50 mg de anestésico Zoletil 50 (Virbac®) por kg de peso do animal, via intraperitoneal. Após a abertura da parede torácica, foi realizada a punção cardíaca do ventrículo direito.

O sangue coletado foi centrifugado a 3000 rpm, a temperatura ambiente, por dez minutos para a obtenção do soro. As determinações das concentrações séricas ao final do estudo, de hemoglobina glicada, colesterol total, foram realizadas com auxílio de kits enzimáticos específicos para cada substância e a leitura realizada em equipamento automatizado Cobas Mira (Roche®). Em adição para comparação com dados obtidos ao longo do experimento foram mensuradas

as concentrações de glicose, colesterol e triglicerídeos em dosadores portáteis nos modelos Advantage e Accutrend®GCT ambos da marca Roche®.

O fígado e o pâncreas dos animais foram retirados, lavados em solução salina gelada, colocados sob papel filtro e imediatamente pesados para comparação entre grupos.

Para análise estatística foi utilizado o programa Graph Pad InStat®, versão 3.0. As variáveis foram apresentadas como médias e desvios padrão. A determinação das diferenças entre os grupos experimentais foi realizada através da Análise de Variância (ANOVA), com pós teste de Tukey-Kramer. Em todos os testes realizados foram consideradas significativas as diferenças com $p < 0,05$.

Resultados

Na análise realizada para determinação do índice de polifenóis totais foi constatado 630 mg de ácido gálico/l de chá da semente do abacate.

Ao final do estudo os Grupos controles permaneceram com o mesmo número de animais. No Grupo DA dois animais foram a óbito e um animal não se tornou diabético totalizando em nove animais e no Grupo DC dois animais foram a óbito restando dez animais.

Na Tabela I estão descritas as médias e desvios padrão do consumo alimentar ao longo do estudo. Na primeira semana e quinta semana não foram observadas diferenças estatisticamente significativas. O Grupo DA, na segunda semana, diferiu dos Grupos Controles

Tabela I - Médias e desvios padrão do consumo alimentar (g) dos diferentes grupos durante o período experimental.

Grupos	1º semana	2º semana	3º semana	4º semana	5º semana
CA	21,96 ± 1,61 ^a	22,81 ± 1,51 ^a	23,04 ± 1,72 ^a	23,79 ± 0,78 ^a	22,33 ± 1,49 ^a
CC	22,67 ± 1,51 ^a	23,11 ± 2,34 ^a	22,60 ± 3,26 ^{ab}	24,23 ± 1,59 ^a	22,82 ± 2,95 ^a
DA	19,53 ± 2,84 ^a	17,71 ± 2,12 ^b	16,77 ± 2,28 ^b	17,20 ± 4,40 ^b	22,55 ± 3,23 ^a
DC	21,19 ± 3,14 ^a	20,35 ± 4,45 ^a	17,61 ± 2,86 ^b	19,59 ± 3,09 ^b	25,50 ± 3,82 ^a
Valor de p	0,0937	0,0029	< 0,0001	0,0002	0,1374

Legenda: CA – Grupo Controle Água; CC – Grupo Controle Chá; DA – Grupo Diabetes Água; DC – Grupo Diabetes Chá; Análise estatística: letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre grupos, com $p < 0,05$.

Tabela II - Médias e desvios padrão da evolução ponderal dos diferentes grupos durante o período experimental.

Grupos	Peso inicial	1º semana	2º semana	3º semana	4º semana	5º semana
CA	174,50 ± 13,17 ^a	169,83 ± 14,78 ^a	193,92 ± 15,53 ^a	211,33 ± 20,98 ^a	236,58 ± 18,29 ^a	246,17 ± 26,92 ^a
CC	174,50 ± 06,53 ^a	177,42 ± 07,24 ^a	201,33 ± 13,74 ^a	223,42 ± 23,40 ^a	236,67 ± 17,47 ^a	256,17 ± 32,04 ^a
DA	175,17 ± 16,12 ^a	177,67 ± 18,87 ^a	193,92 ± 24,29 ^a	209,54 ± 26,40 ^a	212,50 ± 24,53 ^a	213,23 ± 23,39 ^b
DC	175,08 ± 17,59 ^a	182,63 ± 21,49 ^a	205,25 ± 35,64 ^a	219,92 ± 40,92 ^a	212,00 ± 29,94 ^a	213,88 ± 35,12 ^b
Valor p	0,9996	0,5707	0,7151	0,7598	0,0710	0,0125

Legenda: CA – Grupo Controle Água; CC – Grupo Controle Chá; DA – Grupo Diabetes Água; DC – Grupo Diabetes Chá; Análise estatística: letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre grupos, com $p < 0,05$.

(CA e CC) e do Grupo DC, apresentando menor média de consumo alimentar. Na terceira e quarta semanas os Grupos Controles exibiram consumo alimentar estatisticamente maior quando comparados aos Grupos Diabéticos.

Observando-se as médias e desvios padrão da evolução ponderal ao longo do período experimental constatou-se que até a quarta semana os grupos não diferiram estatisticamente. Ressalta-se que na quarta semana os Grupos Diabéticos apresentaram tendência a diferir dos Grupos controles ($p = 0,07$) com menor peso corporal e na quinta semana esta diferença foi estatisticamente significativa (Tabela II).

Quanto as médias e desvios padrão do consumo de líquido dos grupos experimentais durante o estudo, até a terceira semana não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos. O Grupo DC na, quarta semana, apresentou consumo de chá estatisticamente maior que os demais grupos e o Grupo DA exibiu maior consumo hídrico quando comparado ao Grupo CC. Na quinta semana os Grupos Controles apresentaram menores médias ($p < 0,0001$) que os Grupos Diabéticos, expressos em mL/dia (CA = 17,88; CC = 12,97; DA = 38,92 e DC = 49,81).

Em concordância com os dados de consumo de líquidos, a excreção urinária dos grupos experimentais até a terceira semana do estudo não demonstrou diferenças estatisticamente significativas. Na primeira, segunda e terceira semanas não foram observadas diferenças estatisticamente significativas. Na quarta e quinta semana a excreção urinária dos Grupos Dia-

béticos foi estatisticamente maior que a dos Grupos Controles.

Em relação as médias e desvios padrão da excreção fecal durante o período experimental não foram verificadas diferenças estatisticamente significativas entre os Grupos nas duas semanas iniciais do estudo. Na terceira semana o Grupo CC exibiu excreção estatisticamente maior quando comparado aos Grupos Diabéticos. Na quarta semana os Grupos Diabéticos diferiram estatisticamente entre si, sendo que o Grupo DC apresentou maior excreção fecal. O Grupo DC, na quinta semana, apresentou excreção fecal estatisticamente maior que os Grupos CA e DA (Tabela III).

Na Tabela IV estão apontadas as médias e desvios padrão das concentrações séricas de hemoglobina glicada e colesterol total obtidas por exames laboratoriais e triglicerídeos obtido por dosador portátil, ao final do estudo. Em relação aos valores de hemoglobina glicada constatou-se que os Grupos Diabéticos apresentaram valores estatisticamente superiores aos Grupos Controles, os quais não diferiram entre si. Quanto às concentrações séricas de colesterol total verificou-se que o Grupo DA foi estatisticamente diferente dos Grupos controles com maior concentração de colesterol. O Grupo DC não diferiu estatisticamente quando comparado aos Grupos Controles e ao Grupo DA. Na análise das concentrações séricas de triglicerídeos não foi constatada diferença estatística entre os grupos. No entanto percebeu-se uma forte tendência ($p = 0,05$) dos Grupos CC e DC a diferirem estatisticamente dos Grupos DA e CA, com menores valores de triglicerídeos.

Tabela III - Médias e desvios padrão da excreção fecal (g/dia) dos diferentes grupos durante o período experimental.

Grupos	1ª semana	2ª semana	3ª semana	4ª semana	5ª semana
CA	1,56 ± 0,25 ^a	1,40 ± 0,54 ^a	2,10 ± 1,25 ^{ab}	1,45 ± 0,27 ^{ab}	0,90 ± 0,61 ^a
CC	1,67 ± 0,56 ^a	1,15 ± 0,27 ^a	2,52 ± 1,76 ^a	2,21 ± 0,88 ^{ab}	1,77 ± 0,82 ^{ab}
DA	1,30 ± 0,56 ^a	0,88 ± 0,43 ^a	0,94 ± 0,43 ^b	1,19 ± 0,77 ^a	1,13 ± 0,36 ^a
DC	1,29 ± 0,45 ^a	1,42 ± 0,86 ^a	1,12 ± 0,71 ^b	2,10 ± 0,80 ^b	1,89 ± 0,81 ^b
Valor de p	0,3404	0,1752	0,0079	0,0145	0,0106

Legenda: CA – Grupo Controle Água; CC – Grupo Controle Chá; DA – Grupo Diabetes Água; DC – Grupo Diabetes Chá; Análise estatística: letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre grupos, com $p < 0,05$.

Tabela IV - Médias e desvios padrão das concentrações séricas de hemoglobina glicada (%), colesterol total (mg/dl) e triglicerídeos (mg/dl) dos diferentes grupos experimentais ao final do estudo.

Grupos	Hemoglobina	Colesterol total	Triglicerídeos
CA	2,60 ± 0,08 ^a	46,83 ± 12,76 ^a	326,83 ± 158,65 ^a
CC	2,33 ± 0,10 ^a	48,00 ± 15,74 ^a	139,50 ± 43,34 ^a
DA	7,45 ± 0,77 ^b	524,63 ± 246,81 ^b	327,29 ± 202,13 ^a
DC	8,03 ± 0,65 ^b	407,10 ± 375,84 ^{ab}	206,10 ± 115,77 ^a
Valor de p	<0,0001	0,0019	0,0596

Legenda: CA – Grupo Controle Água; CC – Grupo Controle Chá; DA – Grupo Diabetes Água; DC – Grupo Diabetes Chá; Análise estatística: letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre grupos, com $p < 0,05$.

Os valores de glicemia obtidos por meio de glicosímetro, ao longo do período experimental dos Grupos Controles e Diabéticos encontram-se representados na Tabela V. A glicemia mensurada após 24 horas da administração de estreptozotocina demonstra que os Grupos Diabéticos foram estatisticamente diferentes dos Grupos Controles, com valores superiores. Na terceira semana e ao final do estudo, a glicemia dos Grupos Diabéticos permaneceu estatisticamente maior que a dos Grupos Controles. Salienta-se que mesmo sem diferença estatística o valor médio do Grupo DC foi inferior ao DA ao final do estudo.

Comparando as glicemias de cada grupo individualmente verificou-se diferenças estatísticas. Os Grupos Controles apresentaram glicemia estatisticamente superior 24 horas após administração de solução citrato quando comparado à glicemia obtida na terceira semana e ao final do estudo. O Grupo DA apresentou valores de glicemia estatisticamente diferentes comparando-se à terceira semana e o final do estudo, momento em que exibiu maior média. O Grupo DC demonstrou redução estatisticamente significativa comparando a glicemia 24 horas após administração de estreptozotocina com a da 3ª semana e ao final do estudo.

Na Tabela VI estão demonstradas as médias e desvios padrão do peso do fígado e pâncreas. Em relação ao peso do fígado observou-se diferença entre o Grupo CA e DC cuja média do último grupo foi estatisticamente maior. Não foram constatadas diferenças entre os grupos em relação ao peso do pâncreas.

Discussão

Em virtude do aumento na incidência e complicações advindas com o diabetes torna-se importante a busca de alternativas no que diz respeito a plantas medicinais e a confirmação de sua eficácia, já que estas são amplamente utilizadas pela população em geral.

Nos últimos anos tem se verificado grande aumento no número de estudos que comprovam o que se conhece empiricamente, uma vez que a medicina popular é rica em exemplos de plantas utilizadas para diversos fins. A grande parte da população mundial faz uso de plantas como primeiro recurso terapêutico [11]. Neste contexto encontra-se o chá da semente do abacate, que tem sido utilizado popularmente no tratamento do *diabetes mellitus* do tipo 2 e na hipercolesterolemia.

A semente do abacate vem sendo investigada pela presença de compostos fenólicos. Segundo Soares a semente do abacate possui elevados teores de compostos fenólicos, que desempenham importante função antioxidante [12]. Os compostos fenólicos já foram descritos pela sua capacidade de seqüestrar radicais livres atuando desta forma na melhora do estresse oxidativo e minimizando assim danos causados aos sistemas biológicos [13].

No presente estudo foi encontrado teor de polifenóis de 630 mg de ácido gálico/l de chá. Dados semelhantes foram encontrados no estudo de Sautter *et al.* [14] avaliando teor de polifenóis do suco de uva (607 mg ácido gálico/l) e no estudo realizado por Melo *et al.* [15], avaliando o índice de polifenóis da infusão de

Tabela V - Médias e desvios padrão das concentrações séricas de glicose (mg/dl) periférica 24 horas após aplicação de estreptozotocina (STZ), terceira semana e último dia do estudo.

Glicemia	Grupo CA	Grupo CC	Grupo DA	Grupo DC	Valor de p
24 horas após	128,00 ± 07,37 ^{a•}	141,66 ± 07,33 ^{a•}	374,63 ± 87,70 ^{ab•}	400,50 ± 55,01 ^{a•}	<0,0001
3ª semana	95,33 ± 15,90 ^{b•}	92,16 ± 07,08 ^{b•}	271,50 ± 55,79 ^{a•}	312,90 ± 32,42 ^{b•}	<0,0001
Final do estudo	91,00 ± 07,23 ^{b•}	101,66 ± 11,14 ^{b•}	382,63 ± 98,28 ^{a•}	335,50 ± 73,87 ^{b•}	<0,0001
Valor de p	< 0,0001	< 0,0001	0,0568	0,0049	

Legenda: CA – Grupo Controle Água; CC – Grupo Controle Chá; DA – Grupo Diabetes Água; DC – Grupo Diabetes Chá; Análise estatística: letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre as glicemias determinadas nos diferentes períodos (coluna). Símbolos diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais, com valor de $p < 0,05$.

Tabela VI - Médias e desvios padrão do peso do fígado (g) e pâncreas (g) dos diferentes grupos experimentais.

Grupos	Fígado	Pâncreas
CA	10,16 ± 3,44 ^a	0,6522 ± 0,1915 ^a
CC	11,30 ± 3,94 ^a	0,7211 ± 0,2176 ^a
DA	14,10 ± 1,76 ^{ab}	0,5694 ± 0,1411 ^a
DC	15,01 ± 3,10 ^b	0,5665 ± 0,1511 ^a
Valor de p	0,0169	0,2909

Legenda: CA – Grupo Controle Água; CC – Grupo Controle Chá; DA – Grupo Diabetes Água; DC – Grupo Diabetes Chá; Análise estatística: letras diferentes representam diferenças estatisticamente significativas entre grupos, com $p < 0,05$.

erva mate, com resultados de 625mg ácido gálico/l de infusão. Já Bixty *et al.* [16] identificaram em chá verde teor de polifenóis de 900 mg e em chá preto 400 mg de ácido gálico/l. Ressalta-se que não foram encontrados na literatura disponível estudos quantificando o índice de polifenóis totais da semente do abacate e seu efeito sobre o perfil glicêmico e lipídico em ratos.

Em relação aos resultados do estudo *in vivo* observou-se que os Grupos Diabéticos apresentaram menores valores de consumo alimentar até a quarta semana e peso corporal na quinta semana, quando comparados aos Grupos Controles.

Em diversos estudos utilizando ratos induzidos ao diabetes por estreptozotocina foi constatado perda de peso acentuada após indução do diabetes. Sugere-se que no presente estudo a perda de peso não ocorreu de forma tão exacerbada em virtude da dieta hipercalórica a qual os animais foram submetidos, bem como pela menor dose (35 mg/kg de peso corpóreo) de estreptozotocina utilizada para induzir *diabetes mellitus* tipo 2, quando comparada a outros estudos em que foram utilizadas doses de 50 mg/kg, 65 mg/kg e 100 mg/kg, para induzir diabetes tipo 1 [17-19].

Em relação à ingestão de líquidos percebeu-se que os Grupos Diabéticos apresentaram maior ingestão que os Grupos controles na quarta e quinta semana, evidenciando a polidipsia, sintoma característico do *diabetes mellitus*, induzido quimicamente no início da terceira semana. Na quarta semana a ingestão de líquido do Grupo DC foi estatisticamente maior que do Grupo DA, bem como na quinta semana os valores médios do Grupo DC foram superiores aos do Grupo DA.

Em concordância com os dados de consumo hídrico, os Grupos Diabéticos demonstraram elevada excreção urinária na quarta e quinta semana do experimento, após indução do diabetes, caracterizando o sintoma de poliúria.

Zhang *et al.* após realização de indução do diabetes dos tipos 1 e 2 em ratos, utilizando a mesma metodologia do presente estudo, observaram sintomas de polidipsia, poliúria e polifagia em ambos os grupos [20]. No presente estudo verificou-se os sintomas de polidipsia e poliúria nos animais dos Grupos DA e DC. Entretanto, observou-se menor consumo alimentar nos Grupos Diabéticos, normalizando somente na quinta semana de estudo. Uma hipótese plausível para este fato é o aumento da saciedade, ocasionada pela dieta hiperlipídica oferecida aos Grupos Diabéticos. Esta dieta eleva as concentrações de substratos metabólicos plasmáticos como glicose, triglicerídeos e colesterol conforme constatado no estudo de Bernardes *et al.*, no qual os ratos submetidos à dieta hiperlipídica apresentaram redução do consumo alimentar [21].

Em adição, a normalização no consumo alimentar dos Grupos Diabéticos em comparação aos Grupos Controles na quinta semana pode ser justificada por adaptação ao estresse metabólico agudo causado pela estreptozotocina, administrada no início da terceira semana de experimento.

Os resultados obtidos no estudo quanto à excreção fecal sugerem um possível efeito do chá sobre a mesma, tendo em vista que na quarta semana o Grupo DC apresentou maior excreção fecal quando comparado aos demais grupos. O mesmo ocorreu na quinta semana com o Grupo DC e CC que apresentaram maiores médias quando comparados aos demais grupos. A presença de polifenóis totais no chá da semente de abacate pode ser responsável por este resultado. Segundo Oliveira *et al.*, os flavonóides, uma classe de polifenóis, acarretam aumento da excreção de sais biliares nas fezes concomitante a excreção de gorduras e colesterol [22]. Desta forma o aumento do volume fecal e a consistência de fezes amolecidas observadas nestes grupos, podem ter ocorrido em virtude da presença dessas substâncias no chá da semente do abacate.

Na análise comparativa da glicemia periférica entre os diferentes períodos do estudo (24 horas após indução; 3ª semana do estudo; final do estudo) verificou-se redução significativa da glicemia do Grupo Diabético que recebeu tratamento com chá da semente do abacate, sendo que o mesmo não aconteceu com o Grupo Diabético tratado com água que exibiu aumento da glicemia, indicando a partir deste resultado um possível efeito do chá. No entanto mesmo constatando redução da glicemia, não foi verificado normalização da mesma, justificando-se assim que o chá não pode ser utilizado como tratamento isolado. Tal afirmação pode ser comprovada pelos valores de hemoglobina glicada, os quais foram superiores nos Grupos Diabéticos inclusive no Grupo DC tratado com chá da semente do abacate.

Os mecanismos de ação pelos quais as plantas diminuem as concentrações de glicose no sangue podem ser atribuídos a diversos fatores tais como: aumento da liberação de insulina por meio da estimulação das células β pancreáticas; resistência aos hormônios que aumentam a taxa de glicose; aumento do número e da sensibilidade dos receptores de insulina; diminuição da perda de glicogênio; aumento do consumo de glicose nos tecidos e órgãos [6].

Os Grupos Diabéticos apresentaram hipercolesterolemia induzida pela dieta hiperlipídica. Observou-se que o Grupo Diabético que recebeu tratamento com chá, embora sem diferença estatística, demonstrou concentrações séricas de colesterol inferior àquele que recebeu tratamento com água.

Uma das hipóteses para a redução do colesterol é o aumento do transporte reverso de colesterol (TRC), função realizada pelo HDL-colesterol que se dá pela retirada do colesterol livre da periferia e transporte do mesmo para o fígado [23]. Sugere-se que a presença de compostos fenólicos no chá da semente do abacate possam estar interferindo nesta função do HDL de forma a aumentar o TRC.

Ricardo *et al.* [24] avaliaram a administração de compostos fenólicos (quercetina e flavonóides) via intraperitoneal em ratos e constataram redução do colesterol total em 32,84%, sendo que no presente estudo essa redução foi de 22,40%.

A hipótese sugerida quanto ao mecanismo de TRC pode também ser confirmada pelos valores de peso médio do fígado dos animais. Nesta análise percebeu-se que o Grupo DC apresentou peso do fígado estatisticamente maior que os Grupos Controles, e embora sem diferença estatística também o peso médio foi maior que o apresentado pelo Grupo DA.

Com base nas hipóteses citadas, constatou-se que a redução das concentrações séricas de colesterol, pode ter ocorrido pela associação de três fatores: aumento do volume fecal e fezes com consistência amolecida e assim maior excreção de colesterol, aumento da atividade do HDL no TRC; e por fim maior peso do fígado, sugerindo acúmulo de colesterol neste órgão.

Em adição aos valores reduzidos de colesterol encontrado no Grupo Diabético tratado com chá observou-se valores médios inferiores de triglicérides nos Grupos tratados com chá (DC e CC), cujos valores encontrados apresentaram-se com tendência a diferir estatisticamente dos Grupos tratados com água (DA e CA). Sugere-se assim efeito do chá na redução das concentrações séricas de triglicérides.

A análise do peso do pâncreas dos animais demonstrou menor peso nos Grupos Diabéticos, embora sem diferença significativa se comparados aos animais dos Grupos Controles. O peso reduzido do pâncreas em termos de valores médios nos Grupos Diabéticos pode ter ocorrido devido à indução do diabetes por meio da utilização de estreptozotocina. Esta substância leva a produção de radicais livres, os quais causam alterações letais e posteriormente necrose das células β , conduzindo a diminuição no peso do órgão [25].

Conclusão

O chá da semente do abacate não exerceu influência sobre o consumo alimentar, ingestão de chá, excreção urinária e peso corpóreo dos animais durante o período experimental.

O efeito do chá sobre a glicemia e o colesterol foi constatado apenas perante a administração de

dieta hiperlipídica, não sendo capaz de normalizar as concentrações séricas de glicose e colesterol. O chá demonstrou uma tendência positiva em reduzir as concentrações séricas de triglicérides dos Grupos tratados com chá (DC e CC).

Sugere-se que o efeito do chá sobre o perfil lipídico dos animais observado no estudo está associado possivelmente à presença de polifenóis neste.

Desta forma conclui-se que o chá da semente do abacate não deve ser utilizado como forma de tratamento isolado no *diabetes mellitus* tipo 2. Sugere-se a realização de estudos adicionais, para confirmar a sua utilização como tratamento coadjuvante do *diabetes mellitus* e hipercolesterolemia, ou seja, em associação ao uso de hipoglicemiantes, a adoção de um plano dietético adequado e de mudanças no estilo de vida, como a prática de atividade física.

Agradecimentos

Apoio Financeiro: Programa de Bolsas Artigo 170/Governo de Santa Catarina.

Referências

1. Brasil – Ministério da Saúde. Abordagem nutricional em Diabetes Mellitus. Ministério da Saúde; 1999.
2. Sociedade Brasileira de Diabetes (BR). Consenso Brasileiro sobre Diabetes 2002: Diagnóstico e classificação do diabetes melito e tratamento do diabetes melito do tipo 2. Rio de Janeiro: Diagraphic; 2002.
3. Pories WJ, Albrecht RJ. Etiology of type II diabetes mellitus: role of the foregut. *World J Surg* 2001;25:527-31.
4. Mazzanti CM, Schosler DR, Filappi A, Prestes D, Balz D, Miron V et al. Extrato da casca de *Syzygium cumini* no controle da glicemia e estresse oxidativo de ratos normais e diabéticos. *Ciênc Rur* 2003;33:1061-65.
5. Wu LY, Juan CC, Hwang LS, Ho PH, Ho LT. Green tea supplementation ameliorates insulin resistance and increases glucose transporter IV content in a fructose-fed rat model. *Eur J Nutr* 2004;43:116-24.
6. Negri G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. *Rev Bras Ciênc Farm* 2006;41:121-42.
7. Bonorden WR, Pariza MW. Antioxidant nutrients and protection from free radicals. In: *Nutri. Toxicol.* New York: Raven Press; 1994 p. 19-48.
8. Folin C, Ciocalteu V. Tyrosine and tryptophan determination in protein. *J Biol Chem* 1927;73: 627-50.
9. Reeves PG, Nielsen FH, Fahey JG. AIN-93 Purified diets for laboratory rodents: final report of the American Institute of Nutrition ad hoc writing Committee on the reformulation of the AIN-76A rodent diet. *J Nutr* 1993;123: 1939-51.
10. Srinivasan K, Viswanad B, Asrat L, Kaul CL, Ramarao P. Combination of high-fat diet-fed and low-dose streptozotocin-treated rat: a model for type 2 diabe-

- tes and pharmacological screening. *Pharmacol Res* 2005;52:313-20.
11. Silva KL, Filho, VC. Plantas do gênero *Bauhinia*: composição química e potencial farmacológico. *Quím Nova* 2002;25:449-54.
 12. Soares SE. Identificação e avaliação da atividade antioxidante dos ácidos fenólicos presentes na semente do abacate (*Persea americana* Mill.) das variedades Wagner e Prince. [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 1998.
 13. Soares SE. Ácidos fenólicos como antioxidantes. *Rev Nutr* 2002;15:71-81.
 14. Sautter CK, Denardin S, Alves AO, Mallmann CA. Determinação de resveratrol em sucos de uva no Brasil. *Ciênc Tecnol Aliment* 2005;25:437-42.
 15. Melo SS, Nunes NSI, Haubert D, Rech CP, Godoy IF, Sievers J et al. Índice de polifenóis totais da erva mate e avaliação do seu potencial antigenotóxico através do teste de micronúcleos em medula óssea de ratos. In: 9º Congresso Nacional da SBAN; 2007; São Paulo, Brasil.
 16. Bixty M, Spieler L, Menini T, Gugliucci A. *Ilex paraguariensis* extracts are potent inhibitors of nitrosative stress: a comparative study with green tea and wines using a protein nitration model and mammalian cell cytotoxicity. *Life Sciences* 2005;77:345-58.
 17. Yamabe N, Kang KS, Goto E, Tanaka T, Yokozawa T. Beneficial effect of corni fructus, a constituent of hachimi-jio-gan, on advanced glycation end-product-mediated renal injury in streptozotocin-treated diabetic rats. *Biol Pharm Bull* 2007;30:520-6.
 18. Warne JP, Horneman HF, Wick EC, Bhargava A, Pecoraro NC, Ginsberg AB, et al. Comparison of superior mesenteric versus jugular venous infusions of insulin in streptozotocin-diabetic rats on the choice of caloric intake, body weight and fat stores. *Endocrinology* 2006;147:5443-51.
 19. Nakamura T, Terajima T, Ogata T, Ueno K, Haschimoto N et al. Establishment na pathophysiological characterization of type 2 diabetic mouse model produced by streptozotocin and nicotinamide. *Biol Pharm Bull* 2006;29:1167-74.
 20. Zhang F, Ye C, Li G, Ding W. The rat model of type 2 diabetic mellitus and its glycometabolism characters. *Exp Anim* 2003;52:401-7.
 21. Bernardes D, Manzoni MSJ, Souza CP, Tenório N, Dâmaso AR. Efeitos da dieta hiperlipídica e do treinamento de natação sobre o metabolismo de recuperação ao exercício em ratos. *Rev Bras Educ Fís Esp* 2004;18:191-00.
 22. Oliveira TT, Gomes SM, Nagem TJ, Costa NMB, Secom PB. Efeito de diferentes doses de flavonóides em ratos hiperlipidêmicos. *Rev Nutr* 2002;15:45-51.
 23. Ineu ML, Manenti E, Costa JLV, Moriguchi E. Manejo da HDL: Avanços recentes e perspectivas além da redução de LDL. *Arq Bras Cardiol* 2006;87:788-94.
 24. Ricardo KFS, Oliveira TT, Nagem TJ, Pinto AS, Oliveira MGA, Soares JF. Effect of flavonoids morin, quercetin and nicotinic acid in lipid metabolism of rats experimentally fed with triton. *Braz Arch Biol Technol* 2001;44:263-67.
 25. Delfino VDA, Figueiredo JF, Matsuo T, Favero ME, Matni AM, Jocelin AJ. Diabetes mellitus induzido por streptozotocina: comparação em longo prazo entre duas vias de administração. *J Bras Nefrol* 2002;24:31-6.