

AVALIAÇÃO BIOQUÍMICA DO EFEITO DO EXTRATO DE FOLHAS DE *INDIGOFERA SUFFRUTICOSA* NA MUCOSA HEPÁTICA DE CAMUNDONGOS

Izabela Rangel Lima (1); Tainá Maria dos Santos (1); Jéssica de Andrade Gomes da Silva (2);
Maria Bernadete de Sousa Maia (3); Sônia pereira Leite (4)

*Universidade Federal de Pernambuco, Campus: Recife- PE/ Departamento de Histologia e Embriologia.
E-mail: Izabela_rangel_lima@hotmail.com*

Resumo: A *Indigofera suffruticosa* Mill é uma planta da família Fabaceae originária da Índia, comum em toda a região tropical e subtropical. (BRAGA, 1976.). As hepatopatias representam um importante problema na saúde mundial devido à quantidade de medicamentos utilizados no tratamento de doenças hepáticas serem ainda pequenas (MURIEL; RIVERAESPINOZA, 2008). Devido ao intenso uso popular de *Indigofera suffruticosa*, este trabalho teve como objetivo avaliar a atividade hepatoprotetora do extrato metanólico de suas folhas através de análise bioquímica dos níveis das enzimas séricas: alanina-trasaminase (TGP), aspartato-transaminase (TGO) e fosfatase alcalina. Foram utilizados 30 camundongos albinos suíços machos, saudáveis, com idade de 40 dias, pesando em média 35 a 45g, os animais receberam água, ração e foram mantidos em condições normais. Diferentes grupos de camundongos (n=6) receberão previamente o extrato metanólico das folhas de *I. suffruticosa* nas concentrações de 12,5; 25 e 50 mg/Kg de peso vivo do animal. Os grupos controles receberam solução de NaCl 0,9%, o controle negativo não sofreu indução de lesão enquanto o controle positivo recebeu o indutor de lesão (paracetamol) de acordo com o protocolo experimental. Todos os grupos receberão 300 mg/ Kg de paracetamol por via oral, no último dia de tratamento. Os animais foram sacrificados, por deslocamento cervical e o sangue foi coletado para avaliação bioquímica.

Palavras-chave: Hepatotoxicidade, *Indigofera suffruticosa*, Enzimas séricas.

Introdução

A *Indigofera suffruticosa* Mill conhecida popularmente como anil do campo ou anileira

é uma planta da família Fabaceae originária da Índia, comum em toda a região tropical e subtropical, é uma leguminosa utilizada na adubação verde e cobertura dos solos.

(BRAGA, 1976.). No Brasil, encontrada praticamente em todo país, é uma forrageira anual ou perene adaptada à região do Sertão Pernambucano. (BRAGA, 1976.). Os órgãos vegetativos de *I. suffruticosa* apresentam valor medicinal (VIEIRA, 1992; MARTINS et al., 2000), como antiespasmódico, sedativo, estomáquico e antídoto contra o mercúrio e o arsênio (MARTINS et al., 2000). É utilizada no tratamento de úlceras (MARTINEZ, 1933; STANDLEY, 1922), atividade antiinflamatória, analgésica e digestiva (ROIG, 1988). Sua raiz é empregada ainda como febrífuga, diurética, purgativa e insetífuga (VIEIRA, 1992). Estudos farmacológicos mostraram que a planta apresenta ação toxicológica e toxicogénica (RIBEIRO et al., 1991). Pesquisas recentes tem realizado trabalho para explorar o potencial desta planta e dar base científica a sua utilização (LEITE et al., 2003, 2004, 2006; VIEIRA et al 2007, 2011; LIMA et al 2014; Da SILVA et al 2014).

As doenças hepáticas representam um problema de saúde de âmbito mundial, e são desencadeadas principalmente por vírus, doenças metabólicas ou compostos químicos (NEGI et al., 2008; GRAIER; MALLI; KOSTNER, 2009; LENS et al., 2010). O tratamento dessas doenças é realizado convencionalmente com fármacos de origem sintética, ou, secundariamente, mediante a

utilização de compostos isolados ou partes de plantas medicinais utilizadas na medicinal popular (DHIMAN; CHAWLA, 2005; GIRISH; PRADHAN, 2008; NEGI et al., 2008).

Entretanto, a quantidade de medicamentos que são utilizados no tratamento de doenças hepáticas e que apresentam resultados expressivos em seres humanos ainda é pequena (MURIEL; RIVERAESPINOZA, 2008). Assim, as plantas medicinais utilizadas para o tratamento de distúrbios hepáticos que apresentam atividade hepatoprotetora ou curativa tornam-se alvos importantes de estudos que buscam elucidar seu mecanismo de ação, bem como caracterizar compostos que possam ser utilizados para o desenvolvimento de novos fármacos hepatoprotetores (GIRISH; PRADHAN, 2008).

Assim, o fígado é um dos órgãos mais afetados por lesões provocadas por drogas, devido a sua importante participação em reações de metabolismo, na biotransformação de substâncias químicas no organismo. As lesões hepáticas associadas ao uso de drogas abrangem desde alterações bioquímicas e estruturais adaptativas até lesão morfológica com danos muitas vezes irreversíveis do metabolismo ou da estrutura celular (BRASILEIRO FILHO, 2000).

A maioria das drogas consiste em substâncias lipossolúveis que circulam ligadas a proteínas plasmáticas até alcançarem o fígado, que é o principal sítio de biotransformação no organismo tendo como função básica transformá-las em substâncias hidrossolúveis para posterior eliminação biliar ou renal (BRASILEIRO FILHO, 2000).

Desta maneira, agressões hepáticas podem gerar alterações enzimáticas sem lesão morfológica. O aumento do nível das enzimas hepatobiliares é um dos marcadores mais sensíveis de doença hepática induzida por drogas. (BRASILEIRO FILHO, 2000). Algumas das enzimas consideradas indicadoras de hepatotoxicidade celular são as seguintes: alanina-trasaminase (TGP), aspartato-transaminase (TGO) e a fosfatase alcalina. As transaminases, alanina e aspartato, possuem um importante papel no metabolismo de proteínas e de hidratos de carbono e são amplamente distribuídas nos tecidos animais. Tanto a alanina-transaminase como a aspartato-transaminase existem normalmente no plasma sangüíneo humano, na bile, no líquido cefaloraquídeo e na saliva. (KING, 1968).

As fosfatases alcalinas estão presentes em quase todos os tecidos e fluidos humanos, são fontes particularmente ricas o intestino delgado, os ossos, a glândula mamária, durante a lactação, e o rim. Os níveis de

fosfatase alcalina sérica nas enfermidades do fígado, se encontram elevados. (KING, 1968).

Devido ao intenso uso popular de *Indigofera suffruticosa*, este trabalho teve como objetivo realizar análise bioquímica do extrato das folhas através das enzimas séricas: alanina-trasaminase (TGP), aspartato-transaminase (TGO) e fosfatase alcalina.

Metodologia

A *I. suffruticosa* foi coletada na cidade de Nova Cruz no Estado de Pernambuco, cerca de 1,5 kg de folhas foram trituradas e submetidas a extração metanólica a temperatura ambiente, durante 48 horas. Em seguida o extrato foi filtrado e evaporado com o auxílio do rotaevaporador sob temperatura de 40 °C

Foram utilizados 30 camundongos albinos suíços machos, saudáveis, com idade de 40 dias, pesando em média 35 a 45g, os animais receberam água, ração e foram mantidos em condições normais. Os experimentos com animais foram aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da UFPE sob ofício de número 500/12, processo nº 23076.025195/2012-64 de 2012. Diferentes grupos de camundongos (n=6) receberão previamente o extrato metanólico das folhas de *I. suffruticosa* nas concentrações de 12,5; 25 e 50 mg/Kg de peso vivo do animal

(Grupos 1, 2 e 3 respectivamente). Os grupos controles receberam solução de NaCl 0,9%, o controle negativo (Grupo 4) não sofreu indução de lesão enquanto o controle positivo (Grupo 5) recebeu o indutor de lesão (paracetamol) de acordo com o protocolo experimental. Todos os grupos receberão 300 mg/ Kg de paracetamol por via oral, no último dia de tratamento. Os animais foram sacrificados, por deslocamento cervical e o sangue foi coletado para avaliação bioquímica.

Resultados

A análise das enzimas hepáticas demonstrou que houve redução significativa dos níveis séricos de ALT, AST e GGT nos três grupos tratados com *I. suffruticosa*, destacando-se a redução de 51% nos níveis de AST no grupo 03 e a redução em 58% nos níveis séricos de GGT nos três grupos tratados. Os níveis séricos de bilirrubina foram reduzidos em 68% para o grupo 2 e 79% para o grupo 3.

A redução nos níveis séricos das enzimas ALT, AST e GGT indicam que houve a diminuição do dano ao tecido hepático e aumento da taxa de regeneração do órgão, fato também observado na análise histológica.

Discussão

As aminotransferases (ALT e AST) catalisam a transferência reversível de uma

amina de um aminoácido para um - cetoácido. Essas enzimas, geralmente, transferem o grupo amino de vários aminoácidos para o - cetoglutarato, para a conversão em NH_4^+ (Lehninger, 2000; Stryer, 1996). Essas enzimas estão presentes em altas concentrações no músculo, fígado e cérebro. A elevação da atividade das aminotransferases no sangue indica necrose ou moléstia, especialmente nesses tecidos (Murray et al., 1994).

A ALT é encontrada principalmente no citoplasma do hepatócito, enquanto 80% da AST está presente na mitocôndria. Essa diferença tem auxiliado no diagnóstico e prognóstico de doenças hepáticas. Em dano hepatocelular leve a forma predominante no soro é a citoplasmática, enquanto em lesões graves há liberação da enzima mitocondrial, elevando a relação AST/ALT (Motta, 2003).

Venkatachalam & Muthukrishnan (2013) em estudo semelhante, demonstraram o efeito hepatoprotetor do extrato etanólico de *Desmodium gangeticum*, planta utilizada como digestiva, antiemética e antiinflamatória. Os resultados evidenciaram que a administração de paracetamol provocou severa hepatotoxicidade, com aumento dos níveis de ALT, AST, gamaglutamil-transferase (GGT), fosfatase alcalina e lactato desidrogenase (LDH), o que foi atenuado pela administração do extrato. Os autores sugerem

que a redução das transaminases promovida pela administração do extrato, indica estabilização das membranas, bem como reparação do dano hepático provocado pelo paracetamol.

A atividade hepatoprotetora da *Caralluma umbellata*, uma erva perene e suculenta, foi comprovada por Shanmugam et al. (2013). O pré- tratamento com extrato etanólico da planta seguida pela administração de paracetamol promoveu redução dos níveis de bilirrubina total, colesterol, ALT, AST e fosfatase alcalina. Os autores concluíram que o extrato apresenta atividade hepatoprotetora por restaurar os níveis das enzimas séricas e prevenir o estresse oxidativo.

Similarmente aos dados descritos acima, a *Melia azedarach* L., conhecida como cinamomo, utilizada para o tratamento da hanseníase e processos inflamatórios, foi objeto de estudo de Ahmed e colaboradores (2011). O extrato metanólico de *Melia azedarach* (500 mg/ kg) administrado em ratos durante sete dias, seguida da administração de paracetamol no 5º dia apresentou atividade hepatoprotetora, reduzindo os níveis de AST, ALT e fosfatase alcalina e elevando a atividade das enzimas antioxidantes.

Conclusões

O extrato de metanólico de *Indigofera suffruticosa*, apresentou caráter hepatoprotetor, com redução dos níveis séricos das enzimas hepáticas (ALT, AST, GGT e bilirrubina). A ação hepatoprotetora pode ser devido ação antioxidante que impede a formação de radicais livres e também pode estar relacionada com o aumento da taxa de regeneração do tecido hepático.

Referências Bibliográficas

BRAGA, R. Plantas do Nordeste Especialmente do Ceará. 3ª edição. Mossoró: Escola Superior de Agricultura, p.452. 1976.

VIEIRA LS. Fitoterapia da Amazônia. Manual de plantas medicinais. A farmácia de Deus. 2ª ed. São Paulo: Agronômica Ceres. 1992

MARTINS E.R, CASTRO D.M, CASTELLANI D.C, DIAS J.E. Plantas medicinais. Viçosa: Editora UFV. 2000

MARTINEZ M. Las plantas medicinales de México. Ediciones Botas, México. 1933.

STANDLEY, P.C. Trees and shrubs of México. Contr U S Natl Herb, 1922; 23(2): 429-515.

ROIG, J.T. Plantas Medicinales, Aromaticas o Venenosas De Cuba. Editorial Cientifica-Tecnica, La Havana - Cuba. 164 pp. 1988.

RIBEIRO, R. L. A.; BAUTISTA, A. R. P. L.; SILVIA, A. R.; SALES, A. L.; SALVADORI, D. M. F.; MAIA, P. C.

Toxicological and Toxicogenetic Effects of Plants used in popular Medicine and in Cattle Food. Mem. Inst. Oswaldo Cruz, v.86, n.3, p.89-91. 1991.

LEITE, S.P et al, "Anti-inflammatory activity of Indigofera suffruticosa extract," Revbrasa, vol. 7, pp. 47-52. 2003.

LEITE, S.P. Indigofera Suffruticosa Mill: ensaio fitoquímico e ações biológicas. Tese (Doutorado em produtos naturais). João Pessoa: Universidade Federal da Paraíba. 2003.

LEITE, S.P et al "Embryotoxicity in vitro with extract of Indigofera suffruticosa leaves," Reproductive Toxicology, vol. 18, no. 5, pp. 701-705. 2004.

VIEIRA, J.R.C.; SOUZA, I.A.; NASCIMENTO, S.C.; LEITE, S.P. Indigofera suffruticosa: an alternative anticancer therapy. eCAM, p.1-5. 2007.

LIMA, I. R.; VIEIRA, J. R. C. ; SILVA, I. B. ; Leite, Roberta Maria Pereira ; MAIA, M. B. S. ; S.P.Leite . Indican from Anil (Indigofera suffruticosa Miller): An herbal protective agent in liver.. Analytical and Quantitative Cytology and Histology, v. 36, p. 23, 2014.

SILVA, I. B.; LIMA, I. R. ; Santana, M.A.N. ; LEITE, R. M. P. ; LEITE, S. P. . Indigofera suffruticosa Mill (Fabaceae): Hepatic Responses in Mice Bearing Sarcoma 180. International Journal of Morphology (Online), v. 32, p. 1228-1233, 2014.

GRAIER, W. F.; MALLI, R.; KOSTNER, G. M. Mitochondrial protein phosphorylation instigator or target of lipotoxicity? Trends in

Endocrinology & Metabolism, v. 20, n.4, p. 186-193, 2009.

LENS, S. et al. Severe acute hepatitis in the dress syndrome: Report of two cases. Annals of Hepatology, v. 9, n. 2, p. 198-201, 2010.

DHIMHAN, R. K.; CHAWLA, Y. K. Herbal medicines for liver, diseases. Digestive Diseases and Science, v. 50, p. 1807-1812, 2005.

GIRISH, C.; PRADHAN, S. C. Drug development for liver diseases: focus on pieroliv, ellagic acid and curcumin. Fundamental & Clinical Pharmacology, v. 22, n. 6, p. 623-632, 2008.

NEGI, A. S. et al. Recent advances in plant hepatoprotectives: A chemical and biological profile of some important leads. Medicinal Research Reviews, v. 28, n. 5, p. 746-772, 2008.

MURIEL, P.; RIVERA-ESPINOZA, Y. Beneficial drugs for liver diseases. Journal of Applied Toxicology, v. 28, n. 2, p. 93-103, 2008.

BRASILEIRO FILHO, G. Patologia. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan. 2000. (KING, 1968).

LEHNINGER A L. Princípios de bioquímica. 2.ed. São Paulo: Sarvier, 2000. 839p.

STRYER L. Bioquímica. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996.1000p.

Murray R K, Granner D K, Mayes P A, Rodwell V W. Harper: bioquímica. 7.ed. São Paulo: Atheneu, 1994. 763p.

VENKATACHALAM,U.;MUTHUKRISHNAN, S. Hepatoprotective activity of *Desmodium gangeticum* in paracetamol induced liver damage in rats. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, v.3, p.273-277, 2013.

SHANMUGAM, G.; AYYAVU, M.; RAO, D. M.; DEVARAJAN, T.; SUBRAMANIAM, G. Hepatoprotective effect of *Caralluma umbellata* against acetaminophen induced oxidative stress and liver damage in rat. *Journal of Pharmacy Research*, v.6, p.342-345, 2013.

AHMED, M. F.; RAO, A. S.; THAYYLL, H.; AHMED, S. R. Role of *Melia azedarach* leaf extract in Paracetamol Induced Hepatic damage in rats. *Pharmacognosy Journal*, v.3, n.21, p.60-64, 2011.

MURIEL, P.; RIVERA-ESPINOZA, Y. Beneficial drugs for liver diseases. **Journal of Applied Toxicology**, v. 28, n. 2, p. 93-103, 2008.