

PESQUISA MOVIMENTA INOVAÇÃO. INOVAÇÃO MOVIMENTA O FUTURO.

XXVIII ENCONTRO DE JOVENS PESQUISADORES E
X MOSTRA ACADÊMICA DE INOVAÇÃO E TECNOLOGIA

07 e 08 de OUTUBRO de 2020
UCS CAMPUS-SEDE - CAXIAS DO SUL



UCS
UNIVERSIDADE
DE CAXIAS DO SUL
PESSOAS EM
MOVIMENTO

EFEITOS DO EXTRATO DE LGM EM CÉLULAS DO ENDOTÉLIO VASCULAR HUMANO (EA.hy926) EM MODELO HIPERGLICÊMICO

PROBIC-FAPERGS

Autores: Gabrielle Slomp Mattiello¹, Luana Minello¹, Luciana Bavaresco Andrade Touguinha¹, Cátia dos Santos Branco¹,
Mirian Salvador¹

¹Laboratório de Estresse Oxidativo e Antioxidantes, Universidade de Caxias do Sul - Campus-Sede, 95070-560, Caxias do Sul - RS, Brasil.



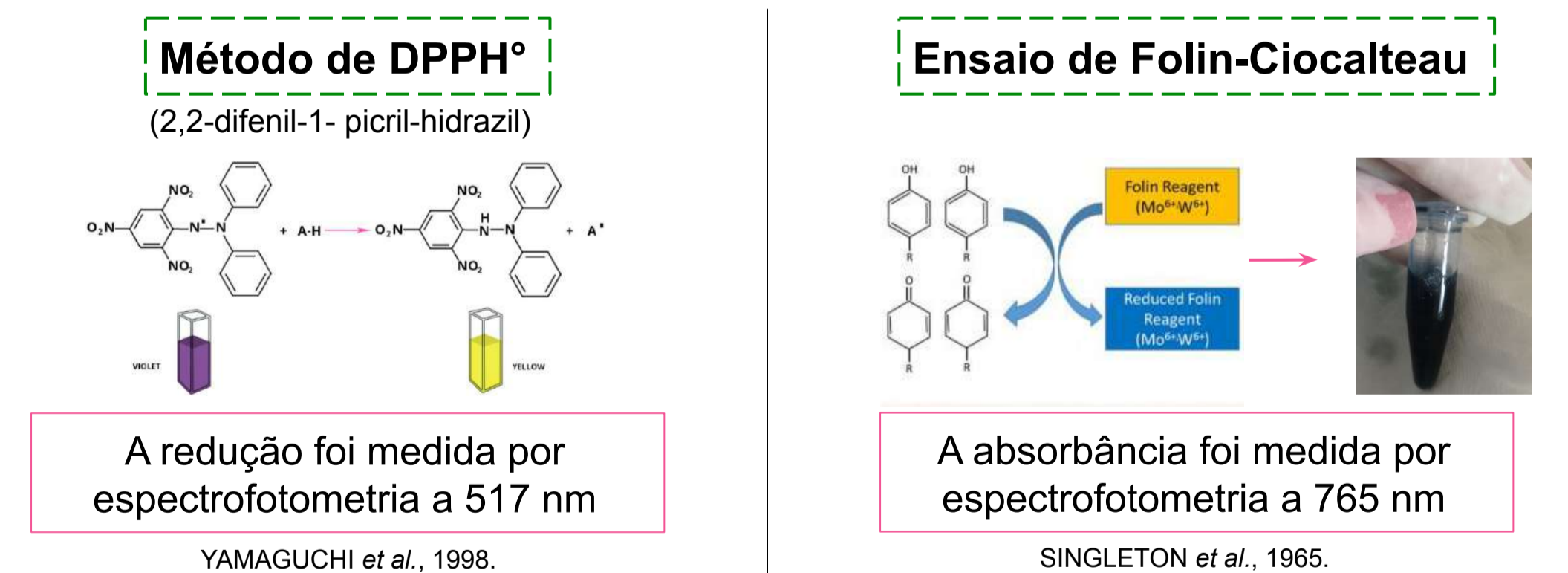
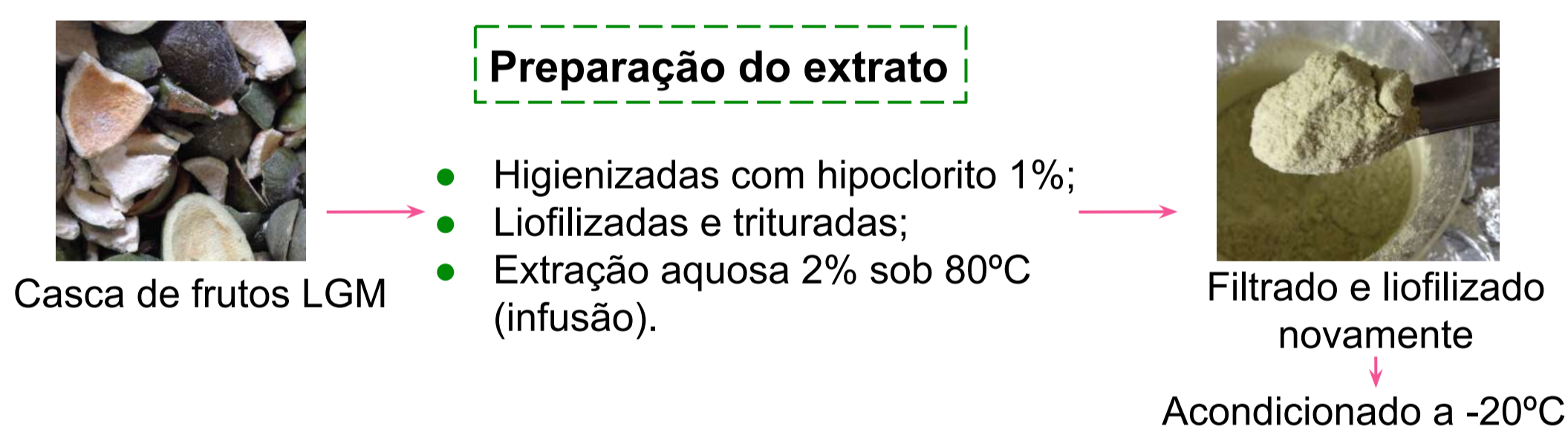
INTRODUÇÃO

O Diabetes *Mellitus* é um distúrbio metabólico caracterizado pela presença constante de altas concentrações de glicose na corrente sanguínea, causando inúmeras patologias no indivíduo. Estas podem se manifestar de maneira progressiva, levando a redução da perspectiva de vida e implicando em altos custos à saúde pública (BAENA-DÍEZ, 2016). Fatores de risco comuns como idade avançada, obesidade e maus hábitos alimentares podem contribuir para um ambiente oxidativo que provoca resistência à ação da insulina (HAMED *et al.*, 2011). No diabetes, também ocorre o estresse oxidativo e a disfunção mitocondrial que levam a um desequilíbrio no sistema redox celular global, principalmente no endotélio vascular (AVOGARO, 2011; WEST, 2000). As Plantas Alimentícias Não Convencionais, embora sejam pouco conhecidas, possuem alto valor nutracêutico. Estas plantas possuem inúmeros fitoquímicos de interesse biológico, como antioxidantes e compostos fenólicos, os quais possuem a capacidade de modular as espécies reativas de oxigênio no corpo humano (BEZERRA, 2017). Os compostos fenólicos possuem a capacidade de proteger dos danos causados pelas espécies reativas de oxigênio ao doar elétrons para formar radicais fenoxil estáveis, sendo assim, possuem atividade antioxidante (RICE-EVANS *et al.*, 1997).

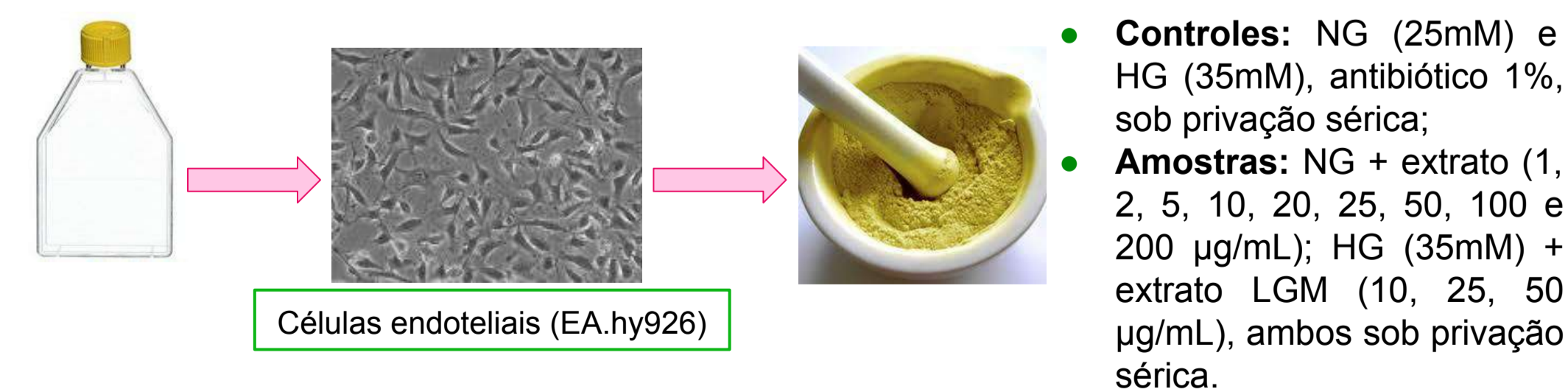
OBJETIVO

Avaliar a atividade antioxidante do extrato de LGM, quantificar os polifenóis totais e verificar a viabilidade em células do endotélio vascular EA.hy926 expostas à alta concentração de glicose (35mM) e diferentes concentrações do extrato de LGM.

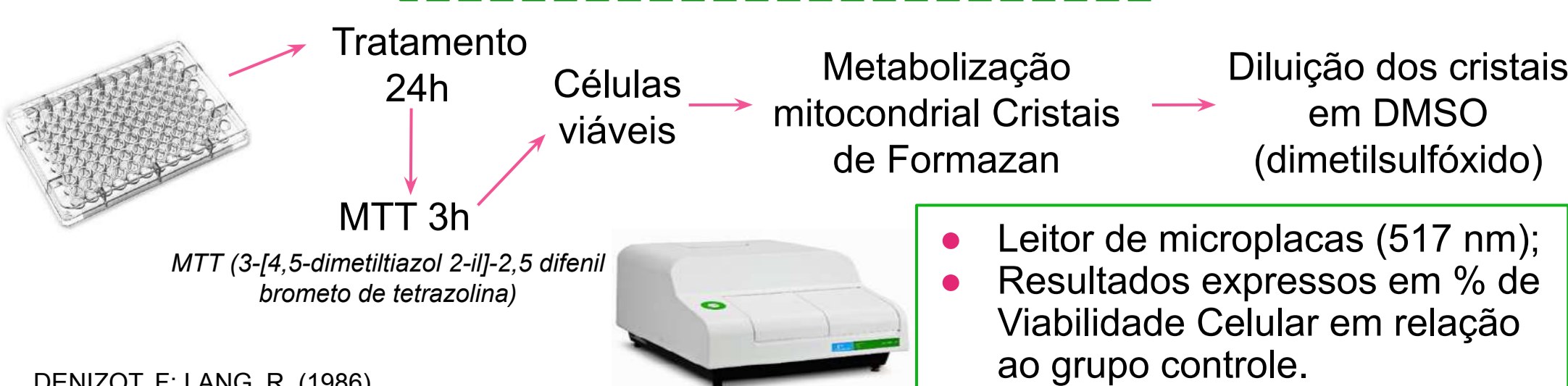
METODOLOGIA



Cultura de células e avaliação da citotoxicidade do extrato



Determinação da viabilidade celular



RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para verificar a melhor forma de extração dos compostos de interesse, separou-se a polpa da casca e usou-se três formas de extração: 1) Condensador (15min a 100°C); 2) Infusão (15min a 80°C) e 3) Ultrassom (30min a frio), com solvente aquoso. No ensaio de varredura do radical livre (Tabela 1), o percentual obtido foi de 88% para a casca, não diferindo estatisticamente entre os tipos de extração. Para o ensaio de Polifenóis Totais (Tabela 2), a casca apresentou novamente maior conteúdo polifenólico, quantificada em 28mg/g de pó liofilizado. Não houve diferenças entre os tipos de extração.

Tabela 1. Atividade antioxidante de diferentes tipos de extração de LGM. Os valores são expressos em Média ± DP. A análise estatística foi realizada onde letras diferentes indicam valores significativamente diferentes de acordo com a análise de variância ANOVA e pós teste de Tukey. Significância estatística é de p<0,05.

Tipo de Extração	% de Varredura do DPPH	
	Casca	Polpa
Condensador	85,48 ± 1,65 ab	79,90 ± 0,51 d
Infusão	88,53 ± 0,96 a	81,28 ± 2,34 cd
Ultrassom 30'	85,78 ± 0,89 ab	83,67 ± 0,25 bc

Tabela 2. Quantificação de polifenóis totais de diferentes tipos de extração de LGM. Os valores das tabelas são expressos em Média ± DP. A análise estatística foi realizada onde letras diferentes indicam valores significativamente diferentes de acordo com a análise de variância ANOVA e pós teste de Tukey. Significância estatística é de p<0,05.

Tipo de Extração	Polifenóis Totais mg/mL eq. Ácido Gálico	
	Casca	Polpa
Condensador	0,604 ± 0,044 a	0,226 ± 0,021 c
Infusão	0,656 ± 0,077 a	0,207 ± 0,014 c
Ultrassom 30'	0,477 ± 0,016 b	0,139 ± 0,024 c
Extrato Infusão Liofilizado	0,563 ± 0,029 ab	-

Frente a resposta destes ensaios, o tipo de extração e parte utilizada do LGM que mais preservou e apresentou conteúdo polifenólico foi a infusão da casca, escolhida para prosseguir os demais parâmetros avaliativos.

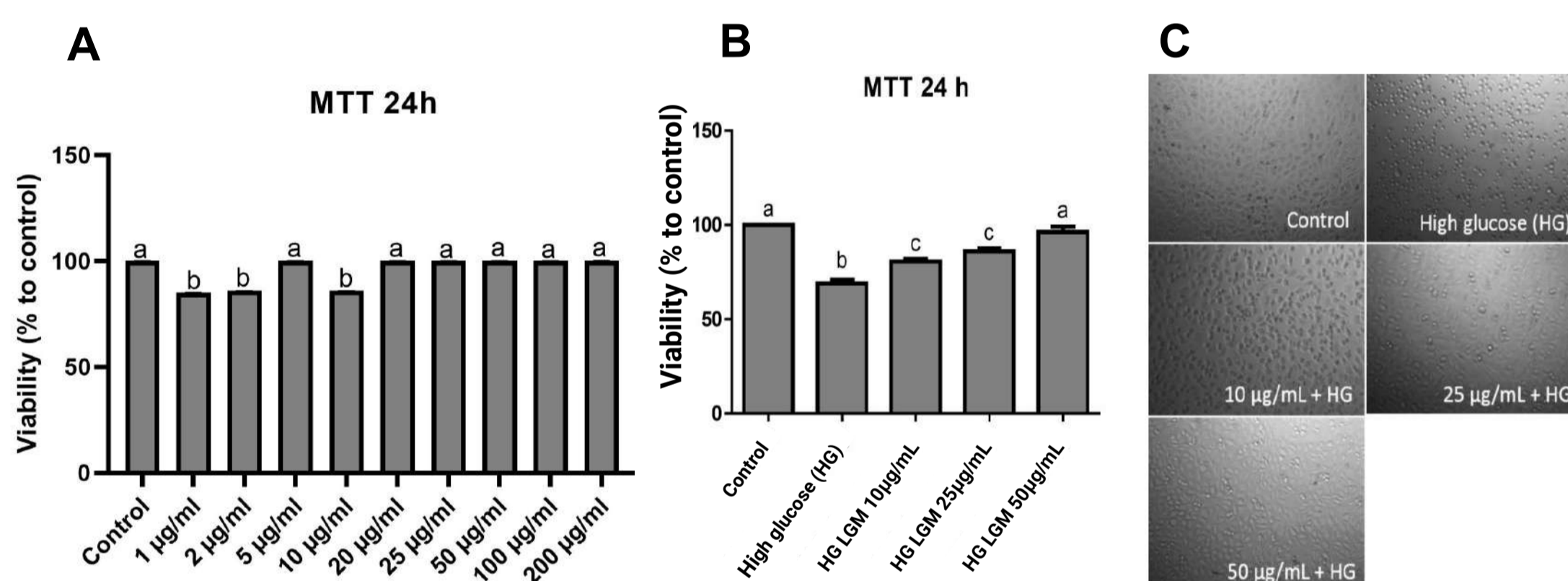


Figura 1. Percentual de viabilidade em células do endotélio vascular humano EA.hy926 sob diferentes concentrações do extrato LGM expressas em µg/ml, sob condições normoglicêmicas (NG) (A) e hiperglicêmicas (HG) (B). Os dados foram expressos em Média e Desvio Padrão. Letras diferentes indicam diferença estatística significativa através da análise de variância (ANOVA) com pós teste de Tukey. Significância estatística de p < 0,05. Avaliação da morfologia das células EA.hy926 tratadas com extrato de LGM na presença ou ausência de glicose (C) (magnification 20 ×).

O extrato de LGM foi testado em diferentes concentrações normoglicêmicas (1, 2, 5, 10, 20, 25, 50, 100, 200µg/mL) não apresentando citotoxicidade em nenhuma dose (Figura 1 - A). As doses intermediárias escolhidas para os demais testes foram 10, 25 e 50µg/mL em condição de hiperglicemia (Figura 1 - B). Sob estas condições, observou-se redução da viabilidade em 31%, acompanhada por alterações na morfologia celular, as quais foram evitadas pelo extrato no co-tratamento (LGM 50µg/mL + hiperglicemia). Nesta concentração houve aumento no percentual de células viáveis igualando-se ao controle celular.

CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo contribuirão para o desenvolvimento de novas alternativas terapêuticas coadjuvantes para o diabetes. Estão sendo realizados mais estudos acerca desse extrato frente a hiperglicemia, para esclarecer melhor os mecanismos de ação celular envolvidos.

REFERÊNCIAS

- AVOGARO, Angelo *et al.* Endothelial Dysfunction in Diabetes: the role of reparatory mechanisms. *Diabetes Care*, [S.L.], v. 34, n. 2, p. 285-290, 27 abr. 2011. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/dc11-s239>. Disponível em: http://www.diabetesjournals.org/content/diacare/34/Supplement_2/S285.full.pdf. Acesso em: 04 set. 2020.
- BAENA-DÍEZ, Jose Miguel *et al.* Risk of Cause-Specific Death in Individuals With Diabetes: a competing risks analysis. *Diabetes Care*, [S.L.], v. 39, n. 11, p. 1987-1995, 4 ago. 2016. American Diabetes Association. <http://dx.doi.org/10.2337/dc16-0614>. Disponível em: <https://care.diabetesjournals.org/content/diacare/39/11/1987.full.pdf>. Acesso em: 24 ago. 2020.
- BEZERRA, Aline Sobreira *et al.* Composição nutricional e atividade antioxidante de plantas alimentícias não convencionais da região sul do Brasil. *Arquivos Brasileiros de Alimentação*, [S.L.], p. 182-188, dez. 2017. ISSN 2446-9262. Disponível em: <http://www.journals.ufrpe.br/index.php/ABA/article/view/1479>. Acesso em: 08 set. 2020.
- DENIZOT, François; LANG, Rita. Rapid colorimetric assay for cell growth and survival. *Journal Of Immunological Methods*, [S.L.], v. 89, n. 2, p. 271-277, maio 1986. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759\(86\)90368-6](http://dx.doi.org/10.1016/0022-1759(86)90368-6)
- HAMED, Enas *et al.* Circulating leptin and insulin in obese patients with and without type 2 diabetes mellitus: relation to ghrelin and oxidative stress. *Diabetes Research And Clinical Practice*, [S.L.], v. 94, n. 3, p. 434-441, dez. 2011. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.diabres.2011.08.023>
- RICE-EVANS, Catherine; MILLER, Nicholas; PAGANGA, George. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends In Plant Science*, [S.L.], v. 2, n. 4, p. 152-159, abr. 1997. Elsevier BV. [http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385\(97\)10119-2](http://dx.doi.org/10.1016/S1360-1385(97)10119-2)
- SINGLETON, V.L.; ROSSI, J.A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdicphosphotungstic acid reagents. *Am J Enol Viticul*, 1965, 16: 144-58.
- WEST, I. C. Radicals and oxidative stress in diabetes. *Diabetic Medicine*, [S.L.], v. 17, n. 3, p. 171-180, mar. 2000. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1464-5491.2000.00259.x>
- YAMAGUCHI, T.; TAKAMURA, M.; MATOBA T.C.; TERÃO, J. (1998). HPLC method for evaluation of the free radical - scavenging of foods by using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl. *Biochemistry, Biotechnology e Biochemistry*, 62(6), 1201,1204.

