

Denir Gomes Nogueira (**)

Nuno Alvares Pereira (**)

RESUMO

A solução de glicose a 0,1% perfundida num seguimento intestinal de ratos anestesiados apresenta uma velocidade constante de absorção. A associação do chá da Romã na solução de glicose inibe a sua absorção sem apresentar atividade inibidora residual. O extrato da Romã injetado IP previamente também inibe a absorção da glicose perfundida.

Não foi detetada (s) substância (s) inibidora (s) da absorção da glicose.

INTRODUÇÃO

A técnica de perfusão intestinal é preconizada por Nissim (1965) por oferecer resultados rápidos e satisfatórios para o estudo da absorção intestinal, assim como de substâncias que possam interferir na absorção de outras substâncias. A aplicação da técnica serviu a Nissim (1965) e a Hart & Mc Coll (1968) para estudar a absorção da glicose e confirmar a inibição pela florizina, um glicosídeo chalcônico que ocorre em várias plantas.

A florizina é considerada um inibidor do transporte ativo da glicose (Johanson et al., 1979) e poderá estar relacionada com a propriedade de alguns extratos vegetais inibirem a absorção da glicose como constataram Lima & Pereira (1976) com várias plantas empregadas na medicina popular brasileira no tratamento auxiliar do diabetes.

A técnica foi utilizada por Grüne (1979) para isolar da *Myrcia multiflora*, "pedra de caá", uma glicoproteína responsável pela inibição da absorção intestinal da glicose.

A inibição da absorção da glicose foi também observada com a Goma de Guar (*Cyamopris tetragonolobus* L.) por Jenkins et al., (1978) e Gynther e Huhtikangas (1984). A dieta rica em fibras também pode influir na glicemia, conforme constataram Jenkins et al., (1980), Bantle et al., (1983) e Mauro et al., (1983).

O extrato alcóolico do epicarpo da Romã quando injetado em camundongos causa hipoglicemia como demonstra Silva & Pereira (1983), e na tentativa de estabelecer o

(*) Parte da Tese de Mestrado de D.G. Nogueira.

(**) Departamento de Farmacologia e Terapêutica Experimental do I.C.B.-C.C.S-UFRJ - RJ

mecanismo da atividade hipoglicêmica, são apresentados agora os resultados da aplicação da técnica de perfusão preconizada por Nissim (1965) e Hart & Mc Coll (1968).

MATERIAL E MÉTODOS

Foram empregadas ratas Wistar de 120-150g de peso, deixadas em jejum por 24 horas. No final deste período os animais são anestesiados com pentobarbital sódico na dose de 30 mg/kg, por via intraperitoneal. Após abertura da cavidade abdominal é colocada uma cânula no duodeno para entrada da solução perfusora e mais ou menos a 20cm abaixo do intestino delgado, coloca-se outra cânula para a coleta do líquido perfundido. Foi utilizado um dispositivo para perfusão contínua numa velocidade de 1 ml/minuto, sendo perfundidos 20 ml da solução em estudo. Inicialmente, o seguimento intestinal é perfundido com 20 ml de solução fisiológica a fim de eliminar os detritos contidos na porção do intestino em estudo.

O seguimento assim preparado é perfundido com 20 ml de uma solução de glicose a 0,1% associada ou não a 0,1% do chá do epicarpo da Romã, conforme os grupos estabelecidos; com exceção no grupo em que o extrato da Romã foi administrado intraperitonealmente.

Todo o volume do líquido de perfusão foi coletado e a concentração da glicose foi determinada espectrofotometricamente, pelo método semi-micro de Park & Johnson (1949). Conhecida a concentração inicial de 0,1% determinou-se a percentagem de glicose absorvida por diferença entre a perfundida e a inicial.

O extrato do epicarpo da Romã empregado por via intraperitoneal foi preparado pela técnica descrita por Silva & Pereira (1983).

Foram constituídos os seguintes grupos experimentais:

- 1º grupo: Foram utilizados 15 animais que foram perfundidos com a solução de glicose a 0,1% a fim de determinar a percentagem de absorção da glicose em testemunhas.
- 2º grupo: Outros 15 animais foram perfundidos com uma solução de glicose a 0,1% associada a 0,1% do chá de Romã para estudar a interferência na absorção da glicose.
- 3º grupo: Neste grupo constituído de 15 animais foi perfundida a solução de glicose a 0,1% e posteriormente, no mesmo rato, foi perfundida a solução de glicose a 0,1% associada a 0,1% do chá de Romã.
- 4º grupo: Foram utilizados 10 animais em que o extrato da Romã na dose correspondente a 100 mg/kg foi aplicado por via intraperitoneal 2 horas antes da perfusão da glicose a 0,1%.
- 5º grupo: Com a finalidade de estudar uma possível atividade residual foram utilizados 10 animais perfundidos inicialmente com a solução de glicose associada ao chá da Romã e após a lavagem do seguimento intestinal

solução fisiológica foi perfundida a solução de glicose a 0,1%.

6º grupo: Instituído com a finalidade de estudar a velocidade da absorção da glicose. Neste grupo com 5 animais foram perfundidas 30ml da solução de glicose a 0,1%, sendo analisadas as amostras perfundidas de 5 em 5 minutos.

Durante as experiências os animais eram protegidos da perda de calor corporal devido à anestesia.

Os resultados foram examinados estatisticamente.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos com a perfusão intestinal mostraram que quando se associa à solução de glicose a 0,1% o chá da Romã, há uma inibição na absorção intestinal da glicose que passa de $67,4 \pm 5,2\%$ para $27,4 \pm 7,6\%$. Quando o mesmo animal é testemunha, a solução de glicose perfundida previamente e depois da associação da glicose com o chá da Romã, o resultado observado é semelhante. A perfusão prévia da associação de glicose com o chá não provoca um efeito inibitório residual, pois a perfusão da glicose é absorvida numa quantidade semelhante à administração inicial.

A inibição da absorção da glicose foi também observada quando o extrato da Romã foi administrado por via intra-peritoneal na dose de 100 mg/kg, 2 horas antes da perfusão da solução de glicose a 0,1%.

Os resultados desses 5 grupos experimentais são reunidos na Tabela 1.

Na Tabela 2 são mostrados os resultados do 6º grupo em que a solução de glicose a 0,1% foi perfundida na velocidade de 1 ml/minuto, e amostras do perfundido foram tomadas de 5 em 5 minutos, mostrando não apresentar grandes variações nas concentrações das amostras colhidas durante os trinta minutos em que durou a experiência, isto é, haver uma regularidade no ritmo de absorção da glicose.

Os resultados experimentais levam a admitir que as preparações do epicarpo da Romã estudadas inibem o transporte ativo da glicose de uma maneira mais ampla, pois mesmo quando o extrato foi injetado intraperitonealmente duas horas antes de realizar a perfusão, produziu um efeito inibitório da perfusão da glicose. O mecanismo enzimático responsável pelo transporte ativo da glicose não foi detetado, devido as preparações do epicarpo da Romã não serem ainda suficientemente purificadas para este tipo de estudo, devendo-se, porém, lembrar as possibilidades aventadas por Shanmugasundaram et al., (1983) quando estudaram os efeitos da *Gymnema sylvestris*, R.Br. em vários sistemas enzimáticos relacionados com a utilização da glicose em coelhos diabéticos.

Ravis & Feldman (1978) demonstraram ser a florizina um potente inibidor do transporte da 3-0-metilglicose através da mucosa intestinal do rato, mesmo quando administrada na forma de pré-tratamento.

SUMMARY

When glucose at 0,1% was perfused into intestinal segment of the anesthetized rats, presents constant rate of absorption.

The association of the pomegranate infusion in the glucose solution inhibits glucose absorption. The pomegranate extract previously IP injected also inhibits absorption of perfused glucose.

Tabela 1 - Perfusão intestinal de glicose a 0,1% (20ml em 20 minutos).

Grupo	Perfusão Nº de ratos	Tratamento	% de absorção ($\bar{X} \pm \delta$)	p
1	15	Glicose a 0,1%	67,4 \pm 5,2	-
2	15	Glicose a 0,1% + chá de romã a 0,1%	27,4 \pm 7,6	0,0
3	10	Extrato de Romã 100 mg/kg (IP)* glicose a 0,1% perfusão	27,1 \pm 5,0	0,0
4	15	Glicose a 0,1%. Em seguida glicose a 0,1% + chá de romã a 0,1%	32,1 \pm 9,5	ns
5	10	Glicose a 0,1% + chá de romã a 0,1%, lavagem, glicose a 0,1%	70,6 \pm 6,9	ns

*0 extrato de romã foi administrado 2 horas antes da perfusão de glicose. T-Student.

Tabela 2 - Ritmo de absorção da glicose perfundida: 30ml da solução de glicose a 0,1%/ml por minuto.

Amostra colhida após (em minutos)	% de absorção: rato nº					Média (no período) $\bar{X} \pm \delta$	p
	1	2	3	4	5		
5	71,6	67,6	79,4	64,7	71,6	71,0 \pm 5,5	ns
10	71,6	64,7	71,6	61,8	67,6	67,5 \pm 4,3	ns
15	71,6	67,6	71,6	64,7	71,6	69,4 \pm 5,1	ns
20	67,6	67,6	79,4	67,6	71,6	70,8 \pm 5,1	ns
25	71,6	71,6	71,6	67,6	67,6	70,0 \pm 2,2	ns
30	67,6	71,6	79,4	67,6	71,6	71,6 \pm 4,8	ns

ns = Diferença não significativa p 0,05.

* Prova de aleatorização de pares amostras independentes.

Referências bibliográficas

- Bantle, J.P.; Laine, D.C.; Castle, G.W.; Thomas, J.W.; Hoogwerf, B.J.; Goetz, F.C. - 1983. Postprandial glucose and insulin responses to meals containing different carbohydrates in normal and diabetic subjects. *New Engl. J. Med.* 309:7-12.
- Grüne, U. - 1979. Sobre o princípio anti-diabético da Pedra-hume-caá, *Myrcia multiflora* (Lam.) DC. Tese de Mestrado - UFRJ.
- Gynther, J. & Huhtikangas, A. - 1984. Effect of Guar Gum on the gastric transit time in mice. *Planta Médica* 50:116
- Hart, S.L. & Mc Coll, I. - 1968. The effect of the laxative oxyphenisatin on the intestinal absorption of glucose in rat and man. *Br. J. Pharmacol. Chemother.* 32; 683-6.
- Jenkins, D.J.A.; Wolwver, T.M.S.; Nineham, R. - 1978. Guar crispbread in the diabetic diet. *Br. Med. J.* 2: 1744-6.
- Jenkins, D.J.A.; Wolwver, T.M.S.; Taylor, R.H.; Barker, H.M.; Fielden, H. - 1980. Exceptionally low blood glucose response to dried beans: comparison with other carbohydrates foods. *Br. Med. J.* 2: 578-80.
- Johansson, O.; Lindberg, T.; Melander - 1979. In vivo absorption of phenytoin from rat small intestine and its inhibition by phlorizin. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 45:265-71.
- Lima, H.C & Pereira, N.A. - 1976. Contribuição experimental ao estudo da interferência de plantas na absorção de glicose no intestino do rato. (Inédito).
- Mauro, M.C.M.; Achá, M-J.L.; Arduino, F. 1983. Influência do teor de fibra dietética natural sobre a glicemia pós-prandial. *Arq. Bras. Med.* 57:209-12.
- Nissim, J.A. - 1965. The study and assay of substances affecting intestinal absorption in the mouse. *Brit. J. Pharmacol.* 24: 205-13.
- Park, J.T. & Johnson, M. S. - 1949. A submicrodetermination of glucose. *J. Biol. Chem.* 181:149-51.
- Ravis, W.R. & Feldman, S. - 1978. Effect of enzyme-inducing and enzyme-inhibiting agents on drug absorption I: 3-O-Methylglucose in rats. *J. Pharm. Sci.* 67:245-8.
- Shanmugasundaram, K.R.; Panneerselvan, C.; Samudram, P.; Shanmugasundaram, E.R.B. - 1983. Enzyme chages and glucose utilisation in diabetic rabbits: The effect of *Gymnema sylvestre*, R. *Br. J. Ethnopharmacol.* 7(2):205-234.
- Silva, J. G. & Pereira, N.A. - 1983. Atividade hipoglicemiante de um extrato do epicarpo da Romã. *Rev. Bras. Farm.* 64:25-28.