

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



USO DO ALOXANO COMO INDUTOR DO DIABETES MELLITUS NO MODELO EXPERIMENTAL COM ANIMAIS

Valeska Edith Lucas Leal¹, Vithória Régia Teixeira Rodrigues², Emanuel Messias Silva Feitosa³, Francisca Clarisse de Sousa⁴, Cosmo Alexandro da Silva de Aguiar⁵, Ana Luiza Rodrigues Santos⁶, Ana Raiane Alencar Tranquilino⁷, Josivaldo Macêdo Silva⁸, Luis Rafael Leite Sampaio⁹

Resumo: Objetivou-se nesse estudo, apresentar os resultados obtidos através de um teste experimental utilizando diferentes doses e vias do aloxano (AL) para indução do diabetes mellitus (DM) no modelo animal, como também avaliar a eficácia quando aplicado o protocolo de indução (PI) ou não. Amostra foi composta por 9 ratos saudáveis, adultos, machos, albinos, da raça Wistar, pesando entre 200 e 300 g, no primeiro grupo 6 animais foram induzidos, com doses de 50mg/kg e 140 mg/kg de AL sem a utilização do PI, enquanto no segundo grupo, 3 animais foram induzidos com única dose de 50 mg/kg com utilização do PI. No primeiro grupo a não utilização do PI experimental do DM, mesmo que em diferentes doses e vias, não foi eficaz na indução do DM. Enquanto no segundo grupo de teste, dos três animais induzidos com PI, um foi a óbito antes da primeira verificação glicêmica e os outros dois, na primeira verificação glicêmica mostraram um resultado HI, que confirma nível glicêmico acima do limite de detecção do aparelho. Desta forma é possível afirmar que a utilização do protocolo de indução experimental do DM em animais é eficaz, visto que quando não aplicado os animais não adquiriram DM.

Palavras-chave: Aloxano. Diabetes Mellitus. Estudo experimental.

1. Introdução

O Diabetes *mellitus* (DM) é um importante e crescente problema de saúde para todos os países, independentemente do seu grau de desenvolvimento. É uma doença caracterizada pela produção insuficiente ou pela má absorção de insulina, hormônio que regula os níveis de glicose no sangue, resultando em um aumento desses níveis de glicose (DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017). O DM, quimicamente induzido com drogas citotóxicas em

1 Universidade Regional do Cariri, email: valeska_edith@hotmail.com

2 Universidade Federal do Cariri, email: vithoriaregia00@gmail.com

3 Universidade Federal do Cariri, email: emfeitosa2017@gmail.com

4 Universidade Federal do Cariri, email: clarissesousa150@gmail.com

5 Universidade Federal do Cariri, email: cosmoaguiar84@gmail.com

6 Universidade Federal do Cariri, email: luizaa017@gmail.com

7 Universidade Federal do Cariri, email: anarayane.alencar@gmail.com

8 Universidade Federal do Cariri, email: josivaldomacedo09@gmail.com

9 Universidade Federal do Cariri, email: rafael.sampaio@urca.br

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



animais de experimentação tem sido amplamente empregado como modelo para os estudos de agentes terapêuticos e preventivos da doença, dos eventos bioquímicos, hormonais e morfológicos que ocorrem durante e após a indução do estado diabético (ZANOELLO et al., 2002; RIBEIRO et al., 2007).

Frente a essa realidade, torna-se imprescindível a melhor compreensão dos mecanismos fisiopatológicos do diabetes e de suas complicações, à procura de um tratamento capaz de contribuir às alterações endócrino-metabólicas causadas pela doença e, principalmente, as lesões crônicas sobre os diferentes órgãos (LERCO et al, 2003).

O aloxano (AL) é um dos compostos mais utilizados para indução experimental do diabetes mellitus (YIMAM et al, 2014; YERIMA et al, 2014; VIEIRA et al, 2014). Ele age como agente citotóxico para as células β secretoras de insulina do pâncreas, induz eficazmente os fenótipos que se assemelham ao diabetes tipo 1 (ADEYI et al, 2012). Sua ação diabetogênica tem sido caracterizada, principalmente, pela produção de radicais livres e subsequente formação de radicais superóxido que são altamente reativos e destroem seletivamente células pancreáticas nas ilhotas de Langerhans produtoras de insulina (DORNAS et al, 2006).

Entretanto o uso do AL, apesar de ser um bom modelo experimental para indução do DM no modelo animal, ainda há alguns pesquisadores que referem dificuldades em conseguir induzir de forma eficaz o DM, em decorrência de problemas apresentados pela droga, subsequente a sua instabilidade química e metabolismo rápido, o que torna difícil estabelecer uma relação clara entre as doses do aloxano e sua concentração efetiva no pâncreas (Negri, 2005; Federiuk et al., 2004; Ribeiro et al., 2007; YERIMA et al, 2014; YIMAM et al, 2014). Dessa forma, torna-se necessário uma investigação acerca de qual a dose mais eficaz na indução do DM, assim como a via de indução e como a aplicação de um protocolo para indução do DM pode interferir na eficácia dos resultados.

2. Objetivo

Descrever os resultados obtidos através de um teste experimental utilizando diferentes doses e vias para administração do aloxano no modelo experimental de indução do diabetes mellitus.

3. Metodologia

O protocolo utilizado está de acordo com os Princípios Éticos de Experimentação Animal adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), foi aprovado pela comissão de experimentação e Uso de Animais da Universidade Regional do Cariri (CEUA/URCA – protocolo nº 00167/2018). Amostra composta por 9 ratos saudáveis, adultos machos, albinos (*Rattus norvegicus*), da raça Wistar, pesando entre 200 e 300 g, provenientes do

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



biotério da Universidade Regional do Cariri. O primeiro grupo de teste em que não foi utilizado o protocolo de indução do DM, foi composto de 6 animais, que foram distribuídos aleatoriamente em três grupos experimentais, a verificação dos níveis glicêmicos se deram no período 1, 7 e 14 dias. Cada grupo continha dois ratos, nos quais foram induzido o DM, através do AL (tabela 1).

No outro grupo foram utilizados 3 animais, sendo aplicado o protocolo de indução do DM, e utilizando uma única dose de 50mg/kg e uma única via Endovenosa (IV), em todos os animais (tabela 2).

Os animais foram anestesiados associando anestésico com relaxante muscular, empregando-se cloridrato de quetamina, via intramuscular, na dosagem de 70 mg/kg do peso do animal, e cloridrato de xilazina, via intraperitoneal, na dosagem de 10 mg/kg do peso do animal. Procedeu-se em seguida a administração do aloxano nas seguintes doses: 50mg/kg, 140mg/kg e nas posteriores vias IV e Intraperitoneal (IP).

4. Resultados

Os animais foram pesados e separados para o primeiro teste onde não foi aplicado o protocolo de indução do DM, o grupo foi composto por 6 animais pesando entre 200 e 300g, as doses, vias de administração e níveis glicêmicos para cada dia de verificação podem ser observados na seguinte tabela.

Tabela 1: Não utilizado o protocolo de indução do DM.

Nível Glicêmico por dia	Grupo AL 50mg, Via EV (Animal 1)	Grupo AL 50mg, Via EV (Animal 2)	Grupo AL 50mg, Via IP (Animal 3)	Grupo AL 50mg, Via IP (Animal 4)	Grupo AL 140mg, Via IP (Animal 5)	Grupo AL 140mg, Via IP (Animal 6)
1°	Óbito	227 mg/dL	109 mg/dL	e-i	103 mg/dL	119 mg/dL
7°		117 mg/dL	101 mg/dL	e-i	107 mg/dL	119 mg/dL
14°		114 mg/dL	100 mg/dL	e-i	113 mg/dL	123 mg/dL

* mg/dL: miligramas por decilitro; e-i: erro de leitura da fita

Para o segundo grupo de teste agora utilizando aplicado o protocolo de indução do DM. O mesmo foi composto por 3 animais, pesando entre 200 e 300g e foi utilizando uma dose de 50mg/kg e pela via Intravenosa (IV), níveis glicêmicos para cada dia de verificação podem ser observados na seguinte tabela.

Tabela 2: Utilizado o protocolo de indução do DM.

Nível Glicêmico por dia	Grupo AL 50mg, Via IV (Animal 1)	Grupo AL 50mg, Via EV (Animal 2)	Grupo AL 50mg, Via EV (Animal 3)
1°	Óbito	HI	HI
7°		Óbito	Óbito
14°			

* HI: acima do limite de detecção do aparelho

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



Abaixo encontra-se o protocolo de indução do Diabetes Mellitus no modelo experimental animal em ratos, utilizado no teste.

Protocolo de indução do Diabetes Mellitus no modelo experimental animal em ratos elaborado pelos autores.

1° passo	Utilizar animais machos pesando entre 200 a 300 g
2° passo	Manter animal em jejum até 8 horas antes da indução
3° passo	Antes de iniciar a indução verificar se todos os materiais necessários estão disponíveis para evitar intercorrências
4° passo	Pesar animais individualmente e realizar cálculos de anestesia e indutor de DM (aloxano)
5° passo	Prepara anestesia e indutor de DM aloxano, OBS: o aloxano é altamente tóxico e fotossensível, sendo necessário colocá-lo em béquer envolto de papel alumino, durante pesagem manter luz apagada e conserva-lo em isopor com bobinas de gelo
6° passo	Após administração da anestesia colocar o animal em decúbito dorsal e expor veia peniana, puncionar veia e administrar aloxano
7° passo	Colocar os animais em caixas separadas, em decúbito lateral e cobertos para evitar hipotermia
8° passo	Deixa solução glicosada durante 24 horas na caixa do animal
9° passo	E após 72 horas de indução verificar glicemia

Observa-se que não utilização o protocolo de indução experimental do DM em animais, mesmo que em diferentes doses e vias, não houve eficácia na indução do DM, mostrando que nenhum animal atingiu os níveis glicêmicos considerados para confirmação do DM, valores estes iguais ou superiores a 250 mg/dL. Enquanto no segundo grupo de teste, os animais que foram induzidos com utilização do protocolo de indução, na dose de 50mg/kg por via IV, obtivemos que dos três animais do grupo, um morreu antes da primeira verificação glicêmica e os outros dois, na primeira verificação glicêmica mostraram um resultado HI, que confirma nível glicêmico acima do limite de detecção do aparelho, e os mesmo não sobreviveram até a verificação seguinte à qual seria no sétimo dia e posteriormente décimo quarto dia.

5. Conclusão

Desta forma é possível afirmar que a utilização do protocolo de indução experimental do DM em animais é eficaz, visto que quando não aplicado os animais não adquiriram DM. A utilização do protocolo na dose de 50mg/kg por via IV, mostrou-se elevada, provocando um alto nível glicêmico no animal e podendo ter colaborado para sua morte precoce, e assim não sobrevivência até o final do teste. Sendo necessário uma flexão desses resultados, na busca de uma dose adequada para indução do DM, porém que não comprometa a vitalidade do animal e que a dose seja eficaz mantendo o animal diabético até o final do teste.

IV SEMANA UNIVERSITÁRIA DA URCA

XXII Semana de Iniciação Científica

21 a 25 de outubro de 2019

Tema: "Desmonte da Pesquisa, Ciência e Tecnologia: repercussões e impactos tecnológicos, sociais e culturais"



6. Referências

ADEYI, A.O.; IDOWU, B.A.; MAFIANA, C.F.; OLUWALANA, S.A.; AJAYI, O.L.; AKINLOYE, O.A. Rat model of food-induced non-obese-type 2 diabetes mellitus: comparative pathophysiology and histopathology. **Int J Physiol Pathophysiol Pharmacol.**, v. 4, n. 1, p. 51-58, 2012.

DIRETRIZES DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES 2017-2018 / Organização José Egídio Paulo de Oliveira, Renan Magalhães Montenegro Junior, Sérgio Vencio. -- São Paulo: Editora **Clannad**, 2017.

DORNAS, W. C.; NAGEM, T.J.; OLIVEIRA, T.T.; CONTELLI, R. Aloxano e diabetes. **Revista brasileira de toxicologia.** v. 19, n. 2, p. 81-87, 2006.

FEDERIUK IF, CASEY HM, QUINN MJ, WOOD MD, WARD WK. Induction of type-1 diabetes mellitus in laboratory rats by use of alloxan: route of administration, pitfalls, and insulin treatment. **Comp Med**, v. 54, n. 3, p. 252-257, 2004.

LERCO MM, SPADELLA CT, MACHADO JLM, SCHELLINI SA, PADOVANI CR. Caracterização de um modelo experimental de Diabetes mellitus, induzido pela aloxana em ratos. Estudo clínico e laboratorial. **Acta Cir Bras.**, v. 18, n. 2, 2003.

NEGRI G. Diabetes melito: plantas e princípios ativos naturais hipoglicemiantes. **Rev Bras Cienc Farm.**, v. 41, n. 2, p. 121-142, 2005.

RIBEIRO C, OLIVEIRA CAM, MELLO MAR. Exercício e prevenção do diabetes mellitus: importância do modelo experimental utilizando ratos. **Motriz.**, v. 13, n. 1, p. 72-77, 2007.

VIEIRA, A.; MICHELS, M.; FLORENTINO, D.; LAURIANO, A.A.; DANIELSKI, L.G.; FORTUNATO, J.J.; BARICHELLO, T.; DAL-PIZZOL, F.; QUEVEDO, J.; PETRONILHO, F. Increased on oxidative brain injury in the diabetic rats following sepsis. **Synapse**, 2014.

YERIMA, M.; ANUKA, J.A.; SALAWU, O.A.; ABDU-AGUYE, I. Antihyperglycaemic activity of the stem-bark extract of *Tamarindus indica* L. on experimentally induced hyperglycaemic and normoglycaemic Wistar rats. **Pak J Biol Sci.**, v. 17, n. 3, p. 414-418, 2014.

YIMAM, M.; ZHAO, J.; CORNELIUSEN, B.; PANTIER, M.; BROWNELL, L.; JIA, Q. Blood glucose lowering activity of aloe based composition, UP780, in alloxan induced insulin dependent mouse diabetes model. **Diabetol Metab Syndr.**, v. 6, n. 61, 2014.

ZANOELLO AM, MAZZANTI CM, GINDRI JK, FILAPPI A, PRESTES D, CECIM M. Efeito Protetor do *Syzygium cumini* contra Diabetes mellitus induzido por Aloxano em Ratos. **Acta Farm Bonaer.**, v. 21, n. 1, p. 31-36, 2002.