

EFEITOS DO ÁCIDO LIPÓICO SOBRE A CONTRAÇÃO DE LESÕES EM RATOS DIABÉTICOS INDUZIDOS PELO ALOXANO

Josivaldo Macêdo Silva¹, Emanuel Messias Silva Feitosa², Vithória Régia Teixeira Rodrigues³, Luis Rafael Leite Sampaio⁴

Resumo: A contração da ferida é uma característica necessária para o processo de cura em feridas cutâneas. Objetiva-se analisar os efeitos do ácido lipóico sobre a contração de lesões em ratos diabéticos induzidos pelo aloxano. Os experimentos foram realizados em ratos wistar, adultos, machos. Os animais induzidos à diabetes com o Aloxano e após realizou-se divisão em três grupos de cinco animais cada para tratamento: G1 (solução salina e celulose), G2 (100 mg/kg de ácido lipóico) e G3 (200mg/kg de ácido lipóico). No tratamento de um dia 100/200mg/kg não apresentaram diferença no tratamento em relação ao grupo controle. Ácido lipóico na dose de 100/200mg/kg foram significativamente diferentes no tratamento de 7 dias para o grupo controle e resultado semelhante foi obtido para o tratamento de 14 dias, em que o ácido lipóico foi significativamente diferente quando comparados ao grupo controle. Conforme os resultados obtidos afirmando que após o ferimento, macrófagos chegam ao local da ferida e participam do processo de cicatrização, podemos concluir que quanto maior o tempo de exposição ao Ácido Lipóico mais sucesso temos em relação ao processo de contração das lesões.

Palavras-chave: Indução. Diabetes Mellitus. Aloxano.

1. Introdução

O diabetes mellitus (DM) destaca-se no Brasil e no mundo por ser uma das doenças crônicas degenerativas de grande importância na saúde pública devido altos índices de morbimortalidade, levando conseqüentemente a cegueira, a retinopatia diabética, a insuficiência renal crônica e as amputações de extremidades inferiores. De acordo com as Diretrizes da Sociedade Brasileira de Diabetes, o DM é um grupo heterogêneo de distúrbios metabólicos que apresenta em comum a hiperglicemia resultante de defeitos na ação da insulina, na secreção de insulina ou em ambas (SBD, 2017-2018). O ácido lipóico pode ser benéfico na prevenção de complicações diabéticas por evitar a glicosilação de proteínas e inibição da enzima aldose redutase (ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, 2006), o que o torna um provável alvo terapêutico no diabetes mellitus e no retardo cicatricial promovido por esta enfermidade.

Para a indução do diabetes experimental utilizamos aloxano devido a sua capacidade de induzir DM irreversível após 24 horas de sua administração e a condição revela-se crônica por testes de laboratório depois de sete dias (CARVALHO, CARVALHO, FERREIRA, 2003). Considerando também que este

1 Universidade Regional do Cariri, email: josivaldomacedo09@gmail.com

2 Universidade Regional do Cariri, email: emfeitosa2017@gmail.com

3 Universidade Regional do Cariri, email: vithoriaregia00@gmail.com

4 Universidade Regional do Cariri, email: rafael.sampaio@urca.br

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

modelo diabético aloxânico é reconhecido pela similaridade ao quadro diabético insulino-dependente (LENZEN, 2008).

A contração da ferida é uma característica necessária para o processo de cura em feridas cutâneas (ARUL V., et al, 2005). Considerando que ratos diabéticos apresentam menor capacidade de cicatrização de feridas (PENG, 2011), avaliamos a taxa de contração das feridas nos ratos dos Grupos 1, 2 e 3 e de seus respectivos subgrupos (A, B e C) em ambos os períodos (1, 7 e 14 dias).

2. Objetivo

Objetiva-se analisar os efeitos do ácido lipóico sobre a contração de lesões em ratos diabéticos induzidos pelo aloxano.

3. Metodologia

Os experimentos foram realizados em ratos albinos, da linhagem wistar, adultos, machos, com peso entre 200-300 gramas, provenientes do Biotério da Universidade Regional do Cariri (URCA). Os animais foram mantidos a uma temperatura controlada (23 ± 1 ° C), com um ciclo de 12h claro / escuro e livre acesso à água e alimentos, divididos em três grupos distintos (GRUPOS 1, 2 e 3), sendo cada um destes, composto por 15 animais, que por sua vez foram divididos em três subgrupos (A, B e C), contendo cinco animais cada, obedecendo aos períodos de observação de 1, 7 e 14 dias, respectivamente. Os animais do grupo 1 foram o controle; do grupo 2 ácido lipóico na dose de 100mg/kg e grupo 3 ácido lipóico na dose de 200mg/kg.

Para indução do diabetes experimental os animais ficaram em jejum prévio de 24 horas para aumentar a suscetibilidade do animal ao diabetes. Após anestesia com xilazina 10mg/kg e ketamina 100mg/kg os animais eram contidos em decúbito dorsal, para receber uma injeção intravenosa (veia peniana dorsal) de Aloxano na dose de 50mg/kg e diluído em 0,1 ml de água destilada para cada 100g de peso corporal e preparado na hora da utilização. Seis horas após a injeção de aloxano, os animais foram tratados com solução de glicose (10%) para evitar mortes na fase hipoglicêmica. Após 24 horas, foi retirada a glicose da água. Para constatar o diabetes verificou-se a glicemia 72 horas após indução do diabetes, sendo que os animais que não apresentavam valores iguais ou superiores a 250 miligramas por decilitro de sangue foram descartados. Para confirmar a permanência do diabetes a glicemia era verificada no dia da eutanásia, para avaliar qualquer processo de reversão do diabetes. As verificações foram feitas retirando-se sangue da ponta da cauda do animal anestesiado e colocado uma gota sobre fitas reagentes da marca Accu-Chek Active e a leitura feita em um aparelho da marca Accu-Chek Active.

O estudo foi dividido nos seguintes momentos: animais, indução do diabetes experimental, anestesia, tricotomia e produção da ferida cutânea, protocolo de tratamento, avaliação das feridas, mensuração da ferida, análise dos dados. A avaliação do percentual de contração das feridas foi realizada por meio da análise de variância (ANOVA), usando o software Prism 5.0. versão para Windows, GraphPad Software (San Diego, CA, EUA). Para avaliação da significância, comparações múltiplas foram feitas com ANOVA e por Tukey como post hoc testes. Os resultados foram considerados significativos para $p < 0,05$ e apresentados como média \pm EPM.

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

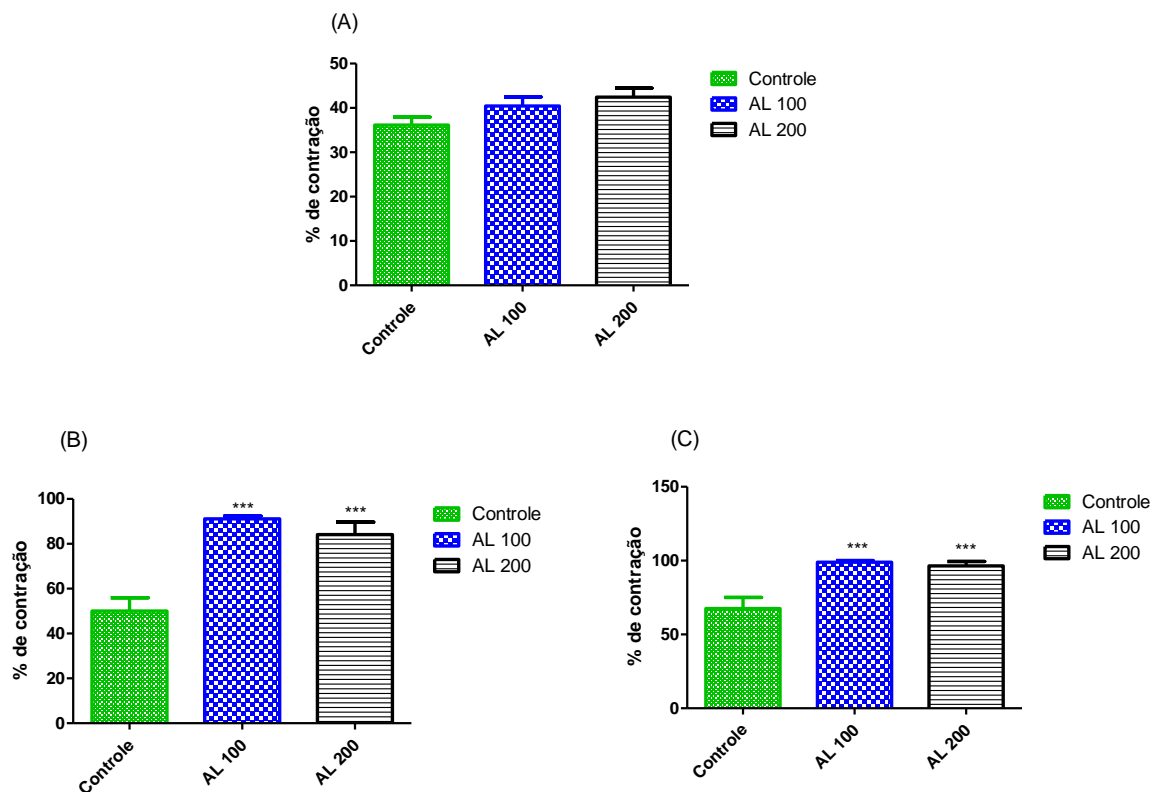
05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

Todos os procedimentos experimentais foram realizados em conformidade com a Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Regional do Cariri (URCA) sob parecer de N^o. 00167/2018.1.

4. Resultados

A partir da avaliação do percentual de contração das lesões em ratos diabéticos induzidos pelo aloxano, observou-se que ácido lipóico na dose de 100mg/kg ($40,4 \pm 2,0$) e na dose de 200mg/kg ($42,4 \pm 2,0$) não apresentaram diferença no tratamento de um dia em relação ao grupo controle ($36,1 \pm 1,8$) (Fig. A). Ácido lipóico na dose de 100mg/kg ($91,1 \pm 1,2$) e na dose de 200mg/kg ($84,1 \pm 5,5$) foram significativamente diferentes no tratamento de 7 dias para o grupo controle ($50,0 \pm 5,9$) (Fig. B). Resultado semelhante foi obtido para o tratamento de 14 dias, em que o ácido lipóico (AL 100: $98,8 \pm 1,1$ e AL 200: $96,4 \pm 2,9$) foi significativamente diferente quando comparados ao grupo controle ($67,5 \pm 7,5$) (Fig. C).

Figura 1 – Efeitos do Ácido Lipóico sobre a contração de lesões em ratos diabéticos induzidos pelo aloxano. Cada barra representa média \pm EPM. (A) Animais tratados por um dia com veículo (controle), ácido lipóico 100 mg/kg (AL 100) ou ácido lipóico 200 mg/kg (AL 200), (B) Animais tratados por 7 dias com veículo (controle), ácido lipóico 100 mg/kg (AL 100) ou ácido lipóico 200 mg/kg (AL 200) e (C) Animais tratados por 14 dias com veículo (controle), ácido lipóico 100 mg/kg (AL 100) ou ácido lipóico 200 mg/kg (AL 200). Para todas as análises, $p < 0,05$ foi considerado significativo (ANOVA seguida de Tukey como teste post-hoc).



XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

Fonte: Elaborado pelos autores.

5. Conclusão

Ao observar a figura A identificou-se que ácido lipóico na dose de 100mg/kg ($40,4 \pm 2,0$) e na dose de 200mg/kg ($42,4 \pm 2,0$) não apresentaram diferença no tratamento de um dia em relação ao grupo controle ($36,1 \pm 1,8$). Já Ácido lipóico na dose de 100mg/kg ($91,1 \pm 1,2$) e na dose de 200mg/kg ($84,1 \pm 5,5$) foram significativamente diferentes no tratamento de 7 dias para o grupo controle ($50,0 \pm 5,9$) e resultado semelhante foi obtido para o tratamento de 14 dias, em que o ácido lipóico (AL 100: $98,8 \pm 1,1$ e AL 200: $96,4 \pm 2,9$) foi significativamente diferente quando comparados ao grupo controle ($67,5 \pm 7,5$). Conforme os resultados obtidos afirmando que cerca de 3 dias após o ferimento, macrófagos chegam ao local da ferida e participam do processo de cicatrização pela fagocitose de agentes patogênicos e de detritos celulares, bem como pela secreção de fatores de crescimento, quimiocinas e citocinas (KOH, DIPIETRO, 2011, REINKE, SORG, 2012), podemos concluir que quanto maior o tempo de exposição ao Ácido Lipóico mais sucesso temos quanto a contração das lesões.

6. Agradecimentos

Agradecemos a Universidade Regional do Cariri (URCA) e a Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico (FUNCAP) por colaborar com o andamento da pesquisa, ainda aos Prof. Drs Marta Regina Kerntopf Mendonça e Irwin Rose Alencar de Menezes.

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

7. Referências

ARUL, V. et al. **Biotinylated GHK peptide incorporated collagenous matrix: a novel biomaterial for dermal wound healing in rats.** Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, Chennai, v. 73 n. 2, p. 383–391. Mai. 2005.

ALTERNATIVE MEDICINE REVIEW, **ALPHA-Lipoic acid monograph.** *Alternative Medicine Review*, v. 11, n. 3, 2006.

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. **Total Prevalence of Diabetes & Pre-diabetes**, 2010. Disponível em: <http://www.diabetes.org/diabetes-statistics/prevalence.jsp>. URL. Acesso em: 22 de janeiro 2013.

CARVALHO, E. N.; CARVALHO, N. A. S.; FERREIRA, L. M. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. *Acta Cirúrgica Brasileira*, São Paulo, v. 18, Special Edition, p. 60-64. 2003.

HEINISCH, B.B.; FRANCESCONI, M.; MITTERMAYER, F.; SCHALLER, G.; GOUYA, G.; WOLZT, M., PLEINER, J. Alpha-lipoic acid improves vascular endothelial function in patients with type 2 diabetes: a placebo-controlled randomized trial. *Eur. J. Clin. Invest.*, v. 40, p. 148-154, 2010.

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.

KOH, T. J.; DIPIETRO, L. A. **Inflammation and wound healing: the role of the macrophage.** *Expert Reviews in Molecular Medicine*, Chicago, v. 13. July. 2011.

LENZEN, S. **The mechanisms of alloxan- and streptozotocin-induced Diabetes.** *Diabetologia*, Hannover, v. 51, n. 2, p. 216–226. Feb. 2008.

PENG, C. et al. **Lack of FGF-7 Further Delays Cutaneous Wound Healing in Diabetic Mice.** *Plastic and Reconstructive Surgery*, Boston, v. 128, n. 6, p. 673-684. Dec. 2011.

REINKE, J. M.; SORG, H. **Wound Repair and Regeneration.** *Eur Surg Res*, Hannover, v. 49, n. 1, p. 35–43. Aug. 2012.