

REPARAÇÃO TECIDUAL DE LESÕES CUTÂNEAS EM RATOS DIABÉTICOS TRATADOS COM ÁCIDO LIPÓICO

Valeska Edith Lucas Leal¹, Vitória Alves de Moura², Francisca Clarisse de Sousa³ Luis Rafael Leite Sampaio⁴

Resumo: O diabetes mellitus é uma das doenças crônicas degenerativas de grande importância na saúde pública, capaz de desencadear outras complicações como a deficiência cicatricial, associada ao estresse oxidativo. O ácido lipóico (AL) é um componente natural com potente ação antioxidante. Desse modo, objetivou-se avaliar a reparação tecidual pelo AL no tratamento de lesões cutâneas no modelo experimental de Diabetes mellitus induzido pelo aloxano em ratos. Foram utilizados ratos wistar, albinos e machos, induzindo o diabetes experimental por injeção intravenosa de aloxano (50mg/kg). A lesão foi realizada por procedimento cirúrgico e para o tratamento os animais foram divididos em três grupos (Controle, AL 100mg/kg e AL 200mg/kg), e subgrupos de tratamento (1 dia, 7 dias e 14 dias). Após o tratamento as lesões foram avaliadas quanto a infecção, halo hiperêmico, formação de crosta, borda necrótica e fundo sangrante. O surgimento de crosta foi a única característica presente, nos grupos controle e AL 100mg/kg; no AL 200mg/kg apenas no tratamento de 14 dias. Assim o ácido lipóico tem se mostrado um antioxidante eficiente em doses elevadas, melhorando o aspecto da ferida.

Palavras-chave: Cicatrização. Animais. Diabetes Mellitus Experimental. Ácido Lipoico. 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. Os mecanismos exatos subjacentes à doença são desconhecidos, no entanto, há evidências crescentes de que o excesso de geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), em grande parte devido à hiperglicemia, provoca estresse oxidativo em uma variedade de tecidos (ROCHETTE et al, 2014).

Outras complicações com o aumento progressivo da glicemia no interior das células são alterações das funções vasculares (SCHAAN, 2003), dentro dessas alterações a deficiência progressiva no processo de cicatrização, caracterizadas pela presença de crosta, infecções, bordas necróticas tem sido uma das complicações mais presentes, envolvendo prioritariamente a pele.

Associada a deficiência do processo cicatricial, a pele está constantemente exposta a agentes químicos e poluentes ambientais produtores de ROS e Espécies Reativas de Nitrogênio (RNS), que são importantes moléculas sinalizadoras e que danificam as estruturas celulares em muitas doenças de

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

2 Universidade Regional do Cariri, email: vitoria009moura@gmail.com

3 Universidade Regional do Cariri, email: clarissesousa150@gmail.com

4 Docente da 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

pele. Assim como, os radicais livres, definidos como um átomo ou uma molécula que contém um ou mais elétrons não pareados. Eles alteram a reatividade química de um átomo ou de uma molécula, normalmente tornando-os mais reativos (HAESER, 2006).

Assim, o estresse oxidativo resulta do desequilíbrio da formação e remoção dessas espécies que sofrem a ação direta de agentes endógenos e exógenos. Que são reestabelecidos pela ação dos antioxidantes. Assim ao longo dos anos tem se tornado frequente o estudo do efeito desses antioxidantes, bem como suas fontes.

Os antioxidantes são agentes responsáveis pela inibição e redução das lesões causadas pelos radicais livres nas células, que atuam em diferentes níveis na proteção dos organismos. Para manter a homeostase, é essencial o equilíbrio entre a geração de agentes pró-oxidantes e o sistema de defesa antioxidante (MICHELETTI, 2010).

Assim compostos naturais têm sido amplamente utilizados para a extração de óleos com propriedades antioxidantes, entre eles o ácido lipóico, que é um componente natural das membranas biológicas de plantas e animais. Sua atividade antioxidante foi descrita pela primeira vez como um co-fator essencial para a conversão de piruvato em acetil-coenzima A, um passo crítico na respiração celular (SALINTHONE et al, 2008).

O ácido lipóico é um antioxidante potente em gordura e solúvel em água. Além disso, sua atividade antioxidante se estende ambas as formas oxidada e reduzida, podendo 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.

Assim, para analisar o efeito cicatrizante do ácido lipóico em ratos diabéticos, é necessária desenvolver um modelo experimental para a diabetes mellitus, e o aloxano é um dos compostos mais utilizados (YIMAM et al, 2014; YERIMA et al, 2014; VIEIRA et al, 2014). 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). Desta forma, o aloxano como um 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).

2. Objetivo

Avaliar a reparação tecidual pelo ácido lipóico no tratamento de lesões cutâneas no modelo experimental de Diabetes mellitus induzido pelo aloxano em ratos.

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

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 e análise dos dados.

A avaliação macroscópica das feridas foi realizada em todos os animais no dia do sacrifício, em cada subgrupo, por 2 avaliadores independentes, previamente calibrados. Foram avaliados quanto à ausência (0) ou a presença (1) as seguintes características: infecção; halo hiperêmico em torno da ferida; formação de crosta; borda necrótica e fundo sangrante da ferida. Os dados foram coletados através do preenchimento de um formulário - instrumento de coleta de dados, com todos esses itens, além de outras informações como o valor da glicemia antes e após o tratamento.

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 Nº. 00167/2018.1.

4. Resultados

A partir da análise macroscópica observou-se que para o tratamento de 1, 7 ou 14 dias 100% dos animais pertencentes ao grupo controle, ácido lipóico(AL)

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri

na dose de 100 ou 200 mg/kg não apresentaram formação de halo hiperêmico no interior ou no tecido perilesional. Quanto à avaliação da borda necrótica, evidenciou-se que nenhum dos grupos do tratamento apresentaram formação de borda necrótica e que não houve formação de fundo sangrante. A respeito do desenvolvimento de infecção foi possível analisar que os animais não apresentaram formação de infecção.

Ainda a partir da análise macroscópica foi possível avaliar o surgimento de crosta no interior da lesão, demonstrou que para o tratamento de 1 dia, 100%(5) dos animais pertencentes ao grupo controle e 71,4%(5) dos animais constituintes do grupo AL 100 apresentaram crosta, enquanto que 100%(6) dos ratos tratados com AL 200 a formação de crosta esteve ausente. Resultado semelhante ao anterior identificou-se após o tratamento em doses repetidas por 7 dias, em que 100%(5) dos animais pertencentes ao grupo controle e 100%(6) dos animais constituintes do grupo AL 100 apresentaram crosta, enquanto que 100%(4) dos ratos tratados com AL 200 a formação de crosta esteve ausente. Para o tratamento em doses repetidas por 14 dias, 100%(5) dos animais pertencentes ao grupo controle apresentaram formação de crosta, enquanto que 81,8%(9) tratados com AL 100 e 55,6%(5) dos ratos tratados com AL 200 não houve instauração de crosta no interior da lesão em ratos diabéticos.

5. Conclusão

Conclui-se que os grupos em tratamento com ácido lipóico demonstraram um melhor processo cicatricial, quando comparado ao grupo controle. Tendo ausência de qualquer indicio de infecção ou características de retardo do processo cicatricial, tais como, halo hiperêmico, borda necrótica e fundo sangrante. Quando analisados macroscopicamente a presença de crosta na ferida tem se tornado ausente quando ao uso de doses mais elevadas do ácido Lipóico ou seu uso constante (14 dias).

Assim o ácido lipóico tem se mostrado um componente antioxidante eficiente no processo cicatricial, melhorando os aspectos da ferida.

6. Agradecimentos

Agradecemos o apoio da Universidade Regional do Cariri e da FUNCAP, pelo financiamento de material e bolsas dos alunos de iniciação científica envolvidos neste projeto.

7. 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.

XXI Semana de Iniciação Científica da URCA

*05 a 09 de novembro de 2018
Universidade Regional do Cariri*

ANDRADE JÚNIOR, D. R.; SOUZA, R.B.; SANTOS, S.A.; ANDRADE, D.R. Os radicais livres de oxigênio e as doenças pulmonares. *J Bras Pneumol*, v.31, n.1, p. 60-68, 2005.

BIANCHI, M.L.P; ANTUNES, LMG. Radicais livres e os principais antioxidantes da dieta. *Rev. Nutr.*, v. 12, n.2, p. 123-130, 1999.

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.

FERREIRA, A.L.A.; MATSUBARA, L.S. Radicais livres: conceitos, doenças relacionadas, sistema de defesa e estresse oxidativo. *Rev Ass Med Brasil*, v. 43, n.1, p. 61-68, 1997.

GUARATINI, T; MEDEIROS, M. H. G e COLEPICOLO, P. Antioxidantes na manutenção do equilíbrio redox cutâneo: uso e avaliação de sua eficácia. *Revista Quim. Nova*, v. 30, n. 1, p. 206-213, 2007.

HAESER, A.S. O estresse oxidativo e a depressão no diabetes em modelo animal: o efeito do clonazepam. *Dissertação (mestrado)*. Faculdade de Farmácia. Porto Alegre: UFRGS, 2006. 77p.

JUNQUEIRA, L.C.; CARNEIRO, J. *Histologia Básica – texto e atlas*. 12ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2013, 556p.

MICHELTTI, P.L. O efeito da restrição aguda de sono e do labirinto em cruz elevado na geração do estresse oxidativo sistêmico e cerebral em ratos. 2010. 95 f. Monografia. (Ciências Biológicas) Universidade Estadual de Londrina, Londrina, 2010.

ROCHETTE, L.; ZELLER, M.; COTTIN, Y.; VERGELY, C. Diabetes, oxidative stress and therapeutic strategies. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2014.

SALINTHONE, S.; YADAV, V.; BOURDETTE, D. N.; CARR, D. W. Lipoic acid: a novel therapeutic approach for multiple sclerosis and other chronic inflammatory diseases of the CNS. *Endocrine, metabolic & immune disorders drug targets*, v. 8, n. 2, p.132-142, 2008.

SCHAAN, B. D. O papel da proteína quinase C no desenvolvimento das complicações vasculares do diabetes mellitus. *Arq Bras Endocrinol Metab*, v. 47, n. 6, p. 654-662, 2003.