

EFEITO PROTETOR DO ÁCIDO GÁLICO SOBRE A DISFUNÇÃO ENDOTELIAL DE RATOS DIABÉTICOS

Jéssica Carla Bezerra do Nascimento Figueiredo¹; Almir Gonçalves Wanderley²

¹Estudante do Curso de Ciências Biológicas Bacharelado- CCB – UFPE;

E-mail: jessyfigueiredo_1@hotmail.com,

²Docente/pesquisador do Depto de Fisiologia e Farmacologia e – CCB – UFPE.

E-mail: almirgw@globo.com.

Sumário: O diabetes *mellitus* está relacionado com formação de radicais livres e também com complicações graves no sistema cardiovascular, como a disfunção endotelial. Por conta disto, existe o interesse no estudo de antioxidantes, encontrados nos vegetais do grupo fenol. O ác. gálico é um importante ác. fenólico, que possui ação antioxidante e age como um protetor cardiovascular. Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito antihiperlipemizante do ác. gálico em ratos Wistar diabéticos e também foi avaliado seus efeitos referentes à concentração/relaxamento em anéis de aorta torácica. Foram utilizados ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*), o *Diabetes mellitus* foi induzido em uma única injeção via i.p. de streptozotocina. Os animais foram divididos em 5 grupos (n=10/grupos): Normoglicêmicos tratados com água, animais diabéticos tratados com água ou metformina ou ác. gálico (60 e 80 mg/kg). Após o tratamento os animais foram eutanasiados e as aortas foram isoladas para registro da tensão isométrica. O ác. gálico não reverteu os sintomas clássicos do *Diabetes mellitus*, em ratos diabéticos. No entanto, houve a reversão da disfunção endotelial em anéis de aorta de ratos diabéticos induzidos por streptozotocina.

Palavras-chave: Ác. gálico; diabetes *mellitus*; disfunção endotelial

INTRODUÇÃO

O *Diabetes mellitus* é um grande problema de saúde pública, por se tratar de um distúrbio crônico com elevadas taxas de morbidade e mortalidade, que afeta grande parte da população, tendo como principais causas fatores hereditários e ambientais (Coelho et al, 2008). A insulina produzida pelas células β -pancreáticas é um agente facilitador da homeostase da glicose ao promover sua captação e estoque no músculo esquelético, fígado e adipócitos. A falta ou a ineficiência das ações da insulina nos alvos periféricos causam o diabetes, caracterizado por hiperglicemia, que ao longo do tempo, pode ocasionar uma série de alterações metabólicas e neurais (Kahn et al, 2006). A síndrome diabética está relacionada à formação de radicais livres, que são espécies reativas de oxigênio (ERO) formadas através da redução de um ou dois elétrons de oxigênio (O_2). Segundo estimativas da Organização Mundial de Saúde (OMS) o número de portadores da doença em todo o mundo era de 177 milhões em 2000, com expectativa de alcançar 350 milhões de pessoas em 2025. Fatores responsáveis para o aumento da doença na população é o sedentarismo, o aumento da expectativa de vida, e também os hábitos alimentares. Uma inadequação no controle da *diabetes mellitus*, muitas vezes leva a várias doenças letais, incluindo complicações vasculares (Balakumar, 2013). Radicais livres e o estresse oxidativo estão entre os fatores envolvidos na patogênese do diabetes e, particularmente, parecem ter um papel importante na destruição das células β -pancreáticas e no desenvolvimento das complicações crônicas da doença (Baynes, 1991). Devido principalmente as descobertas sobre os efeitos dos radicais livres no organismo, tem-se observado um enorme interesse no estudo de antioxidantes (Barreiros et al., 2006). Entre os antioxidantes presentes nos

vegetais, os mais ativos e frequentemente encontrados são os compostos fenólicos, tais como os flavonoides. As propriedades benéficas desses compostos podem ser atribuídas à sua capacidade de sequestrar os radicais livres (Decker, 1997). O ác. gálico, importante ác. fenólico encontrado em fontes naturais, possui ação antioxidante e protetora cardiovascular (Punithavathi et al., 2011). Desta forma, este estudo teve como objetivo avaliar o efeito antihiperглиcemizante do ác. gálico em ratos diabéticos, e também sua ação na disfunção endotelial (concentração/relaxamento) em anéis de aorta torácica.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados ratos Wistar machos (*Rattus norvegicus*) com 2-3 meses de idade (280-320g), oriundos do Depto. de Fisiologia e Farmacologia da UFPE. Os protocolos experimentais foram submetidos ao CEEA da UFPE (Processo nº. 039996/2012-15). O *Diabetes mellitus* foi induzido por dose única de streptozotocina (50 mg/kg diluída em tampão citrato frio 0,1 M (pH = 4,5) (i.p.). Em seguida, os ratos receberam solução de glicose (5%) por 48h. No terceiro dia, a glicemia foi aferida através de amostras de sangue originário da veia caudal utilizando o aparelho monitor de glicemia (Accu-Chek®). Os animais foram divididos aleatoriamente em 5 grupos (n=10/grupos): G1 – Animais normoglicêmicos (Normog) tratados com água; G2 – Animais diabéticos controle (DC) tratados com água; G3 – Animais diabéticos tratados com metformina (DTM 500 mg/kg, padrão); G4 e G5 – Animais diabéticos tratados com ác. gálico (60 e 80 mg/kg). Os grupos foram tratados por via oral. Foram mensuradas a massa corporal, os consumos de água e ração e a glicemia de jejum três dias antes da indução do diabetes e a cada sete dias no período do tratamento de 4 semanas. O isolamento da artéria aorta foi realizado após o término do tratamento os animais foram eutanasiados. Para o registro da tensão isométrica, anéis de 4 mm de comprimento foram montados entre dois ganchos de metal. Os anéis foram incubados em câmaras para órgãos isolados contendo 5mL de solução de Krebs modificado, sob gaseificação com mistura carbogênica (95% O₂ e 5% CO₂), a 37°C. A tensão basal foi de 1,5g e as aortas permaneceram nesta tensão durante uma hora, para estabilização o líquido nutritivo foi renovado a cada 15 minutos. As respostas foram registradas em um sistema de aquisição (Banho de órgão isolado/ miógrafo/AVS). Após a estabilização, foi realizado o teste da integridade do endotélio pelo uso de fenilefrina (Fen, 0,1 µmol/L), assim que a contração se apresentou mantida e estável, foi adicionado à cuba acetilcolina (ACh, 1 µmol/L), para a verificação da viabilidade do endotélio. Considerado viável quando ACh produziu relaxamento de >80%. Análise estatística: A diferença entre as médias foram analisadas através da análise de variância (ANOVA) ou empregando-se o teste “t” de Student, quando necessário foi utilizado o teste de Newman-Keuls. p < 0,05%.

RESULTADOS

O ác. gálico não reverteu a hiperglicemia, perda de massa corporal, polifagia, polidipsia e poliúria, que são sintomas clássicos do Diabetes *mellitus*, em ratos diabéticos.

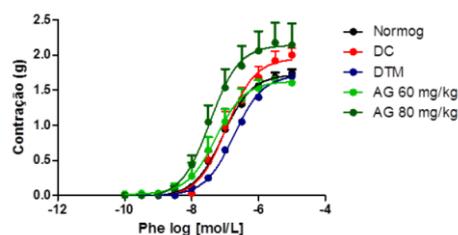


Gráfico 1. Efeito do tratamento com o ác. gálico sobre a contração induzida pela fenilefrina em anéis de aorta de ratos diabéticos.

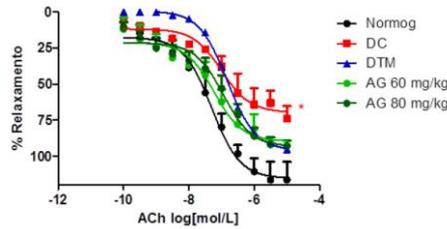


Gráfico 2. Efeito do tratamento com o ácido gálico sobre o relaxamento induzido pela acetilcolina em anéis de aorta de ratos diabéticos.

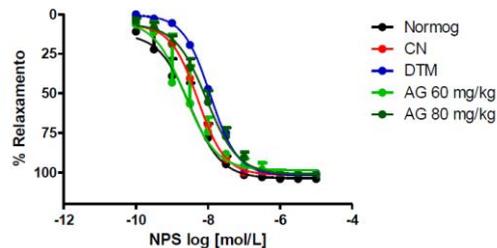


Gráfico 3. Efeito do tratamento com o ácido gálico sobre o relaxamento induzido pelo nitroprussiato de sódio (NPS) em anéis de aorta de ratos diabéticos.

DISCUSSÃO

Uma das causas do diabetes *mellitus* está relacionada com o acúmulo de radicais livres no organismo. O ácido gálico, objeto deste estudo, tem recebido relevância por sua atividade antioxidante comprovada (Punithavathi et al., 2011). No presente estudo, o ácido gálico não conseguiu reverter a hiperglicemia e a polifagia. Sem a ação da insulina, o centro da saciedade não é inibido, tornando o indivíduo polifágico. Apesar da polifagia, a indução de diabetes com STZ está associada com a redução de massa corporal, que ocorre devido ao aumento da perda de massa muscular. Neste estudo, os animais diabéticos apresentaram uma redução da massa corporal, quando comparados ao grupo normoglicêmico. O tratamento com o ácido gálico não conseguiu reverter a redução de massa corporal, possivelmente porque não reduziu a glicemia dos animais. Outros sintomas clássicos do Diabetes *mellitus* são: poliúria e polidipsia. Neste trabalho, os animais diabéticos apresentaram um aumento do consumo de água e este efeito não foi revertido pelo tratamento com o ácido gálico, possivelmente também devido à ausência de efeito sobre a hiper-glicemia. Os dados obtidos diferem de outros estudos encontrados na literatura. De acordo com Punithavathi et al. (2011), o tratamento com ácido gálico realizado em ratos diabéticos aumentou a massa corporal e reduziu o consumo de água e ração, isso pode ser devido a um melhor controle do estado hiperglicemiante nos ratos diabéticos tratados com o composto. Na avaliação da disfunção endotelial, os resultados obtidos podem ser observados no gráfico 1, onde a resposta contrátil induzida pela fenilefrina foi dependente da concentração aplicada e as respostas foram semelhantes nas artérias aortas torácicas de ratos dos grupos Normog. O relaxamento induzido pela ACh (Gráfico 2) apresentou diferença quando comparados ao grupo Normog. A redução no relaxamento dependente do endotélio induzido pela ACh é considerada como um indicativo de disfunção endotelial vascular (REF), como foi observado no presente estudo, o que sugere o desenvolvimento de alterações estruturais e funcionais do endotélio vascular na aorta de ratos diabéticos. Devido aos seus efeitos antioxidantes o ácido gálico pode ter diminuído a concentração de radicais livres, garantindo um normal funcionamento do endotélio vascular. O relaxamento induzido pelo nitroprussiato de sódio (NPS) observado no Gráfico 3 foi semelhante em artérias aortas torácicas de ratos Normog. Este resultado indica que o relaxamento

independente do endotélio não foi alterado pelo diabetes e nem pelo tratamento, devido ao não envolvimento de fatores endoteliais.

CONCLUSÕES

O ác. gálico não reverteu a hiperglicemia, perda de massa corporal, polifagia, polidipsia e poliúria, contudo foi possível observar que houve a reversão da disfunção endotelial em anéis de aorta de ratos diabéticos induzidos por estreptozotocina.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UFPE e ao CNPq pela oportunidade de desenvolver este projeto, ao professor Almir por disponibilizar o seu laboratório, à doutoranda Samara por ter me ajudado no trabalho.

REFERÊNCIAS

BALAKUMAR, P., & DHANARAJ, S. A. Cardiovascular pleiotropic actions of DPP-4 inhibitors: A step at the cutting edge in understanding their additional therapeutic potentials. *Cellular Signalling*, v. 25, p.1799–1803, 2013.

BAYNES, J. W. Role of oxidative stress in development of complications in diabetes. *Diabetes*, v. 40, n.4, p. 405–412, 1991.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim. Nova*, v.29;1 p.113-123,2006.

COELHO, M.S.; SILVA, D. M. G.V.; PADILHA, M. I. S. Representações sociais do pé diabético para pessoas com diabetes mellitus tipo 2. *Revista da Escola de Enfermagem da USP*, v. 43, p. 65-71, 2009.

DECKER, E.A. Strategies for manipulating the prooxidative/antioxidative balance of food to maximize oxidative stability. *Trends Food Sci Technol*; v.9 (6), p.241-8, 1998.

KAHN, S.E.; HULL, R.L.; UTZSCHNEIDER, K.M. Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature*, v. 444, p. 840–846, 2006.

PUNITHAVATHI V. R.; PRINCE, P. S. M., KUMAR R., SELVAKUMARI, J. Antihyperglycaemic, antilipid peroxidative and antioxidant effects of gallic acid on streptozotocin induced diabetic Wistar rats. *European Journal of Pharmacology*, v. 650, p. 465–471, 2011.