

DIABETE EXPERIMENTAL EM RATOS - REVISÃO SISTEMÁTICA

Cláudia Luísa Ribeiro Ferreira^{1,2}, Renata Amadei Nicolau^{1,2}

¹ Universidade do Vale do Paraíba, Faculdade de Ciências da Saúde, Curso de Odontologia

² Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento, Laboratório de Biomodulação Tecidual.

Av. Shishima Hifumi, 2911, Urbanova, +55 12 39471135

claudia_luferreira@hotmail.com, rani@univap.br

Resumo- O diabetes mellitus consiste em uma desordem metabólica complexa cujos componentes causam vários efeitos diretos e indiretos na cura de feridas. O diabetes é uma das patologias de maior incidência espontânea, mas pode ser experimentalmente induzida pelo uso de drogas diabetogênicas como Estreptozotocina e o Aloxano. Assim, o presente estudo objetivou o levantamento de protocolos de indução do diabetes experimental em ratos. Para tal foram levantados 18 artigos dos últimos 10 anos, nas bases de dados *ISE Web of Science*, *Bireme*, *PubMed*. O agente de indução de diabetes mais empregado (70%) foi a estreptozotocina ($\approx 70\text{mg/kg}$), seguida de aloxano (30%, $\approx 50\text{mg/kg}$). Ambos os agentes hiperglicemiantes, ETZ e ALX, são eficazes na indução de diabetes experimental (246 mg/dL). As vias mais empregadas para a indução são intraperitoneal e intravenosa.

Palavras-chave: estreptozotocina, aloxano, diabetes.

Área do Conhecimento: IV- Ciências da saúde

Introdução

O diabetes mellitus (DM) consiste em uma desordem metabólica complexa (VALERO et al., 2007). O seu aparecimento deve-se à deficiência de insulina dividida à alteração pancreática, em que há uma menor secreção de insulina ou menor ação hormonal nível periférico (SILVA et al., 2002). Há basicamente dois tipos de diabetes: tipo 1 e tipo 2. O DM insulino-dependente (DMID) é também conhecido como diabetes mellitus tipo 1. É uma doença autoimune multifatorial, influenciada por uma combinação de fatores genéticos e ambientais (ROSSINI, 2004). Já o diabetes mellitus tipo 2, que representa cerca de 90% dos casos de diabetes, ocorre mais lento e tardiamente do que o Tipo 1, sendo considerado não insulino dependente (DMNID). Este pode ser desencadeado por vários fatores tais como obesidade, dieta hipercalórica e falta de atividade física.

O diabetes tipo 1 e 2 diferem não só na sintomatologia e tratamento, como também a população que atinge (OLIVEIRA, 2007). O diabetes tipo 1 atinge crianças e adolescentes, já o tipo 2 atinge principalmente a população entre 30 e 69 anos, embora hoje já se observe este quadro também em crianças devido a obesidade e ao sedentarismo infantil (DELAMATER et al., 2001; MARCELINO et al., 2005).

No homem esta doença é espontânea e apresenta alta incidência. Pode ser experimentalmente induzida pelo uso de drogas diabetogênicas como Estreptozotocina (ALWATBAN et al., 2006), Aloxano (DALL-AGNOL et al., 2009), entre outras (CHICARELLI, 2000; ZIMMET et al., 2003).

A Estreptozotocina (EZT) é um agente quimioterápico, utilizado no tratamento de tumores carcinóides e endócrinos do pâncreas. Atua por meio da diminuição da ação da adenina-nicotinamida das células β -pancreáticas, inibindo a síntese de DNA, conseqüentemente, bloqueando de forma irreversível a produção de insulina. A EZT causa grave hiperglicemia, induzindo o DM em animais, semelhante ao diabetes tipo 1 em humanos (CARVALHO et al., 2003).

O Aloxano (ALX) tem sido amplamente utilizado como droga diabetogênica (MACHADO et al., 2009). Os efeitos do ALX são evidentes por destruir especificamente as células β -pancreáticas, quando em doses adequadas. Essa citotoxicidade seletiva do ALX é condicionada pela grande capacidade da célula β -pancreáticas em acumular a droga (SILVA et al., 2002; YADAV et al., 2002).

O DM tem sido associado clinicamente e experimentalmente a um processo cicatricial mais demorado (CHICARELLI, 2000). A condição de diabetes tem sido reportada em vários estudos que abordam reparo tecidual. Esta condição

sistêmica modifica padrões fisiopatológicos do processo de cicatrização (SILVA et al., 2002; AL-WATBAN et al., 2006).

A indução do diabetes experimental é um procedimento que exige elevado nível técnico de experimentação animal. A variação de protocolos existentes na literatura, torna difícil uma padronização nos métodos de indução de diabetes em nível laboratorial, justificando estudos de compilação de dados nesta área. Deste modo o presente estudo objetivou o levantamento de protocolos de indução do diabetes experimental em ratos.

Metodologia

Para tal foram levantados 18 artigos dos últimos 10 anos, nas bases de dados *ISE Web of Science*, Bireme, PubMed. As palavras-chave utilizadas foram: Aloxano, Estreptozotocina, Diabetes. Foram selecionados somente estudos em que o protocolo experimental envolvia ratos (Wistar ou Sprague-Dawley) como modelo animal.

Resultados

A partir da revisão da literatura observou-se que o interesse na área da saúde quanto à investigação do diabetes vem aumentando, tendo como base o número de artigos publicados nos últimos anos (figura 1).

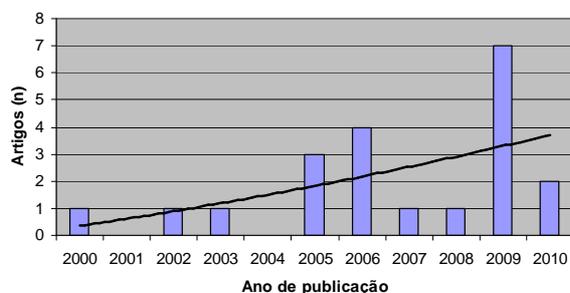


Figura 1- Distribuição temporal dos artigos analisados no estudo, entre os anos de 2000 a 2010. Observa-se tendência ascendente de publicações envolvendo diabetes experimental.

A partir de compilação dos dados foi possível a obtenção de informações protocolares acerca do diabetes induzida (tabela 1). Muitos estudos experimentais (60%) com diabetes induzida têm por objetivo avaliar o reparo tecidual em animais nesta condição sistêmica.

Discussão

A presença do DM leva a um retardo no processo de reparo tecidual (MICHIEL et al., 2001), devido à disfunção dos leucócitos polimorfonucleares, macrófagos e fibroblastos, fase inflamatória mais prolongada e decréscimo na biossíntese de colágeno e glicosaminoglicanas (ALMEIDA et al., 2002). Além do retardo no processo de reparo na DM, observa-se a presença de fatores limitantes como redução dos níveis de pressão de O_2 , da proliferação celular (fibroblastos), da resposta imune (ALMEIDA et al., 2002), deficiência da microcirculação periférica (redução do número de vasos sanguíneos), com conseqüente redução do aporte energético e nutricional (AL-WATBAN et al., 2006; CARVALHO et al., 2006; DALL-AGNOL et al., 2009; AL-WATBAN et al., 2009). Estes dados evidenciam a importância da realização de estudos envolvendo a DM, em nível experimental, visando otimizar o desenvolvimento de terapias que otimizem o processo de reparo tecidual em indivíduos acometidos por esta doença.

A DM experimental tem sido amplamente investigada, porém grande variação dos protocolos de indução podem ser observados. Vários agentes químicos são citotóxicos para as células β -pancreáticas, porém a EZT e o ALX têm sido sistematicamente investigados e amplamente empregados (tabela 1) para induzir diabetes experimental (AL-WATBAN et al., 2006; DALL-AGNOL et al., 2009). Neste estudo de revisão, observou-se que o agente de indução de diabetes mais empregado (70%) foi a EZT ($\approx 70\text{mg/kg}$), seguido do ALX (30%, $\approx 50\text{mg/kg}$), conforme apresentado na tabela 1. As vias de administração para ambas as drogas são intraperitoneal (55,5%) ou intravenosa (44,5%). Ambos os agentes são capazes de elevar a taxa glicêmica para níveis séricos em torno de 246mg/dL , em um tempo médio de 8 dias. Segundo Sato et al. (2006) ambos os agentes diabetogênicos agem sobre as células β -pancreáticas, de forma direta (ALX) ou indireta (EZT) (SATO et al., 2006). A EZT é uma droga que estimula a produção de radicais livres, levando à destruição e disjunção das células β -pancreáticas, bloqueando de forma irreversível a produção de insulina (MACHADO et al., 2009). O ALX é uma toxina que age seletivamente nas células β -pancreáticas, devido à inibição da glicocinase (CARVALHO et al., 2003). Esta droga apresenta instabilidade química, rápida metabolização e influência da idade e da dieta. Estes fatores tornam difícil o estabelecimento da relação dose-concentração efetiva no pâncreas (CHICARELLI, 2000). A ETZ apresenta custo três vezes mais elevado que o ALX.

Tabela 1 – Síntese dos resultados obtidos em estudos envolvendo diabetogênese experimental com vistas à análise do processo de reparo tecidual.

Autores	Ano	Modelo	Droga	Dose (mg/kg)	Via	Veículo (mL)	Nível de glicose (mg/dL)	Tempo indução (dias)
Chicarelli	2000	W	ETZ	35	IV	tampão citrato	NC	7
Almeida et al.	2002	W	ETZ	35	IV	tampão citrato	NC	NC
Reddy et al.	2003	SD	ETZ	65	IP	SSE	300	14
Kopman et al.	2005	SD	ETZ	70	IP	NC	300	NC
Kwon et al.	2005	SD	ETZ	70	IP	NC	300	NC
Maya et al.	2005	W	ALX	80	IP	SSE	200	7
Carvalho et al.	2006	W	ALX	62	IV	SSE	250	5
McCracken et al.	2006	SD	ETZ	60	IP	tampão fosfato	300	NC
Rabelo et al.	2006	W	ETZ	65	IV	tampão citrato	217	15
Al-Watban et al.	2007	SD	ETZ	70	IP	SSE	200	7
Filho et al.	2008	W	ALX	45	IV	SSE	200	6
Abeeleh et al.	2009	SD	ETZ	150	IP	tampão citrato	200	1
Al-Watban et al.	2009	SD	ETZ	70	IP	SSE	200	7
Al-Watban et al.	2009	SD	ETZ	70	IP	SSE	200	7
Dall-Agnol et al.	2009	W	ALX	42	IV	SSE	180	7
Machado et al.	2009	W	ALX	42	IV	NC	NC	NC
Meireles et al.	2009	W	ETZ	60	IP	tampão citrato	350	2
Najarro et al.	2009	W	ETZ	40	IV	tampão citrato	300	NC
Hoyer et al.	2010	SD	ETZ	130	IP	tampão citrato	300	8
Leme et al.	2010	W	ALX	32	IV	tampão citrato	200	8

W- Rato Wistar, SD – rato Sprague-Dawley, EZT- Estreptozotocina, ALX – Aloxano, IV – Intra venosa, IP – Intraperitoneal, SSE - solução salina estéril a 0,94%, NC – Não consta.

Conclusão

Ambos os agentes hiperglicemiantes, ETZ ($\approx 70\text{mg/kg}$) e ALX ($\approx 50\text{mg/kg}$), são eficazes na indução de diabete experimental. As vias mais empregadas para a indução são intraperitoneal e intravenosa.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela bolsa de Iniciação Científica (PIBIC).

Referências

- ABEELEH, M. A.; ISMAIL, Z. B.; ALZABEN, K. R.; ABU-HALAWEH, S. A.; AL-ESSA, M. K.; ABUABEELEH, J.; ALSMADY, M. M. Induction of Diabetes Mellitus in Rats Using Intraperitoneal Streptozotocin: A Comparison between 2 Strains of Rats. **Euro. J. Scie. Res.** v.32. n.3. p.398-402. 2009.
- AL-WATBAN, F. A. H.; BERNARD, L.; ANDRES, R. M. T. Polychromatic LED in Oval Full-Thickness Wound Healing in Non-diabetic and Diabetic Rats. **Photom. Laser Surg.** v.24, n.1, p. 10–16. 2006.
- AL-WATBAN, F. A. H., ZHANG, X. Y.; ANDRES, L. B. Low-Level Laser Therapy Enhances Wound Healing in Diabetic Rats: A Comparison of Different Lasers. **Photom. Laser Surg.** v.25, n.2, p. 72-77. 2007.
- AL-WATBAN, F. A. H. Laser Therapy Converts Diabetic Wound Healing to Normal Healing. **Photom. Laser Surg.** v. 27, n. 1, p. 127-135. 2009a.
- AL-WATBAN, F. A. H. et al. Visible Lasers Were Better Than Invisible Lasers in Accelerating Burn Healing on Diabetic Rats. **Photom. Laser Surg.** v. 27, n.2, p. 269-272. 2009b.
- ALMEIDA, S. M.; FERREIRA, R. I.; BOSCOLO, F. N. Influência da irradiação sobre o conteúdo de colágeno, durante a cicatrização, em ratos diabéticos. **Pesq. Odontol. Bras.** v.16, n.4, p.293-298, 2002.
- CARVALHO, P. T. C.; MAZZER, N.; REIS F. A.; BELCHIOR, A. C. G., SILVA, I. S. Analysis of the influence of low-power HeNe laser on the healing of skin wounds in diabetic and non-diabetic rats. **Acta Cir. Bras.** v. 21, n. 3, p. 177-183. 2006.
- CARVALHO, E. N.; CARVALHO, N. A. S.; FERREIRA, L. M. Experimental model of induction of diabetes mellitus in rats. **Acta Cir. Bras.** v. 18, p. 60-64. 2003.
- CHICARELLI, M. Reparação tecidual em ratos diabéticos submetidos a baixas doses de radiação de elétrons em corpo todo. Dissertação de Mestrado em Radiologia Odontológica. Unicamp/Pi - Universidade Estadual de Campinas/Piracicaba (SP). 111p. 2000.
- DALL-AGNOL, M. A. D.; NICOLAU, R. A.; LIMA C.J.; MUNIN E. Comparative analysis of coherent light action (laser) versus non-coherent light (light emitting diode) for tissue repair in diabetic rats. **Lasers Med. Sci.** v.24, p.909–916, 2009.
- DELAMATER, A. M.; JACOBSON, A. M.; ANDERSON, R. B.; COX, D.; FISCHER, L.; LUSTMAN, P.; RUBIN, R.; WISOCKI, T. Psychosocial therapies in diabetes. **Diabetes Care**, v. 24, p. 1286-1292, 2001.
- HOYER, D. P.; KORKMAZ, Y.; GRÖNKE, S.; ADDICKS, K.; WETTSCHURECK, N.; OFFERMANN, S.; REUTER, H. Differential expression of protein kinase C isoforms in coronary arteries of diabetic mice lacking the G-protein Ga11. **Cardiovascular Diabetol.** v. 9. p. 93-10. 2010.
- LEME, J. A. C. A.; CASTELLAR, A.; REMEDIO, R. N.; BARBOSA, R. A.; MOURA, L. P.; DALIA, R. A.; GOMES, R. J.; CAETANO, F. H.; MELLO, M. A. R.; LUCIANO E. Effects in short-term of alloxan application to diabetes induction in wistar rats. **Biosci. J.** v. 26. n. 3. p. 451-456. 2010.
- MACHADO, J. L. M.; ORTOLANI E. V. P.; SPADELLA C. T. Anastomotic healing in ileum and colon of alloxan-induced diabetic rats. **Acta Cir. Bras.** v. 24, n.1. 2009.
- MAIYA, G. A.; PRAMOD, K.; RAO L. Effect of Low Intensity Helium-Neon (He-Ne) Laser Irradiation on Diabetic Wound Healing Dynamics. **Photom. Laser Surg.** v. 23, n. 2, p. 187-190. 2005.
- MARCELINO, D. B.; CARVALHO, M. D. B. Reflexões sobre o Diabetes Tipo 1 e sua Relação com o Emocional. **Psicol. Reflex. Crit.** v.18, n.1, p.72-77, 2005.
- OLIVEIRA, C. A. M. Modulação do metabolismo muscular de Glicose e proteínas pelo exercício em ratos Diabéticos. Tese de Doutorado em Ciências da Motricidade, Instituto de Biociências do Campus de Rio Claro, Universidade Estadual Paulista. p.154. 2007.
- RABELO, S. B.; VILLAVERDE, A. G. J. B.; NICOLAU, R. A.; SALGADO, M. A. C; MELO, M. S; PACHECO, M. T. T. Comparison between the wound healing at induced diabetic and non diabetic rats after LLLT. **J. Clin Laser Med. Surg.** v.24, p.474 - 479, 2006.
- REDDY, G. K. Comparison of the photostimulatory effects of visible He-Ne and infrared Ga-As lasers on healing impaired diabetic rat wounds. **Lasers Surg. Med.** v. 33, n. 5, p. 344-351. 2003.

XVINIC

Encontro Latino Americano
de Iniciação Científica

XI EPG

Encontro Latino Americano
de Pós Graduação

VINIC Jr

Encontro Latino Americano
de Iniciação Científica Júnior

- SATO, K. L.; MIGLIACCIO, V.; CARMO, J. M.; OLIVETI, M. C. D. B. B; FERREIRA, R. S.; FAZAN, V. P. S. Diabete como modelo de neuropatia autonômica. **Med.** v. 39, n.1, p. 28-38. 2006.

- SILVA F. R. M. B.; SZPOGANICZ B.; PIZZOLATTI M. G.; WILLRICH M. A. V.; SOUSA E. Acute effect of Bauhinia forficata on serum glucose levels in normal and alloxan-induced diabetic rats. **J. Ethnopharmacol.** v. 83, p. 33-37, 2002.

- ZIMMET P.; SHAW J.; K. G. M. M. ALBERTI. Preventing type 2 diabetes and the dysmetabolic syndrome in the real world: a realistic view. **Diabetic Med.** v. 20. p. 693–702. 2003.