

Avaliação da Proteína C reativa ultrassensível em ratos diabéticos tratados com Resveratrol

Kamila Almeida de Castro

Eliene da Silva Martins Viana

Departamento de Nutrição. Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde - UNIVICOSA, Viçosa, MG, Brasil.

E-mails: kamilaadecastro@gmail.com
elieneavs@yahoo.com.br

Recebido em: 21 jun. 2017. Revisado: 1 nov.2017. Aceito: 22 nov. 2017.

DOI: <http://dx.doi.org/10.21674/2448-0479.41.3-16>

Resumo

Pesquisas têm demonstrado o importante papel do resveratrol, na prevenção de doenças, principalmente aquelas ligadas ao sistema cardiovascular. Este estudo teve como objetivo a avaliação da ação do resveratrol sobre a Proteína C reativa Ultrassensível e a variação da glicemia em ratos diabéticos. No estudo foram utilizados 24 ratos machos, Wistar, adultos e divididos em 4 grupos: 1: Controle: Animais saudáveis, sem nenhum tratamento especial; 2: Animais diabéticos não tratados; 3: Animais diabéticos tratados com hipoglicemiante (Glibenclamida) e 4: Animais diabéticos tratados com Resveratrol. Observou-se que o grupo de animais diabéticos não tratados apresentou uma perda de peso 41,90% em relação ao seu peso inicial. Embora os níveis glicêmicos dos animais tratados com resveratrol não terem diminuído na mesma proporção que o grupo tratado com glibenclamida, representou, ao final do experimento, uma redu-

ção positiva da PCR-us. Como os estudos ainda são escassos na literatura, relacionando a ação do resveratrol sobre a PCR-us, faz-se necessário mais pesquisas.

Palavras-chave: Cardiovascular. Flavonoide. Hiperglicemia.

Abstract

Evaluation of Ultra Sensitive C Reactive Protein in Diabetic Rats Trated with Resveratrol

Studies have demonstrated the important role of resveratrol, in the prevention of diseases, particularly those related to the cardiovascular system. This study aimed to evaluate the action of resveratrol on the CRP and the variation of blood glucose in diabetic rats. For the study, 24 Wistar rats, adults and divided into 4 groups: 1: Control: Healthy animals without any special treatment; 2: untreated diabetic animals; 3: treated diabetic hypoglycemic agent (glibenclamide) and 4: diabetic animals treated with resveratrol. It was observed that the group of untreated diabetic animals showed a weight loss of 41.90% in relation to its initial weight. Although the glucose levels of the animals treated with resveratrol have not decreased in proportion to the group treated with glibenclamida represented at the end of the experiment, a positive reduction in PCR-us. Since studies are still scarce in the literature relating the action of resveratrol on the PCR-us, it is necessary to further research.

Keywords: Cardiovascular. Flavonoi. Hyperglycemia.

Introdução

Diabetes é um grupo de doenças metabólicas caracterizadas por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, na ação da insulina, ou ambos. Os sintomas de hiperglicemia acentuada incluem poliúria, polidipsia, perda de peso, por vezes com polifagia, e visão turva (ADA, 2010; WHO, 2011).

Os principais medicamentos utilizados para o tratamento do diabetes tipo 2 são os hipoglicemiantes orais. Estes medicamentos são extremamente eficazes no controle da glicemia (CALISTA, 2013). Uma das classes mais utilizadas são as sulfonilureias de segunda geração, como a glibenclamida. Estas drogas agem ligando-se aos receptores das células beta do pâncreas, bloqueando os canais de K⁺ sensível ao Trifosfato de Adenosina, estimulando assim a secreção de insulina e, conseqüentemente, levando a um aumento da captação de glicose nos músculos e no tecido adiposo, normalizando assim a concentração de glicose no sangue (RISPAR, 2015).

Prejuízo ao crescimento, susceptibilidade a certas infecções e alterações vasculares também podem acompanhar hiperglicemia crônica (ADA, 2010; WHO, 2011). Essas alterações vasculares podem ser micro, principal causa de morte em pacientes com o tipo 1, e macro, principal causa em pacientes com o tipo 2. O comprometimento macrovascular é uma forma acelerada da aterosclerose, sendo responsável pela alta incidência de doenças cardiovasculares, que são responsáveis pelos maiores índices de mortalidade nessa população (VIANA, 2012).

Um excelente marcador é a proteína C Reativa ultrassensível (PCR-us), que é uma das proteínas de fase aguda mais sensí-

veis, cuja concentração aumenta significativamente durante uma inflamação aguda (SANTOS et al., 2008). A PCR-us é produzida no fígado, em resposta ao estímulo das citocinas inflamatórias. Sua dosagem vem sendo utilizada, desde a década de 1970, para diagnóstico de estados inflamatórios e infecções. Estudos epidemiológicos têm documentado que discretas elevações das concentrações de PCR, mesmo dentro da faixa de referência, podem prever o aparecimento de doenças cardiovasculares (SOBRINHO, 2013).

A preocupação com uma alimentação saudável ocasiona a busca por alimentos que ofereçam propriedades que vão além de nutrir, mas também proteger o organismo de enfermidades. Nesse contexto algumas pesquisas têm demonstrado o importante papel do resveratrol, na prevenção de doenças, principalmente aquelas ligadas ao sistema cardiovascular (FREITAS et al., 2010).

O resveratrol (3,4,5-tri-hidroxiestilbeno) é uma fitoalexina presente numa grande variedade de espécies vegetais, incluindo uva, amoras, amendoins. Este composto é produzido nos vegetais em resposta ao ataque de patógenos, à radiação ultravioleta e à exposição ao ozônio. A uva sintetiza o resveratrol (figura 1) como meio de proteção às infecções fúngicas, sendo, portanto, encontrado em altas concentrações no vinho (NEMEN; LEMOS SENNA, 2011).

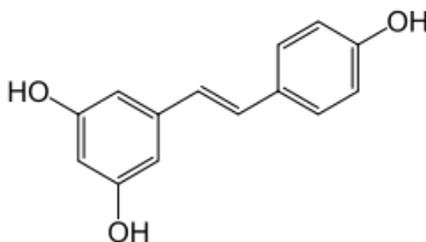


Figura 1 - Estrutura química do Resveratrol.

O resveratrol tem chamado a atenção por possuir propriedades bioquímicas e fisiológicas como ações estrogênicas, antiplaquetária, antioxidante, antitumorais e anti-inflamatória. Em determinadas concentrações podem prover proteção contra doenças como aterosclerose, arritmias ventriculares e isquemia cerebral (DALL; ARCHELA, 2014). Este estudo teve como objetivo a avaliação da ação do resveratrol sobre a PCR-us e a variação da glicemia em ratos diabéticos.

Materiais e Métodos

No estudo foram utilizados 24 ratos machos, Wistar, adultos, provenientes do biotério da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais. O experimento foi realizado no laboratório de Nutrição Experimental Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde – FACISA/UNIVIÇOSA.

O estudo foi inicialmente encaminhado e aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da FACISA/ UNIVIÇOSA atendendo as resoluções do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV) e todos os procedimentos foram supervisionados por profissionais Médicos Veterinários, protocolo 062/2014-II.

Os animais foram agrupados em caixas de polipropileno com assoalho contendo maravalha e mantidos em ambiente com temperatura controlada (22° - 24°C). Sendo a luminosidade controlada em ciclo de 12 horas com luz e 12 horas de escuro. Receberam água e ração comercial (Labina®), *ad libitum*.

Os animais foram divididos em quatro grupos, cada grupo contendo seis ratos:

- Grupo 1: Controle positivo: Animais saudáveis, sem nenhum tratamento especial;
- Grupo 2: Controle negativo: Animais diabéticos não tratados;
- Grupo 3: Animais diabéticos tratados com resveratrol;
- Grupo 4: Animais diabéticos tratados com hipoglicemiante (Glibenclamida).

O diabetes foi induzido nos animais dos grupos 2, 3 e 4 após um período de jejum de 12 horas, por meio de injeção única intraperitoneal de Estreptozotocina (STZ), 55mg/Kg, diluída em tampão de citrato de sódio (0.01M, pH 4,5) e injetada 10 minutos após a diluição (DIAS, 2001).

Decorridas 24 horas após a administração da STZ, foi avaliado se houve indução do diabetes, por meio da glicemia em amostra de sangue colhida de veia caudal, com glicosímetro marca *Optimum xceed*. Foram considerados diabéticos os animais que apresentaram glicose sanguínea igual ou superior a 250 mg/dL. Os níveis de glicose foram avaliados 48 horas após a indução e, posteriormente, a cada sete dias, até o final do experimento (DIAS, 2001).

Os animais dos grupos 3 e 4 receberam o resveratrol e a glibenclamida, respectivamente, por 31 dias consecutivos diariamente às 8 horas da manhã, foram administradas com o auxílio de uma cânula orogástrica (gavagem). O resveratrol em uma concentração de 30 mg/Kg/dia, enquanto a glibenclamida a uma concentração de 10 mg/Kg/dia. Os animais foram pesados em balança digital no primeiro e no último dia de tratamento e observado a variação do peso.

Ao final do experimento no 31º dia, os animais foram anestesiados com tiopental sódico (Thiopentax®), na dose de 60 mg/Kg, por via intraperitoneal e, posteriormente, coletadas as amostras

obtidas dos animais anestesiados por meio da coleta de sangue da veia cava inferior. Foi obtido o sangue e posteriormente adicionado EDTA e anticoagulante. Foram colocadas em tubos de ensaio, e o sem anticoagulante foi submetido à centrifugação de 3500 rpm para obtenção do soro.

As seguintes análises foram realizadas: glicose e dosagem de PCR-us, através dos Kits comerciais Labtest®, no laboratório do hospital médico veterinário da Faculdade de Ciências Biológicas e da Saúde-FACISA.

Após a coleta das amostras sanguíneas os animais foram eutanasiados e encaminhados para o setor responsável pelo descarte das carcaças.

Resultados e Discussão

A elevação da glicose com a administração de Streptozotocina (STZ) nos ratos se mostrou eficaz (tabela 1), já que foram considerados diabéticos os animais com glicose sanguínea igual ou superior a 250 mg/dL.

Tabela 1 - Níveis médios de glicose dos grupos de animais.

Grupos	Glicose Inicial (mg/dL)	Glicose após indução (mg/dL)
G1	106,33	106,0
G2	104,4	298,6
G3	104,9	299,1
G4	108,7	299,2

G1: Normal; G2: Diabéticos não tratados; G3: Diabéticos tratados com Resveratrol; G4: Diabéticos tratados com Glibenclamida.

A STZ é uma droga que atua induzindo diretamente a morte das células beta pancreáticas que, quando administrada em animais saudáveis, causa uma grave deficiência de liberação da insulina e o diabetes se desenvolve em um ou dois dias (DIAS, 2005).

Em seu estudo Sato et al. (2006) observou que a administração de STZ em animais demonstrou-se eficaz no que diz respeito à hiperglicemia e também a parâmetros, como níveis normais de corpos cetônicos, ácidos graxos livres plasmáticos e níveis normais glicolíticos, glicogênio e citrato, concluindo assim, que a substância dificilmente ocasionará outros problemas agravantes, ao contrário de outras substâncias que já foram estudadas para induzir o diabetes, em que, além de provocar uma hiperglicemia, ocasionaram um certo grau de toxicidade.

Com relação ao peso, os animais foram avaliados no início e término do experimento (Tabela 2). Observou-se que o grupo de animais diabéticos não tratados apresentou uma perda de peso de 41,90% em relação ao seu peso inicial, o grupo tratado com Resveratrol uma perda de 8,15% e o grupo tratado com Glibenclamida 4,83%. O grupo controle positivo teve uma elevação de 107,5% com relação ao peso inicial.

Tabela 2 - Média da evolução de peso dos animais durante o experimento.

Animais	Peso inicial (g)	Peso final (g)
G1	278,0	299,0
G2	249,0	144,66
G3	278,0	255,33
G4	275,66	255,33

G1: Normais; G2: Diabéticos não tratado; G3: Diabéticos tratados com Resveratrol, G4: Diabéticos tratados com Glibenclamida.

Em estudo realizado em ratos por Dias (2005), com o uso de um composto da classe dos flavonoides, após oito semanas de experimentos, também se observou que o peso corporal dos animais

diabéticos reduziu significativamente em relação ao grupo controle, em torno de 28,1%, com nível de significância de $p < 0,05$. Resultados este diferente do encontrado no presente estudo.

Guerra et AL. (2011) em seu estudo observaram que os animais diabéticos apresentaram menor peso corporal. Essa perda de peso é característico do quadro de diabetes e deve-se, principalmente, ao estado catabólico instalado, decorrente da maior ação dos hormônios contra regulatórios (NELSON; COX, 2006).

Os níveis de glicose obtidos neste estudo (Figura 1) em relação ao efeito do resveratrol foram positivos, com glicose inicial de 299,1 mg/dL e glicose final de 260,2mg/dL. O grupo tratado com glibenclamida apresentou glicose inicial de 299,2 mg/dL e glicose final de 225,3 mg/dL. Embora os níveis glicêmicos dos animais tratados com resveratrol, com redução de 13%, não terem reduzido na mesma proporção que o grupo tratado com glibenclamida, com redução de 24,7%, representou, ao final do experimento, uma redução dos níveis positiva.

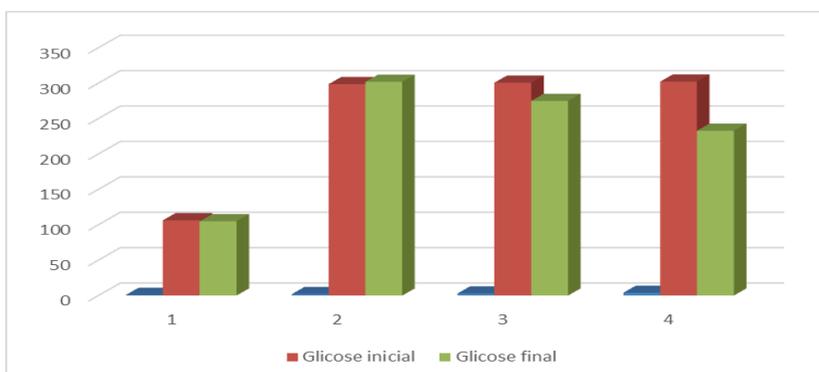


Figura 1 - Relação da glicemia dos grupos de acordo com o tratamento. G1: Normais; G2: Diabéticos não tratado; G3: Diabéticos tratados com Resveratrol, G4: Diabéticos tratados com Glibenclamida.

Kamalakkannan e Prince (2006) realizaram estudo com ratos com diabetes induzido por estreptozotocina tratados com rutina em diferentes doses, e observaram redução das concentrações séricas de glicose com melhor controle da hiperglicemia do que nos animais diabéticos. Além de aumentar os níveis de insulina, de peptídeo-C e proteger os animais com diabetes induzido da peroxidação lipídica. Ratos diabéticos tratados com rutina em 100 mg/Kg tiveram níveis de hemoglobina glicosilada diminuída, aumento das proteínas totais, aumento dos níveis de antioxidantes não enzimáticos (GSH, Vitamina C, Vitamina E e Ceruloplasmina) atribuídos ao fato que estresse oxidativo em diabetes coexiste com a diminuição de antioxidantes. Desta forma pode aumentar o efeito deletério dos radicais livres, sendo esse fenômeno possivelmente causado pelo declínio da atividade de enzimas antioxidantes, fator para controle da geração dos mesmos (KAMALAKKANNAN; PRINCE, 2006).

No presente estudo, verificou-se que os níveis de PCR-us foram elevados em 164,5% com relação a PCR-us inicial no G2 (ratos diabéticos não tratados), a PCR-us inicial foi de 0,048 e PCR-us final de 0,079. Apresentou níveis da proteína aumentados quando comparado aos outros grupos. A média do grupo 3 (tratados com resveratrol) foi de 0,05mg/dL de PCR-us e grupo 4 (tratados com Glibenclamida) de 0,06 mg/dL (Figura 2).

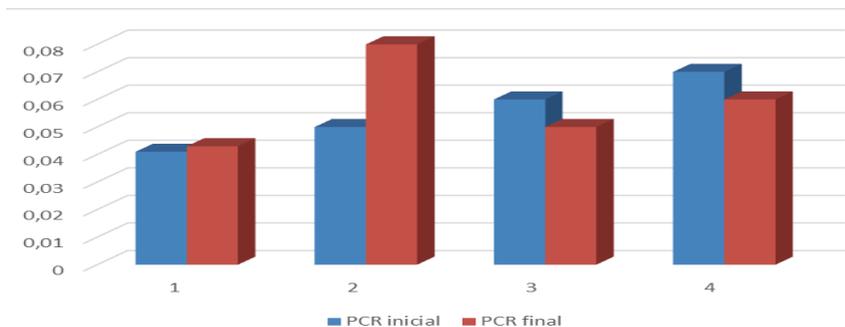


Figura 2 - Níveis médios de PCR-us dos animais de acordo com o tratamento. G1: Normais; G2: Diabéticos não tratado; G3: Diabéticos tratados com Resveratrol, G4: Diabéticos tratados com Glibenclamida.

Considerações finais

O flavonoide resveratrol apresentou resultados positivos com relação a redução da glicose e quanto a proteína C reativa ultrasensível (PCR-us). Com uma discreta redução dos níveis da PCR-us sugere-se que o resveratrol pode ser um fator protetor contra a ocorrência de aterogênese nos animais diabéticos. Porém seria necessário um período de tratamento maior que 31 dias para um resultado significativo. Como os estudos ainda são escassos na literatura, relacionando a ação do resveratrol sobre a PCR-us, faz-se necessário mais pesquisas.

Referências

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. **Diabetes Care**. v.33, p.62-69, 2010.

CALISTA, A. A. **Conduta terapêutica para o tratamento do diabetes Mellitus tipo 2: uma revisão de literatura**. [S.l.: s.n.], 2013.

DALL, L.; ARCHELA, E. Determinação de Compostos Fenólicos em Vinho: Uma revisão. **Semina: Ciências Exatas e Tecnológicas**, v.34, n.2, p.193-210, 2014.

DIAS, A. S. **Avaliação do estresse oxidativo e do fluxo sanguíneo na artéria mesentérica de ratos diabéticos por indução de estreptozotocina**. 90 p. Trabalho de Conclusão de Curso. (Especialização) Pós-Graduação em Ciências Biológicas, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2001.

DIAS, A. S. **O antioxidante quercertina diminui o estresse oxidativo hepático em ratos diabéticos**. 111 p. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2005.

FREITAS, A.; DETONI, A.; OLIVEIRA, C. Determinação de resveratrol e características químicas em sucos de uvas produzidas em sistemas orgânico e convencional. **Revista Ceres**, v.57, n.1, p.1-5, 2010.

GUERRA, J.F.C. **Polpa de açaí modula a produção de espécies reativas de oxigênio por neutrófilos e a expressão gênica de enzimas antioxidantes em tecidos hepáticos de ratos**. 77 p. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Ouro Preto, 2011.

KAMALAKKANNAN, N.; PRINCE., P. S. M. Antihyperglycaemic and antioxidant effect of rutin, a polyphenolic flavonoid, in streptozotocin-induced diabetic wistar rats. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**. v.98, p.97-103, 2006.

MONTEIRO, R.; SOARES, R.; GUERREIRO, S.; PESTANA, D. Ride wines increases adipose tissue aromatase expression and regulates body weight and adipocyte size. **Nutrition**, v.25, p.699-705, 2009.

NELSON, D.L.; COX, M.M. Integração e Regulação do Metabolismo dos Mamíferos. In: **Lehninger**: Princípios de Bioquímica. n.22, p.552-587, 2006.

NEMEN, D.; LEMOS-SENNA, E. Preparação e caracterização de suspensões coloidais de nanocarreadores lipídicos contendo resveratrol destinados à administração cutânea. **Química Nova**, v.34, n.3, p.408-413, 2011.

PENNA, N.; HECKTHEUER L. Vinho e Saúde: uma revisão. **Infar-ma**, v.16, n.2, p.64-67, 2004.

RISPAR, P.; DE OLIVEIRA, A. L. Influência da amitriptilina sobre o efeito hipoglicemiante da glibenclamida. **SaBios-Revista de Saúde e Biologia**, v. 10, n. 2, p. 21-26, 2015.

SANTOS, M.; PEGORARO M.; SANDRINI F. Fatores de risco no desenvolvimento da aterosclerose na infância e adolescência. **Arq Bras Cardiol**, v.90, n.4, p.301-308. 2008.

SATO, K. L. et al. Diabetes como modelo de neuropatia autonômica. **Med**, v.39, n.1, p.28-38. 2006.

SOBRINHO, C. A. A. **Proteína C-reativa, aptidão cardiorrespiratória e atividade física em adolescentes de 12 a 18 anos**. Dissertação. Mestre em atividade física e saúde, Universidade do Porto, 2013.

VIANA, M.; RODRIGUEZ, T. Complicações cardiovasculares e renais no diabetes mellitus. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v.10, n.3, p.290-296, 2012.

WORLD HEALTH ORGANIZATION. **Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in diagnosis of diabetes mellitus**. Geneva: WHO, 2011.