

EFEITOS DE UMA NOVA TIAZOLIDINADIONA, GQ-130, NA SÍNDROME METABÓLICA

Fabiano Ferreira de Santana¹ ; Glória Isolina Boente Pinto Duarte²

¹Estudante do Curso de Medicina - CCS – UFPE; E-mail: fabiano.f.s@hotmail.com, ²Docente/pesquisadora do Depto de Fisiologia e Farmacologia – CCB – UFPE. E-mail: duarte.gloria@gmail.com.

Sumário: A síndrome metabólica (SM) é uma entidade complexa que associa obesidade, resistência à insulina, hipertensão arterial, dislipidemia aterogênica e intolerância à glicose, sendo uma das maiores causas de doenças cardiovasculares. Neste trabalho, nós investigamos os efeitos de um novo derivado tiazolidinadiona (GQ-130) na SM. Para isto, ratos espontaneamente hipertensos (SHR) receberam dieta hiperlipídica (DH, 57,8% de gordura) durante 14 semanas a partir de dois meses de idade. A pioglitazona (PIO) foi utilizada como padrão positivo. A DH não alterou os níveis pressóricos, entretanto a análise histomorfométrica das aortas torácicas mostrou que ao final das 14 semanas de consumo da DH, houve um aumento significativo ($p < 0,001$) da espessura da camada íntima e média em relação ao grupo controle. Após o tratamento com as TZD foi observado uma diminuição significativa ($p < 0,01$) da espessura das camadas íntima e média da artéria aorta. Estes dados são indicadores de que o tratamento com a GQ-130 pode melhorar o risco cardiovascular na SM. Novos experimentos estão sendo executados para compreender melhor os dados encontrados.

Palavras-chave: dieta hiperlipídica; ratos espontaneamente hipertensos (SHR); síndrome metabólica

INTRODUÇÃO

A associação entre obesidade, hipertensão arterial, hiperglicemia, dislipidemia e resistência a insulina (RI), é estudada desde a década de 80 (Reaven, 1988). Vários estudos demonstram que a obesidade pode estar associada ao aumento do risco de doenças coronarianas, diabetes mellitus (DM), disfunção endotelial e hipertensão arterial (Davel et al., 2011; Defronzo e Ferrannini, 1991; Duarte, 2006; Manson et al., 1995). Entretanto, os mecanismos que confirmam essa relação ainda não estão bem esclarecidos (Kratz et al., 2013; Wang et al., 2003). Modelos experimentais utilizando DH têm sido utilizados para mimetizar os efeitos da obesidade e SM (Férezou-Viala et al., 2007; Can et al., 2012) que tornou-se um grave problema de saúde pública (WHO, 2010). A busca por alternativas farmacológicas para a melhora deste quadro, que é claramente associado a RI, é constante. As tiazolidinadiona (TZDs), uma das poucas classes farmacológica que agem como sensibilizadores de insulina, atuam através dos receptores nucleares PPAR γ (Peroxisome Proliferator-Activated Receptor gamma) que exercem um papel importante no balanceamento energético e hormonal, atuando principalmente no metabolismo de lipídios e glicose (Willson et al., 2001). Dentre os fármacos insulino sensibilizadores, a pioglitazona, uma TZD, é a mais utilizada clinicamente. Este fármaco parece ter benefícios importantes como o controle da glicemia em portadores do DM 2, redução da pressão arterial e atenuação do quadro inflamatório (Chinetti-Gbaughidi et al., 2005; Schwabl et al., 2014). Entretanto, o uso de TZDs no tratamento do DM 2 está relacionado ao desenvolvimento de doenças coronarianas (Ziyadeh et al., 2009), declínio da função renal (Feldman et al., 2010), cardiomiopatias (Saraogi et al., 2011) e infarto do miocárdio (Bell

et al., 2013), o que justifica uma busca por fármacos com menos efeitos colaterais. Neste trabalho foi induzida a SM em SHR, através da ingestão de uma DH, verificando-se os efeitos do derivado tiazolidínico, GQ-130.

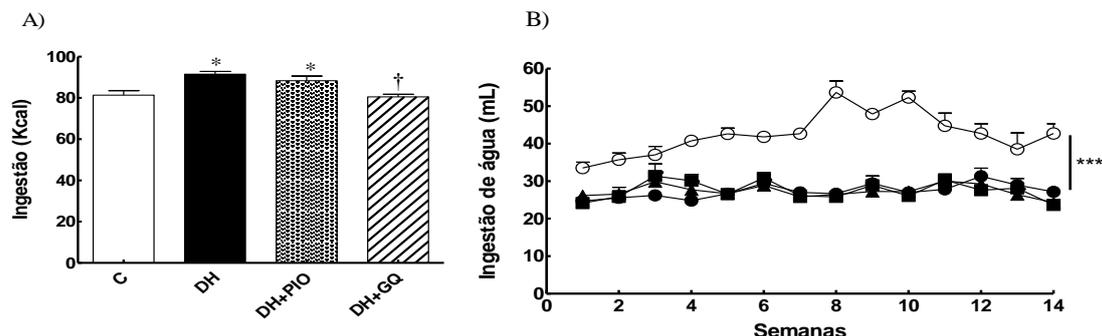
MATERIAIS E MÉTODOS

O 5-(4-chloro-benzidilene)-3-(2,4-diclorobenzil)-thiazolidina-2,4-diona (nomeado GQ-130) foi sintetizado segundo Vasconcelos (2006) e fornecido pelo LPSF do Departamento de Antibióticos. Foram utilizados SHR machos com dois meses de idade, mantidos em condições controladas de temperatura ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), luminosidade (ciclo claro-escuro de 12 horas) e umidade (60%) com água e ração *ad libitum*. Os protocolos foram realizados obedecendo as normas preconizadas pela Sociedade Brasileira de Experimentação Animal e aprovados pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (Processo: nº 23076.024631/2011-05). Os animais foram divididos em dois grupos: Grupo controle (C) que recebeu dieta padrão (dieta Labina[®]) e Grupo DH que recebeu dieta hiperlipídica durante 14 semanas. A DH foi oferecida aos animais sob a forma de pellet. No início da 13^a semana com a DH, os animais foram subdivididos em três grupos: i) DH com veículo (DH); ii) grupo tratado com a pioglitazona (DH+PIO; 10 mg/kg/dia) por via oral (v.o) durante 15 dias; iii) grupo tratado com a GQ-130 (DH+GQ ; 20 mg/kg/dia) durante o mesmo período. Os animais do grupo C receberam o veículo Tween 20. Todos os animais foram anestesiados com pentobarbital sódico (50 mg/kg, i.p.) e um cateter foi introduzido na artéria femoral esquerda até a aorta abdominal. O cateter foi exteriorizado dorsalmente, em nível da nuca (LAHLOU et al, 1998). Após 24 h da cirurgia, o cateter foi conectado a um transdutor de pressão acoplado a um sistema de aquisição de dados para medida da pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC). A PAM foi calculada utilizando-se a equação: $PAM = PAD + [(PAS - PAD)/3]$. Ao final dos experimentos, os corações e rins foram excisados. Os átrios foram ablados e os ventrículos e os rins foram pesados para avaliação do peso úmido, logo depois foram secos em estufa a 70°C durante 48 horas e repesados para avaliação do peso seco. O índice de atrofia/ hipertrofia cardíaca e renal foram calculados (SILVA et al. 2001). As aortas torácicas foram mergulhadas em uma solução de formol a 10% neutro tamponado, durante 24 horas e posteriormente, desidratadas em álcool etílico em concentrações crescentes, diafanizadas pelo xilol, impregnadas e incluídas em parafina. Para cada fragmento do órgão, foram confeccionados cortes semi-seriados com espessura $4\mu\text{m}$, colocados em lâminas e mantidas em estufa à 37°C por 24 h. Os cortes foram submetidos à técnica de coloração pela H-E para a avaliação histomorfológica preliminar e para a análise histomorfométrica. Fotomicrografias foram avaliadas através do software ImageJ versão 1.44 para determinação da espessura média das camadas íntima e média das artérias. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média (e.p.m.). Para a análise dos resultados foram utilizados o teste t-Student pareado e não-pareado. As diferenças foram consideradas estatisticamente significativas quando $p < 0,05$.

RESULTADOS

Os animais que receberam DH durante 14 semanas, tiveram uma ingestão (em gramas) significativamente reduzida ($p < 0,05$) quando comparada com aqueles que receberam dieta C. Entretanto, a ingestão calórica foi maior no grupo DH (Figuras 1 A e 1B). A introdução do tratamento com GQ-130 ou PIO, não modificou a ingestão do grupo controle (dados não mostrados). Porém, reduziu em 14% a ingestão do grupos tratado com PIO e 11% no grupo GQ-130. Ainda, ocorreu redução de 14% da ingestão hídrica para o grupo DH e 17% para o grupo PIO (Figura 1B).

Figura 1



Ingestão calórica (A) e hídrica (B) a partir de 2 meses de idade durante 14 semanas. Grupo controle expostos à dieta padrão ou chow (C) (○) dieta hiperlipídica (DH) (●); DH tratado com pioglitazona (10 mg/kg) (DH+PIO) (▲); DH tratado com LPSF/GQ-130 (20 mg/kg) (DH+GQ) (■). Os valores são expressos como média ± e.p.m; n= 6-8 animais; *p< 0,05, **p< 0,01; ***p< 0,001 ; † p < 0,05.

Os valores de pressão arterial sistólica (PAS), pressão arterial diastólica (PAD), pressão arterial média (PAM) e frequência cardíaca (FC), foram similares entre os grupos.

	C	DH	DH + PIO	DH + GQ
PAS	209,1± 7,0	191,7± 1,6	190,6± 4,4	195,5± 5,7
PAD	167,9± 7,2	155± 2,4	155,1± 5,1	152,5± 8,3
PAM	181,9± 7,3	167,2± 1,6	166,9± 4,5	167,7± 5,8
FC	355,6± 11,8	394,5± 18	367,1±9,2	368,9± 4,4

Animais expostos à dieta padrão (C), dieta hiperlipídica (DH), DH tratado com LPSF/GQ-130 (20 mg/kg) (DH+GQ), DH tratado com PIO (10 mg/kg) (DH+PIO). Os valores são expressos como média ± e.p.m; n= 5 animais por grupo.

O peso relativo dos rins foi significativamente ($p < 0,05$) menor no grupo HL do que o grupo C (dados não mostrado). O resultado da análise histomorfométrica e microscópica das aortas torácicas mostraram que houve um aumento significativo ($p < 0,001$) da espessura da camada íntima e média do grupo DH em relação ao grupo C ($142,9 \pm 0,5$ vs $121,0 \pm 0,9$). O tratamento com o GQ-130, nas duas últimas semanas de exposição à DH, foi capaz de reduzir esse espessamento. Resultados semelhantes foram encontrados para o tratamento com PIO. No grupo DH, o tratamento com as TZDs reduziu significativamente ($p < 0,001$) a espessura da camada íntima e média quando comparados ao grupo C. O tratamento com o GQ-130 atenuou as alterações morfológicas causadas pelo consumo da DH.

DISCUSSÃO

Diets hiperlipídicas são amplamente utilizadas para a reprodução de modelos experimentais de obesidade e SM (Write et al., 2013; Can et al., 2012; Campos et al., 2012). Neste trabalho foi utilizado um modelo experimental de SM induzida por dieta rica em lipídeos e pobre em carboidratos. Em nosso modelo experimental, apesar da ingestão (em

g) de DH ser inferior ao consumo da dieta C, a ingestão foi hipercalórica justificando o aumento de peso e a adiposidade observada nestes animais. O tratamento com o GQ-130 reduziu a ingestão de DH e o aumento de peso corporal (Figura 2). Isto pode ser atribuído à ação da colecistocinina, liberada pelo trato gastrointestinal em resposta à presença de gordura e proteína, estimulando a sinalização para a saciedade (Schaffhauser et al., 2002). Apesar de não apresentarem agravamento da hipertrofia cardíaca observada em SHR, a DH produziu atrofia renal. Outros autores demonstraram que DH promove extenso dano renal oriundo de processos inflamatórios e apoptóticos (Griffin et al., 2008). O tratamento com o GQ-130 diminuiu o ganho final de peso corporal, possivelmente devido ao fato de agonistas parciais do PPAR γ aumentarem a expressão de proteínas desacopladoras (UCPs) no tecido adiposo, um mecanismo de proteção celular frente ao metabolismo aumentado de substratos lipídicos e da estocagem excessiva de gordura (Amato et al., 2012). A DH não alterou os níveis pressóricos dos animais e o tratamento com as TZDs também não exerceu influência sobre estes parâmetros. Achados científicos que relacionam a ingestão de dieta hipercalórica e/ou hiperlipídica à obesidade e a alterações na pressão arterial, em modelos animais, apresentam discrepâncias metodológicas o que dificultam um consenso nessa área (Contreras e Williams, 1989; Zhang et al., 1994; Silvio et al., 2009). A redução da espessura das camadas íntima e média pelo uso de TDZs pode ser associada a modulação da resposta inflamatória reduzindo ou suprimindo os níveis circulantes e/ou ações de fatores oriundos do tecido adiposo que desencadeiam insulino-resistência (Stefan et al., 2001), o que é proporcionados por agonistas do PPAR γ que contribuem para melhora da disfunção endotelial observada na SM.

CONCLUSÕES

O presente trabalho mostra que o consumo desta DH aumenta o peso corporal de SHRs, mimetizando a SM observada em humanos. O novo derivado tiazolidínico, GQ-130, é um candidato promissor para o tratamento de distúrbios relacionados a SM, podendo melhorar a resposta vascular. Novos ensaios estão sendo realizados para corroborar nossa hipótese.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq/PIBIC e a FACEPE pelo apoio financeiro deste projeto.

REFERÊNCIAS

- Adamczak, M., Wiecek, A., 2013. The adipose tissue as an endocrine organ. *Semin. Nephrol.* 33, 2-13
- COHEN G, KIM M, OGWU V. A modified catalase assay suitable for a plate reader and for the analysis of brain cell cultures. *J Neurosci Methods*, 67(1):53-56, 1996.
- Bell, D.S., Patil, H.R., O'Keefe, J.H., 2013. Divergent effects of various diabetes drugs on cardiovascular prognosis. *Rev. Cardiovasc. Med.* 14, 107-122.
- Cariou, B., Charbonnel, B., Staels, B., 2012. Thiazolidinediones and PPAR γ agonists: time for a reassessment. *Trends. Endocrinol. Metab.* 23, 205–215.
- Adamczak, M., Wiecek, A., 2013. The adipose tissue as an endocrine organ. *Semin. Nephrol.* 33, 2-13
- Hogan, S., Canning, C., Sun, S., Sun, X., Kadouh, H., Zhou, K., 2011. Dietary supplementation of grape skin extract improves glycemia and inflammation in diet-induced obese mice fed a western high fat diet. *J. Agric. Food. Chem.* 59, 3035-3041.