



11ª Jornada Científica e Tecnológica do IFSULDEMINAS

& 8º Simpósio de Pós-Graduação

POTENCIAL HIPOLIPEMIANTE DO VENENO DA URUTU (*Bothrops alternatus*) EM CAMUNDONGOS DISLIPIDÊMICOS

Jéssica L. C. AMARAL¹; Carlos R. Pereira²; Felipe A. BRAZ³; Maria G. S. CARVALHO³; Caroline B. CHAIBUB⁴; Maria Lucia⁴; Aline SOUZA⁵; Leandro SANTOS⁶; José A. D. GARCIA⁷.

RESUMO

O metabolismo lipídico é um alvo importante para desenvolvimento de novos agentes terapêuticos. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do veneno da urutu no perfil lipídico e na hipertrofia ventricular esquerda em camundongos LDLr^{-/-}. Os animais foram divididos em quatro grupos experimentais (n=10): S e SU, receberam ração padrão/4 semanas, contudo os camundongos do SU receberam uma dose de 80% da DL50 de veneno de urutu/semana (0,5mL via IP/ 4 semanas); HL e HLU, receberam ração hiperlipídica com 20% de gordura total, 1,25% de colesterol e 0,5 % de ácido côlico/ 4 semanas, contudo os camundongos HLU receberam uma dose de 80% da DL50 de veneno de urutu/semana (0,5mL via IP/4 semanas). Após 4 semanas de tratamento foram avaliados os níveis séricos de Colesterol total, HDL, triglicerídeos e proteína C reativa e parâmetros que avaliaram a HV. O veneno de urutu apresentou um efeito benéfico na prevenção das dislipidemias, tanto genética quanto genética associada a alimentar, o que preveniu a HVE dos camundongos do grupo HLU.

Palavras-chave: Coração; hipertrofia ventricular; colesterol e serpentes.

1. INTRODUÇÃO

A dislipidemia se caracteriza por distúrbios metabólicos lipídicos, em consequência o excesso de lipídios séricos. As alterações lipídicas podem ocorrer devido a fatores genéticos ou fatores ambientais como a alimentação. Recomenda-se no tratamento da dislipidemia a adoção de alimentação saudável, prática de atividades físicas e intervenção medicamentosa (FALUDI et al., 2017). A classe medicamentosa mais utilizada no tratamento da dislipidemia são as estatinas (ANVISA, 2011) porém, o seu uso tem demonstrado efeitos adversos, como câibras e/ou rigidez muscular, dependência, miosites e hepatite (JOY e HEGELE, 2009).

Existem evidências da correlação entre o perfil lipídico e a pressão arterial sistêmica, como observado na síndrome metabólica. Os peptídeos potencializadores de bradicinina (BPPs) foram os primeiros inibidores naturais da enzima angiotensina I (ECA) descobertos (LAMEU, 2009). Essa descoberta permitiu o desenvolvimento do medicamento captopril, oriundo do veneno

¹ Discente do curso de licenciatura em ciências biológicas IFSULDEMINAS – Campus Machado. Email: amaral.jessy@yahoo.com.br

² Discente do programa de pós-graduação em Ciências dos Alimentos - IFSULDEMINAS – Campus Machado. Email: carlosrp12@yahoo.com.br.

³ Discentes do programa de pós-graduação em Reprodução, Sanidade e Bem Estar Animal – UNIFENAS. E-mail: maria_h_roots@hotmail.com. felipeassisbraz@gmail.com.

⁶ Docente, Universidade Federal Rural do Pernambuco. leandro.santos2@ufrpe.br

⁷ Orientador, IFSULDEMINAS – Campus Machado. E-mail: jose.garcia@ifsuldeminas.edu.br

da *Brothops jararaca*, sendo este capaz inibir a ECA, na qual tem efeito hipertensivo.

Diante da diversidade dos compostos presentes no veneno de serpentes do gênero *Brothops*, e visto a necessidade na busca por tratamentos na dislipidemia, o objetivo do estudo foi avaliar o efeito do veneno da urutu (*Bothrops alternatus*) no perfil lipídico e na hipertrofia ventricular esquerda (HVE) em camundongos LDLr-/- (animais geneticamente modificados, que possuem maior teor de colesterol nas ilhotas pancreáticas e secretam menos insulina).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados camundongos LDLr-/-, machos, 3 meses de idade, divididos em 4 grupos (n=10): S (animais que receberam ração padrão) e SU (animais que receberam ração padrão e tratados com veneno), receberam ração padrão/4 semanas, contudo os camundongos do SU receberam uma dose de 80% da DL50 de veneno/semana (0,5mL via IP/ 4 semanas); HL (animais que receberam dieta hiperlipídica) e HLU (animais que receberam dieta hiperlipídica e tratados com veneno), receberam ração hiperlipídica com 20% de gordura total, 1,25% de colesterol e 0,5 % de ácido cítrico/ 4 semanas, contudo os camundongos HLU receberam uma dose de 80% da DL50 de veneno/semana (0,5mL via IP/4 semanas). Após 4 semanas de experimento foram determinados: (1) a proporção do peso ventricular esquerdo (mg) pelo peso do animal (g), diâmetro do cardiomiócitos, depósito de colágeno para determinar a HVE; (2) Níveis séricos de colesterol total (CT), HDLc, triglicerídeos (TG) e a proteína C reativa (PCR). O sangue foi coletado através de punção do plexo venoso retro-orbital para análise de triglicerídeos, colesterol total e colesterol LDL, HDL. O ventrículo esquerdo (VE) foi pesado, calculada como a razão entre o VE (mg) e o peso corporal (g), foi então realizado a coloração com hematoxilina-eosina para medidas de cardiomiócitos (JUNQUEIRA et al., 1979). O veneno de *Bothrops alternatus* foi proveniente de um indivíduo adulto e determinou-se a DL 50 pelo método Reed-Muench. O protocolo experimental foi aprovado pelo CEUA-UNIFENAS parecer 21A-2013.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Observou-se que o veneno da urutu preveniu a HVE dos camundongos do HLU quando comparado com do grupo HL e preveniu também o aumento do CT (Tabela 1) nos grupos SU e HLU quando comparados com os dos grupos S e HL e preveniu também o aumento dos níveis de triglicérides (Tabela 1). Além disso, aumentou o nível plasmático HDLc (Tabela 1) do grupo HLU em comparação ao grupo HL. Já em relação a expressão de PCR (Tabela 1), o grupo HLU tiveram menor expressão quando comparados com o grupo HL.

Tabela 1- Níveis séricos colesterol total (CT), triglicerídeos (TG) e HDL colesterol (HDLc) e proteína C reativa (PCR) em camundongos LDLr-/- alimentados com dieta padrão (S) tratados com veneno de urutu (SU) e alimentados com dieta hiperlipídica (HL) tratados com veneno de urutu (HLU).

Grupos	S	SU	HL	HLU
CT (mg/dL)	257±5 ^b	113±6 ^d	869±15 ^a	115±12 ^c
TG (mg/dL)	165±10 ^b	124±19 ^c	266±37 ^a	60±9 ^d
HDLc (mg/dL)	62±3 ^a	68±4 ^a	22±2 ^b	74±5 ^a
PCR (mg/dL)	6±0,3 ^b	5,4±0,6 ^b	14±0,6 ^a	6,5±1 ^b

Os valores foram expressos como média ± EPM. Letras distintas indicam diferenças significantes entre grupos (P<0,05 – Teste de Tukey).

Foram analisados os diâmetros dos cardiomiócitos, o depósito de colágeno no VE e a massa do VE para avaliar o remodelamento cardíaco. O diâmetro dos cardiomiócitos (Tabela 2) no grupo HL apresentou hipertrofia dos cardiomiócitos em relação ao grupo HLU. Quando avaliado o depósito de colágeno (Tabela 2), observou-se que os animais HL apresentaram um pronunciado aumento comparado ao grupo HLU. Já os animais do grupo HL assim como os demais parâmetros morfométricos avaliados apresentaram maior proporção de peso ventricular (Tabela 2).

Tabela 2- Parâmetros morfométricos do coração de camundongos LDLR^{-/-} alimentados com dieta padrão (S) tratados com veneno de urutu (SU) e alimentados com dieta hiperlipídica (HL) tratados com veneno de urutu (HLU).

Grupos	S	SU	HL	HLU
Proporção Peso ventricular (mg)/ peso animal (g)	3,5±0,08 ^b	3,4±0,11 ^b	4,4±0,12 ^a	3,5±0,14 ^b
Diâmetro de cardiomiócitos (µm)	18±0,4 ^b	19±0,5 ^b	25±0,9 ^a	20±1,0 ^b
Depósito de colágeno (%)	4,9±0,2 ^b	5,1±1 ^b	11,2±0,8 ^a	4,6±0,9 ^b

Os valores foram expressos como média ± EPM. Letras distintas indicam diferenças significantes entre grupos (P<0,05 – Teste de Tukey).

No presente estudo observou-se que o veneno de urutu preveniu totalmente a hiperlipidemia, a redução dos níveis séricos de HDL e o aumento dos níveis de PCR, prevenindo de forma total a HVE nos camundongos LDLR^{-/-} alimentados com dieta hiperlipídica do grupo HLU. Esse resultado pode ser dado ação das desintegrinas e das metaloproteinases, substâncias que são encontrados em venenos de serpentes, e atuam no processo de homeostase (MATSUI et al., 2000). Os efeitos biológicos das desintegrinas estão ligados a sua capacidade de interação com as integrinas que são receptores celulares, sendo também inibidores de adesão celular e de aglomeração de plaquetas. Além das metaloproteinases possuírem um potencial na degradação de colágeno (SCHULZ, 2007), o que foi demonstrado nesse trabalho onde observou-se que os animais alimentados com dieta hiperlipídica e veneno de urutu (HLU) apresentaram menor deposição de colágeno.

Alternagina-C que é uma desintegrina tipo like pode moldar a angiogenese, e também possui potencial de inibir a adesão das integrinas $\alpha 1 \beta 2$ ao colágeno (SOUZA, et al., 2000). A cisteína também uma desintegrina tipo like possui atividade antioxidante. Estudos com modelos

experimentais de hipertrofia cardíaca tem demonstrado que devido a ação antioxidante de diversas substâncias entre elas a cisteína, foi capaz de reduzir a hipertrofia cardíaca (MINHAS et al., 2006).

Diante desses resultados encontrados pelo nosso grupo de estudo foi demonstrado nesse protocolo experimental que o veneno de urutu preveniu a HVE, porém novos estudos precisam ser realizados afim de verificar o mecanismo de ação utilizado pelas substâncias presentes no veneno para a prevenção da hipertrofia

5. CONCLUSÕES

O veneno da urutu apresentou um efeito benéfico na prevenção das dislipidemias, tanto em animais com fator genético, quanto fator genético associada a alimentação hiperlipídica, prevenindo a HVE.

AGRADECIMENTOS

UNIFENAS, IFSULDEMINAS e CAPES.

REFERÊNCIAS

- ANVISA. Dislipidemia. **Saúde e Economia**, v.3, n.6, p.1-4, 2011.
- DUARTE, J. L. G. et al. A relação entre o consumo de chá verde e a obesidade: Revisão. *Revista Bras Obesidade, Nutr e Emagrecimento*. v. 8, n. 43, p. 4, 2014.
- FALUDI, A. A. et al. Atualização da Diretriz Brasileira de Dislipidemias e Prevenção da Arteriosclerose – 2017. **ArqBrasCardiol**. v. 109, n. 1, 2017, 91 p.
- JOY, T. R. e HEGELE, R. A. Narrative review: statin-related myopathy: **Ann Intern Med**. v. 150, n. 12, p. 858-868, 2009.
- JUNQUEIRA, L. C.; BIGNOLAS, G.; BRENTANI, R. R. Picrosirius red staining pluspolarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissuesections. *Histochem J*. v. 11, p. 447-455, 1979.
- LAMEU, C. **O sistema nervoso central como alvo das ações anti-hipertensivas de um peptídeo rico em resíduos de prolina do veneno da Bothrops jararaca**.2009. 158 p. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade de São Paulo, São Paulo, 2009.
- MATSUI,T.; FUGIMURA, Y.; TITANI, K. Snake venom protease affecting hemostasis and thrombosis. **Biochim. Biophys. Acta**. v. 1477. P.146-156, 2000.
- MINHAS, K.M., et al., Xanthine oxidoreductase inhibition causes reverses remodeling in rats with dilated cardiomyopathy. **Circ Res**, v. 98, n. 2, p. 271-279, 2006.
- SCHULZ, R. Intracellular targets of matrix metalloproteinase-2 in cardiac disease: rationale and therapeutic approaches. **Annu Rev PharmacolToxicol**. v.47, p 211-242, 2007
- SOUZA, D. H. F. et al. The desintegrinlikedomainofthesnakevenommethalloproteasealternagininhinhibits $\alpha 1 \beta 2$ integrin-mediatedcelladhesion.**Artic.Biochem.Biophys**. v.384, p. 341-350, 2000.