

AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA ANGIOTENSINA-(1-7) SOBRE O PERFIL LIPÍDICO E ESTRESSE OXIDATIVO EM CAMUNDONGOS SUBMETIDOS À DIETA HIPERLIPÍDICA

Autores: DÉRYK PATRICK OLIVEIRA AMARAL, LUDMILA AGUIAR NUNES, CARLA RODRIGUES PEREIRA, NOEMI PEREIRA CARVALHO, ALANNA FERNANDES PARAÍSO, JOÃO MARCUS OLIVEIRA ANDRADE, SÉRGIO HENRIQUE SOUSA SANTOS

Introdução

O envelhecimento é considerado um processo altamente complexo e está associado a alterações fisiológicas e patológicas em diversos sistemas biológicos (PATTERSON, 2011). Uma das principais teorias que tenta explicar o processo de envelhecimento é o dano (ou estresse) oxidativo, em que as espécies reativas de oxigênio (ROS), produzidas durante a respiração aeróbica, seriam o principal fator desencadeante do mesmo. Essas substâncias provocam modificações moleculares e celulares que geram, entre outras desordens, as alterações metabólicas (HERNDON, 2002; KIRKWOOD, 2005). Devido ao fato de as espécies reativas de oxigênio terem uma meia-vida extremamente curta, elas são difíceis de serem medidas diretamente. Em vez disso, podem ser medidos os vários produtos dos danos produzidos pelo estresse oxidativo, tais como as substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico- TBARS.

Neste contexto, o Sistema Renina-Angiotensina (SRA) se constitui como uma coordenada cascata hormonal circulante iniciada pela liberação da enzima renina. Um importante componente desse sistema é o heptapeptídeo Angiotensina(Ang) -(1-7) que, agindo via receptor *Mas*, promove geralmente ações antagônicas às geradas pela Ang II em diversos tecidos. Sendo um importante metabólito da Ang II (FRÜHBECK, 2001; FELTENBERGER, 2013), a Ang-(1-7) participa do controle do balanço hidroeletrólítico, promove inibição da proliferação de células musculares lisas vasculares (TRAYHURN e WOOD, 2004), inibe o crescimento de miócitos cardíacos (GUERRE-MILLO, 2004) e previne o processo de esteatose hepática em camundongos alimentados com uma dieta hiperlipídica (FELTENBERGER, 2013).

Estudos realizados nos últimos anos mostraram que vários componentes do SRA foram descritos no tecido adiposo (FESTA, 2001) e o SRA modula de forma importante o metabolismo e a função endócrina nesse tecido (ENGSTRÖM, 2003). Estudo recente elaborado por Santos e colaboradores mostrou que a deficiência do receptor *Mas* em camundongos *FVB/N* induz a dislipidemia, sensibilidade e tolerância a glicose diminuída, hiperinsulinemia, hiperleptinemia e diminuição do consumo de glicose pelas células do tecido adiposo branco, além de aumentar a massa neste tecido. Assim, estas observações sugerem que a deficiência crônica de Ang-(1-7)/*Mas* pode levar a um estado de síndrome metabólica (SANTOS, 2008).

Os componentes do Sistema Renina-Angiotensina (SRA) tem se destacado não apenas como reguladores da pressão arterial e homeostasia cardiovascular, mas também como um complexo sistema hormonal envolvido nas mais diversas funções do organismo, relacionadas a processos metabólicos, desenvolvendo suas ações principalmente por meio da Ang-(1-7). São conhecidas várias interações da Ang-(1-7) com a função endócrina do tecido adiposo, no entanto, os mecanismos estão pouco compreendidos.

Outros estudos demonstraram que compostos que atuam sobre o metabolismo, como o resveratrol, aumentam a longevidade de camundongos submetidos a uma dieta hiperlipídica. Porém, não há estudos registrados na literatura científica sobre o efeito da Ang-(1-7) na longevidade. Neste contexto, os resultados do presente estudo permitirão a compreensão mais aprofundada dos mecanismos de atuação da Ang-(1-7) sobre desordens metabólicas ocasionadas pelo processo de envelhecimento, sendo de fundamental importância os testes pré-clínicos em animais, para avaliar os efeitos adversos deste peptídeo e abrir novas perspectivas para o desenvolvimento de medicamentos que possam combater as doenças cardiometabólicas que acometem de forma assustadora a população mundial.

Material e métodos

As atividades deste projeto relacionadas à pesquisa experimental foram realizadas no Biotério da Universidade Estadual de Montes Claros (Unimontes) e no seu Laboratório de Pesquisa em Saúde. Os camundongos foram divididos em quatro grupos conforme a dieta e administração de angiotensina, sendo dois controles e dois testes, respectivamente: dieta padrão (ST), hiperlipídica (HFD), padrão associada à Ang-(1-7) (ST+Ang(1-7)) e hiperlipídica associada à Ang-(1-7) (HFD+Ang(1-7)). Após os animais terem completado dois meses, foi iniciado o tratamento, com a administração, em dois dos quatro grupos, de 30 microgramas de angiotensina por peso corporal durante 12 meses. Foi realizado o acompanhamento semanal do ganho de peso e consumo alimentar e de água. Os animais foram sacrificados após 6 e 12 meses de tratamento. No momento do sacrifício foram coletadas amostras de sangue e tecidos adiposos, pesados, armazenados em -80°C. Peso corporal, adiposidade (soma dos tecidos adiposos corrigido pelo peso corporal do animal), níveis plasmáticos de colesterol total e níveis de ácido tiobarbitúrico foram avaliados. Análises estatísticas dos dados foram realizadas no software GraphPad Prism, com nível de significância estabelecido em 0,05. O presente estudo seguiu as orientações éticas de manejo de animais e encontra-se aprovado pelo Comitê de Ética e Bem-estar animal da Unimontes.

Resultados e discussão



A avaliação do peso corporal demonstrou que, após seis meses de tratamento, diferenças só foram observadas entre os animais alimentados com dieta padrão e hiperlipídica (Fig.1 A). No entanto, aos 12 meses de tratamento, a Ang-(1-7) reduziu o peso corporal dos animais alimentados com dieta hiperlipídica (Fig.1 B).

Em relação aos níveis de colesterol total, observou-se que seis meses de tratamento com Ang-(1-7) não foram suficientes para diminuir os níveis de colesterol dos camundongos tratados (Fig.1 C). Por outro lado, 12 meses de tratamento com Ang-(1-7) culminou em reduções significativas dos níveis de colesterol total nos dois grupos teste em que foi ofertada Ang-(1-7) quando comparados aos respectivos controles (Fig.1 D).

Análises da adiposidade demonstraram reduções significativas nos níveis de adipócitos dos animais tratados com Ang(1-7) após 12 meses de tratamento quando comparados aos respectivos controles (Fig.1 F). Seis meses de tratamento com Ang(1-7) não foram capazes de exercer efeitos significativos acerca da adiposidade nestes animais (Fig.1 E).

Análises do estresse oxidativo demonstraram que, após 12 meses de tratamento com Ang(1-7), houve diminuição dos níveis do ácido tiobarbitúrico no tecido adiposo dos animais de ambos os grupos: dieta padrão mais Ang-(1-7) e dieta hiperlipídica mais Ang-(1-7), quando comparados aos respectivos controles (Fig.1 G).

Conclusões

Conclui-se que o tratamento crônico (12 meses) com Ang(1-7) foi capaz de melhorar o perfil lipídico corporal, adiposidade e diminuir o estresse oxidativo nos animais tratados. Estes resultados demonstram benefícios potencialmente mais efetivos no tratamento a longo prazo quando comparados aos efeitos observados no tratamento agudo com a Ang(1-7).

Agradecimentos

À FAPEMIG, ao CNPq e ao CAPES pelo apoio financeiro. À Unimontes pelo apoio logístico.

Referências bibliográficas

- PATTERSON, M.J.N. Evaluating Age-Associated Phenotypes in a Mouse Model of Protein Dyshomeostasis. *Methods*, v.53, n.3, p.187-193, mar.2011.
- HERNDON, L.A. et al. Stochastic and genetic factors influence tissue-specific decline in ageing *C. elegans*. *Nature*, v.419, p.808-814, out.2002.
- KIRKWOOD, T.B. et al. What accounts for the wide variation in life span of genetically identical organisms reared in a constant environment? *Mechanisms of ageing and development*, v.126, p.439-443, 2005.
- FRÜHBECK, G. et al. The adipocyte: a model for integration and metabolic signaling in energy metabolism regulation. *American Journal of Physiology Endocrinology and Metabolism*, v.280, n.6, p.827-847, jun.2001.
- FELTENBERGER, J.D. et al. Oral formulation of Angiotensin-(1-7) improves lipid metabolism and prevents high-fat diet-induced hepatic steatosis and inflammation in mice. *Hypertension*, v.62, n.2, p.324-330, ago.2013.
- TRAYHURN, P.; WOOD, I.S. Adipokines: inflammation and the pleiotropic role of White adipose tissue. *Br J Nutr*, v.92, n.3, p.347-355, set.2004.
- GUERRE-MILLO, M. Adipose tissue and adipokines: for better or worse. *Diabetes Metab.*, v.30, n.1, p.13-19, fev.2004.
- FESTA, A. et al. The relation of body fat mass and distribution to markers of chronic inflammation. *Int J Obes*, v.25, n.10, p.1407-1415, out.2001.
- ENGSTRÖM, G. Inflammation-sensitive plasma proteins are associated with future weight gain. *Diabetes*, v.52, n.8, p.2097-2101, ago.2003.
- SANTOS, S.H. et al. *Mas* deficiency in FVB/N mice produces marked changes in lipid and glycemic metabolism. *Diabetes*, v.57, n.2, p.340-347, fev.2008.

Figuras

Figura 1. Efeitos do tratamento crônico e agudo de Ang-(1-7) no peso corporal, níveis de colesterol total, adiposidade e stress oxidativo em camundongos.

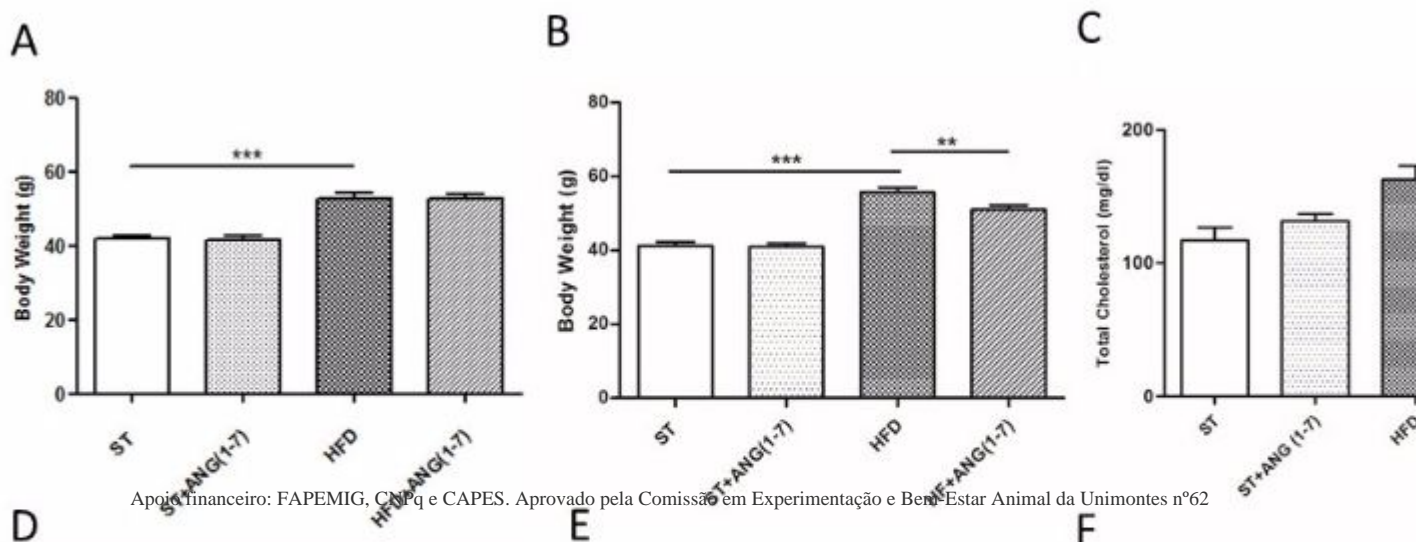
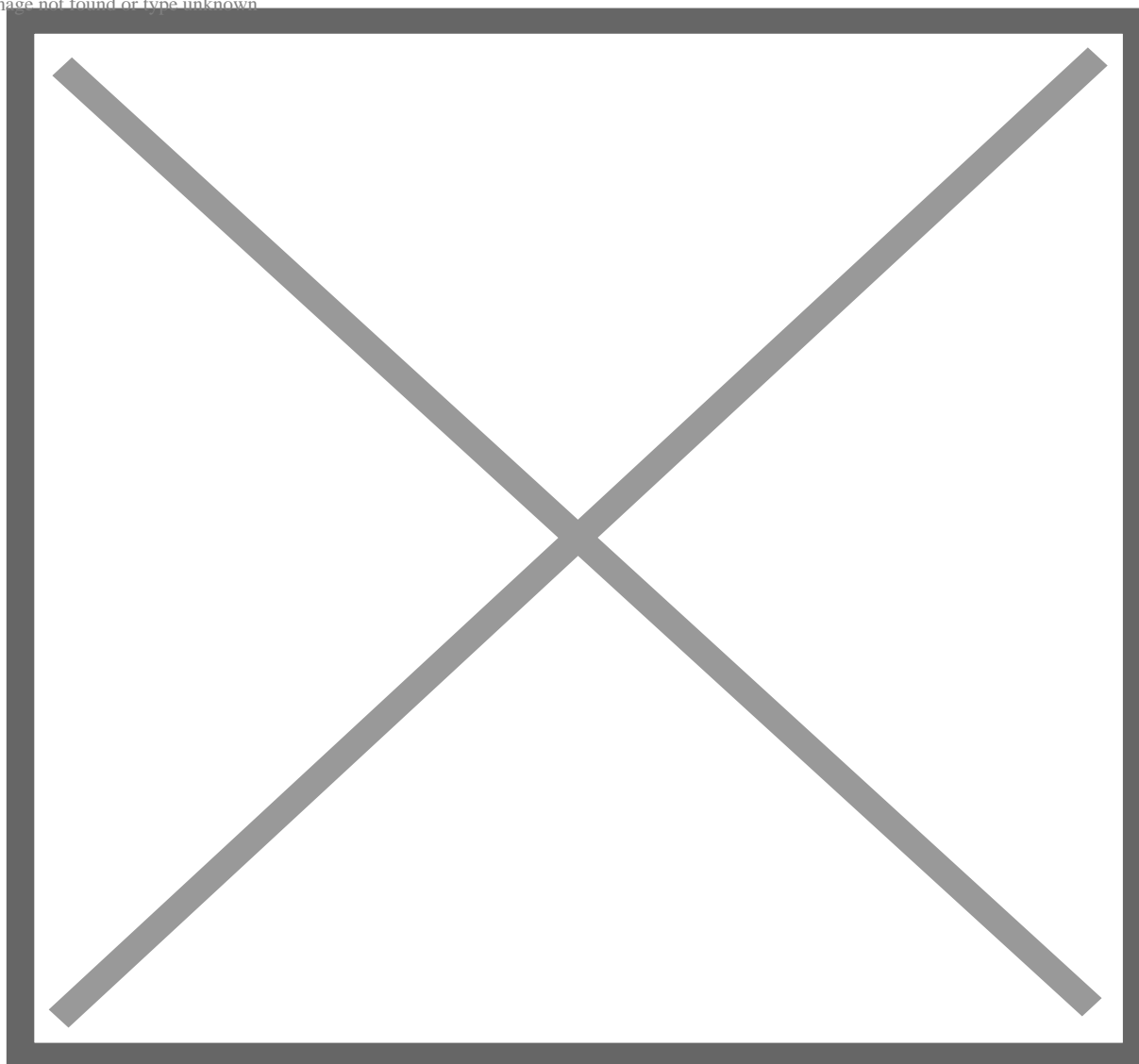




Image not found or type unknown



Tratamento de camundongos com obesidade induzida por dieta hiperlipídica. A) Peso corporal após 6 meses de tratamento. B) Peso corporal após 12 meses de tratamento. C) Colesterol total após 6 meses de tratamento. D) Colesterol total após 12 meses de tratamento. E) Adiposidade corporal após 6 meses de tratamento. F) Adiposidade corporal após 12 meses de tratamento. G) Níveis de ácido tiobarbitúrico após 12 meses de tratamento. ST: Dieta padrão; ST+Ang(1-7): Dieta padrão + Ang(1-7); HFD: Dieta hiperlipídica; HFD: Dieta hiperlipídica + Ang(1-7). Teste estatístico: One-Way ANOVA. * $p > 0,05$; ** $p > 0,01$; *** $p > 0,001$.