

Efeitos Renais E Vasculares Da Inibição Da Caliceína Em Um Modelo De Lesão Renal Aguda Induzida Pelo Veneno De *Lonomia obliqua*

Introdução

O envenenamento acidental pela taturana *Lonomia obliqua* (Fig. 1) é considerado um problema de saúde pública negligenciado principalmente em áreas rurais do sul do Brasil [1]. O veneno de *Lonomia obliqua* é nefrotóxico e a lesão renal aguda (LRA) é a principal causa de morte entre as vítimas envenenadas [2]. Nesses casos o mecanismo fisiopatológico da LRA envolve hipoperfusão renal, inflamação, necrose tubular e redução da filtração glomerular e da capacidade de reabsorção tubular [3].

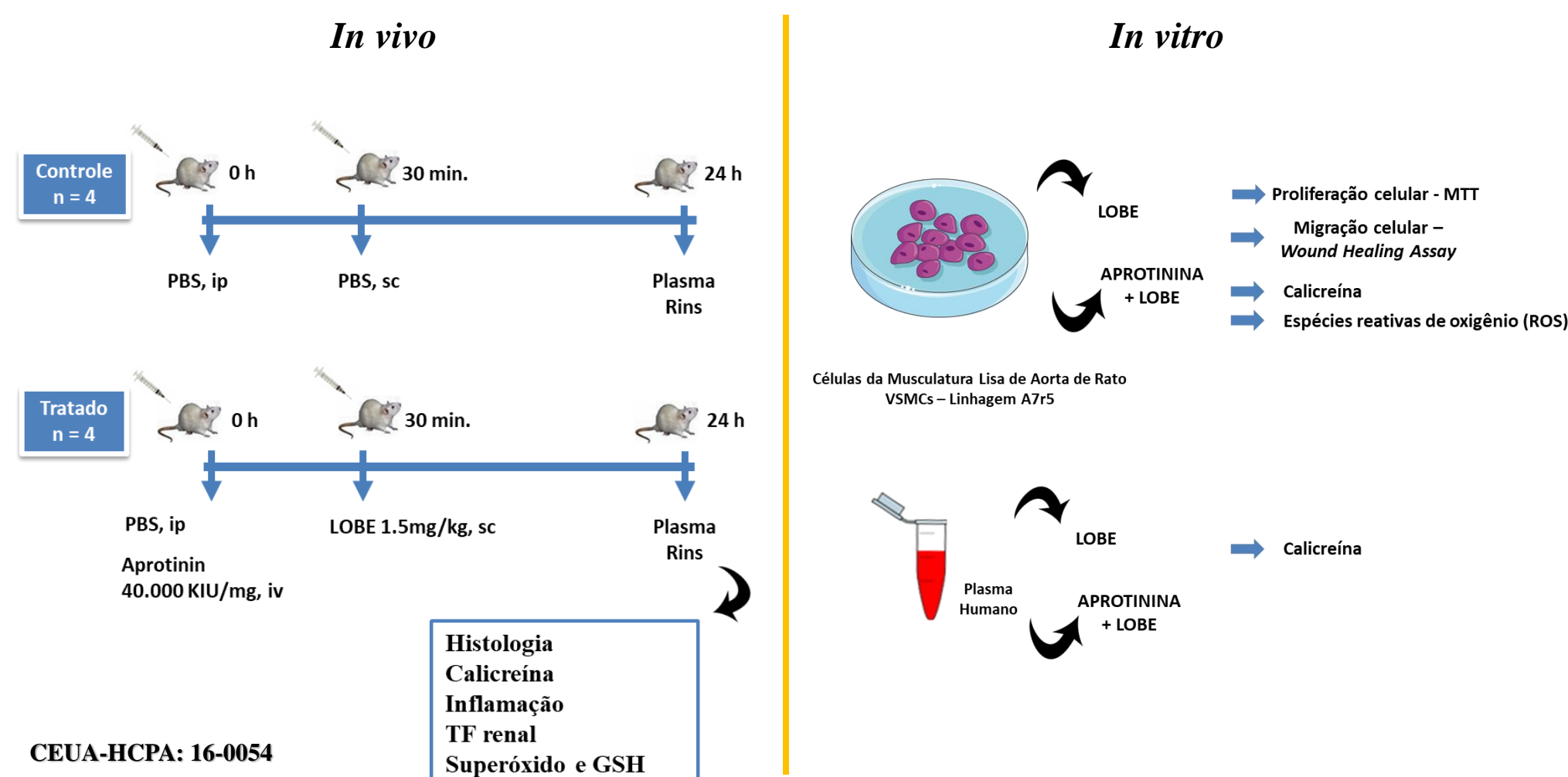
Objetivo

O objetivo deste estudo foi investigar a contribuição da caliceína para os efeitos nefrotóxicos, pró-inflamatórios e para as alterações vasculares causadas pelo veneno de *L. obliqua*.



Figura 1. Larva de sexto instar de *Lonomia obliqua*.

Metodologia



Resultados

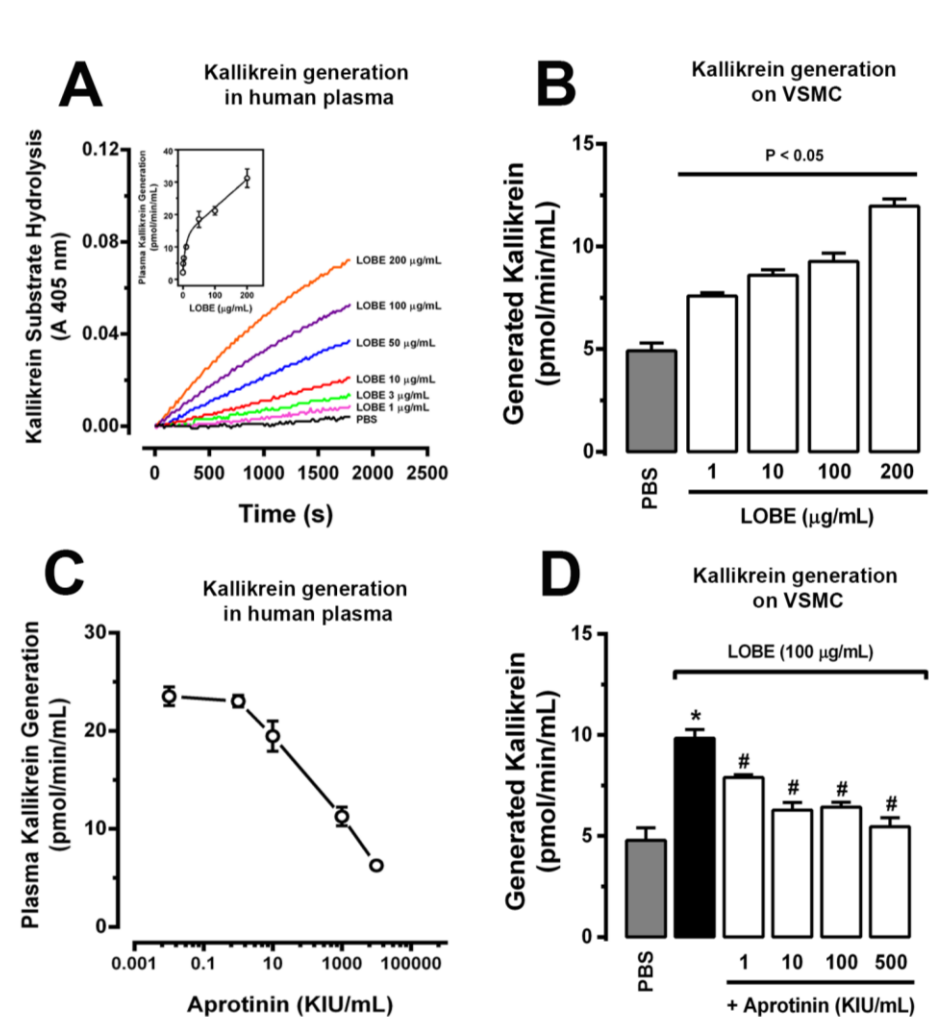


Figura 2. O veneno de *L. obliqua* é capaz de gerar diretamente caliceína *in vitro*. A. O veneno de *L. obliqua* (LOBE) gera caliceína no plasma humano de maneira dose-dependente. B. Em células da musculatura lisa vascular de aorta (VSMC) em cultura, LOBE induz a expressão e atividade de caliceína. C. A pré-incubação do LOBE com aprotinina (um inibidor específico de caliceína) bloqueia a formação de caliceína no plasma. D. O pré-tratamento de VSMC com aprotinina bloqueia a ativação de caliceína induzida por LOBE. Dados representam média ± SE. * denota p < 0,05 vs grupo PBS e # denota p < 0,05 vs grupo tratado com LOBE.

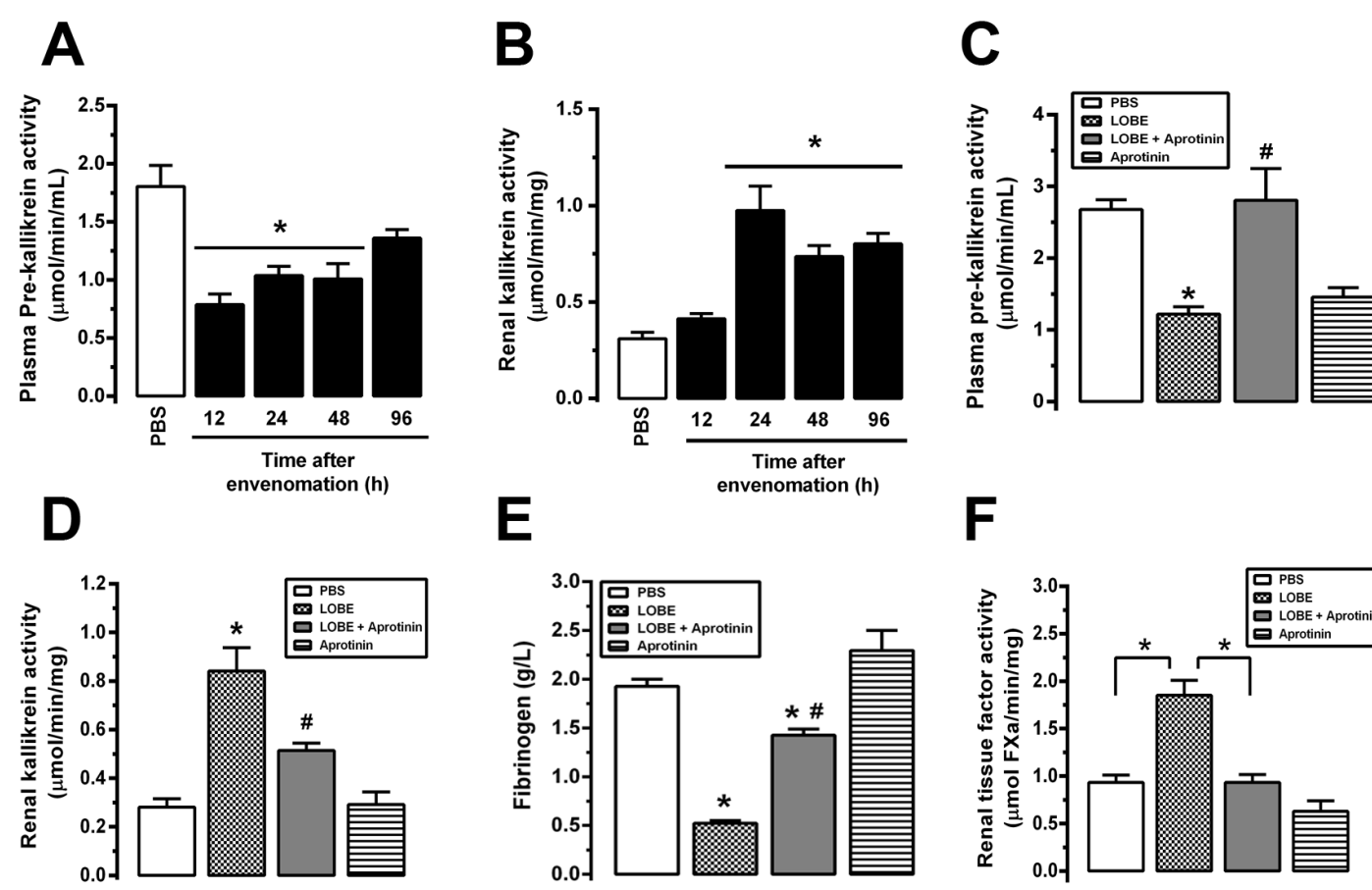


Figura 3. Caliceína é gerada no plasma e rim de animais durante o envenenamento com *L. obliqua*. Ratos Wistar foram injetados com LOBE (1,5 mg/kg, s.c.) e os seguintes parâmetros foram determinados: A. Níveis de pré-caliceína no plasma. B. Níveis de caliceína renal. Em outro conjunto de experimentos grupos de animais foram pré-tratados com aprotinina (40.000 KIU/mg, iv) 30 min antes da injeção com LOBE. Após 24h foram determinados os seguintes parâmetros: C. Níveis de pré-caliceína no plasma. D. Níveis de caliceína renal. E. Níveis de fibrinogênio. F. Níveis de fator tecidual renal. Dados representam média ± SE. * denota p < 0,05 vs grupo PBS e # denota p < 0,05 vs grupo tratado com LOBE.

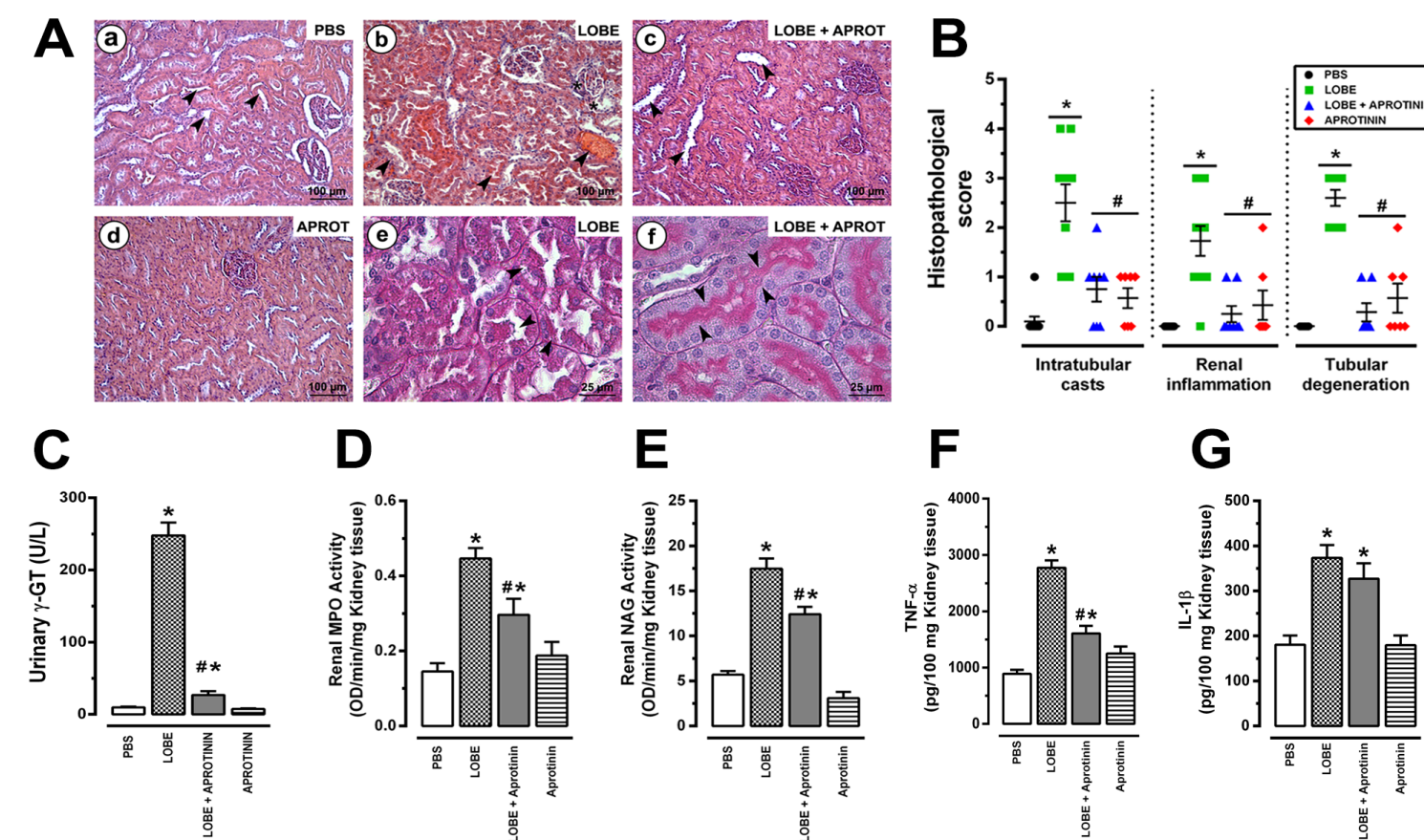


Figura 4. A inibição de caliceína protege contra as alterações tubulares, glomerulares e de inflamação induzidas pelo veneno de *L. obliqua*. A e B. O pré-tratamento com aprotinina reduz o dano celular, necrose inflamação e deposição de debris celulares no interior dos túbulos renais (setas). C. Atividade de γ -glutamilttransferase renal (marcador de dano tubular). D. Atividade de mieloperoxidase renal (marcadores de infiltração de neutrófilos). E. Atividade de N-acetilglicosaminidase (marcador de infiltração de macrófagos). F. Níveis de TNF- α renal. G. Níveis de IL1 β renal. Dados representam média ± SE. * denota p < 0,05 vs grupo PBS e # denota p < 0,05 vs grupo tratado com LOBE.

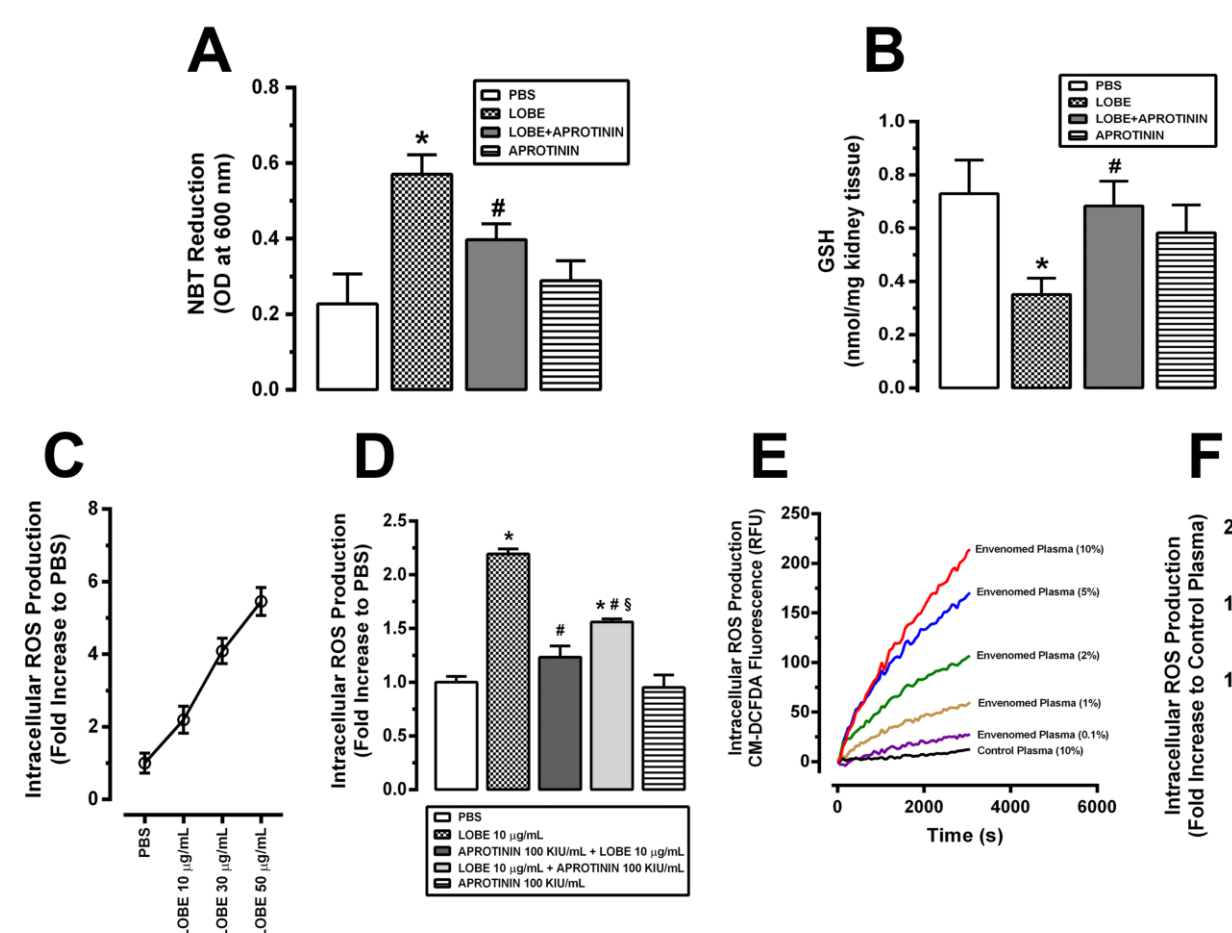


Figura 5. A inibição de caliceína atenua a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) induzida pelo veneno de *L. obliqua*. Rins de ratos Wistar pré-tratados ou não com aprotinina foram coletados após 24h de injeção de veneno de *L. obliqua* e produção de ânion superóxido (A) e níveis de glutatona reduzida (GSH) (B) foram estimados. C. VSMCs (5×10^3 células) foram carregadas com DCF e estimuladas com LOBE. A cinética da geração de ROS intracelular foi monitorada pela fluorescência através da formação de CM-H2DCFDA. D. O tratamento com aprotinina reduz a geração de ROS intracelular estimulado por LOBE em VSMCs em cultura. E. Diferentes concentrações (0,1-10%) de plasma diluído (1:10) proveniente de ratos envenenados estimulam de maneira dose-dependente a geração de ROS em VSMCs. F. O tratamento com aprotinina reduz o ROS induzido pelo plasma proveniente de animais envenenados. Dados representam média ± SE. * denota p < 0,05 versus grupo PBS, # denota p < 0,05 vs grupo tratado com LOBE, § denota p < 0,05 vs grupo tratado com aprotinina 100 KIU / mL + LOBE 10 μ g / mL, CP denota plasma controle, EP denota plasma envenenado e aprot denota aprotinina.

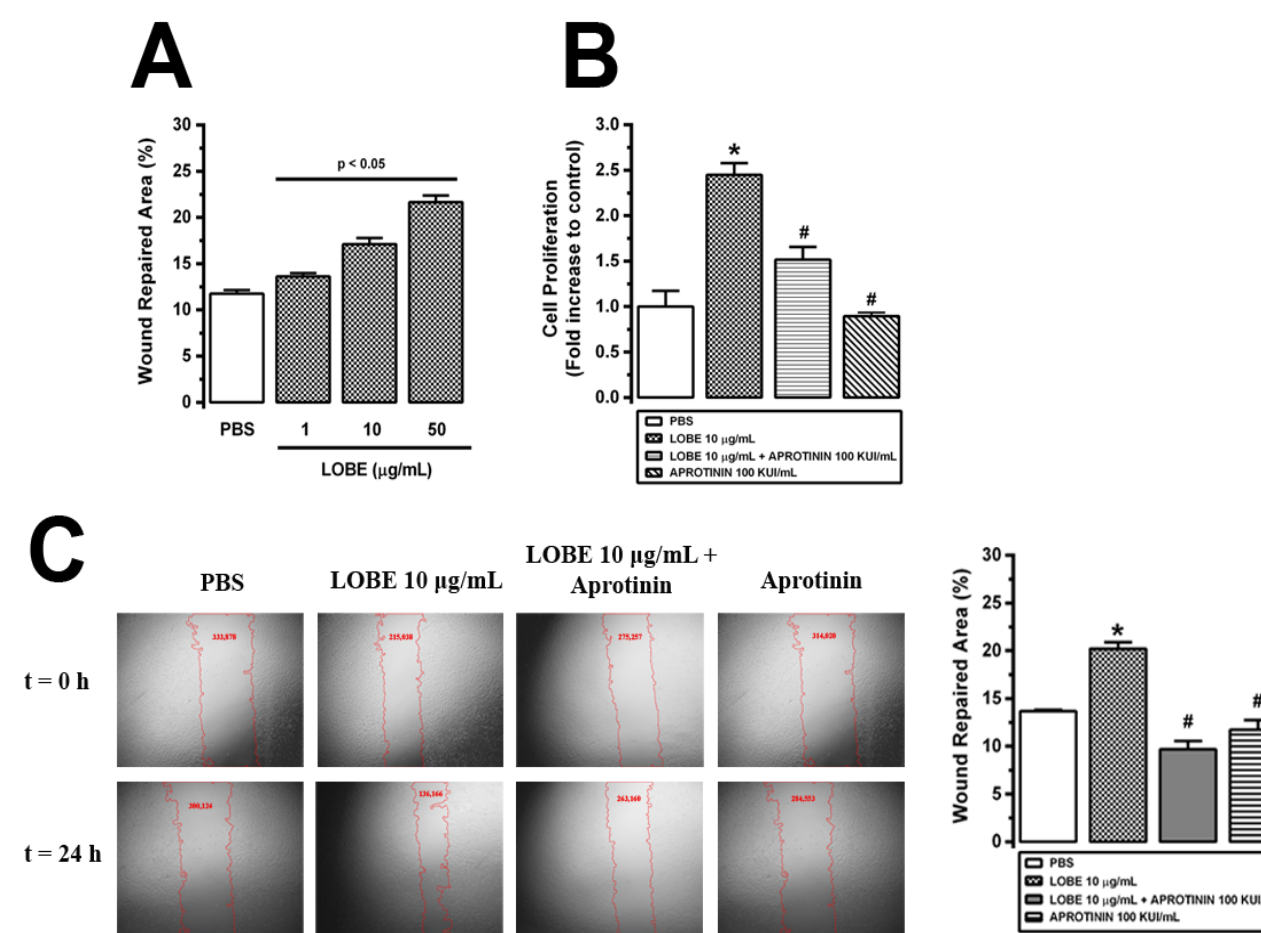


Figura 6. Efeitos da aprotinina na proliferação e migração de VSMCs induzida pelo veneno de *L. obliqua*. A. O efeito dose-resposta de LOBE (1-50 μ g/mL) na migração de VSMC foi estimado pelo ensaio de "wound healing". As fotos foram tiradas 24h após o *scratch* inicial e a porcentagem de área reparada foi calculada usando o software ImageJ. B. O pré-tratamento com aprotinina reduz a proliferação celular induzida pelo veneno em VSMCs medido através do ensaio de MTT. C. O pré-tratamento com aprotinina reduz migração celular induzida pelo veneno em VSMCs. Dados representam média ± SE. * denota p < 0,05 vs grupo tratado com PBS, # denota p < 0,05 vs grupo tratado com LOBE ou plasma envenenado.

Conclusões

Os dados obtidos indicam que a caliceína e, consequentemente, a liberação de cininas têm um papel fundamental na lesão renal e remodelamento vascular. Assim, o bloqueio da caliceína pode ser uma alternativa terapêutica para controlar a progressão da LRA e os distúrbios vasculares observados no envenenamento.



Referências

- [1] PINTO, AFM *et al* (2010). *Toxicon* 56 (7), 1103-12.
[2] BERGER, M *et al* (2013). *Toxicon* 74 (1), 179-192.
[3] BERGER, M *et al* (2015). *Archives of Toxicology* 89 (3): 459-83.