

Hiperlipidemia induzida por Triton WR-1339 (Tyloxapol) em Ratos Wistar

Hyperlipidemia induced by Triton WR1339 (Tyloxapol) in Wistar rats

Luiz Carlos Bertges ¹, Carlos Alberto Mourão Jr ², Jonathan Batista Souza ³, Vinícius Antônio Coelho Cardoso ⁴

Resumo

Relevância Farmacológica: Triton WR-1339 (Tyloxapol) tem sido utilizado por diversos estudos para induzir hipercolesterolemia em animais. Não foram encontrados, entretanto, trabalhos na literatura que esclareçam a qualidade e a durabilidade desse estado hipercolesterolêmico. Dessa forma, ao se estudar agentes hipocolesterolemiantes em ratos, torna-se difícil determinar se a queda dos níveis de colesterol resultou do tratamento ou de sua metabolização ao longo dos dias. **Objetivo Do Estudo:** Determinar os níveis de colesterol em ratos Wistar ao longo dos 9 dias subseqüentes à aplicação do Tyloxapol. **Materiais E Métodos:** Amostras de sangue de 16 ratos foram coletadas através de punção da veia caudal e submetidas à dosagem de colesterol total. Posteriormente, foi administrada dose única de Tyloxapol na dose de 200mg/kg por via intraperitoneal. Novas amostras foram colhidas a cada três dias e também dosados os níveis de colesterol total. **Resultados:** Ocorreu um pico de ação da droga após 72 horas da aplicação, com queda dos níveis comparáveis aos basais após esse período. **Conclusão:** A indução de hipercolesterolemia pelo do Tyloxapol mostrou ser eficaz em ratos Wistar em até 72 horas da aplicação da droga, após esse período os resultados podem não refletir a ação de agentes hipocolesterolemiantes que utilizem esse modelo.

Palavras-chave: colesterol, hiperlipidemias, ratos wistar.

Abstract

Pharmacological relevance: Triton WR1339 (Tyloxapol) has been used by several studies to induce hypercholesterolemia in animals. However, no works in literature were found to clarify the quality and durability of the hypercholesterolemic state. Thus, when studying hypocholesterolemic agents in rats, it is difficult to determine whether the decrease in cholesterol levels resulted from the treatment or from its metabolization throughout the days. **Study objective:** To determine the cholesterol levels in Wistar rats during the 9 days after the application of Tyloxapol. **Materials and methods:** Blood samples of 16 rats were collected by venipuncture of the caudal vein for total cholesterol level measurement. A single intraperitoneal dose of Tyloxapol at 200mg/kg was subsequently given. New samples were taken every three days and total cholesterol levels were also measured. **Results:** Drug action peaked after 72 hours of application, returning to baseline values after that. **Conclusion:** The induction of hypercholesterolemia by Tyloxapol has shown to be effective in Wistar rats within 72 hours of application of the drug, after that period the results may not reflect the action of cholesterol-lowering agents using this model.

Keywords: cholesterol, hyperlipidemias, wistar rats.

¹ Doutor (Professor Associado do Departamento de Fisiologia - UFJF Professor Adjunto da SUPREMA)

² Doutor (Professor Assistente do Departamento de Fisiologia-UFJF)

³ Médico (Médico)

⁴ Médico (Médico)

Universidade Federal de Juiz de Fora MG

Correspondência: Luiz Carlos Bertges, Departamento de Fisiologia, Instituto de Ciências Biológicas, UFJF, Campus Universitário, Bairro Martelos, Juiz de Fora, MG, CEP - 36036-900.

Este artigo foi submetido no SGP (Sistema de Gestão de Publicações) da Rev Bras Cien Med Saúde em 1 de setembro de 2009 . Cod. 37.

Artigo aceito em 27 de abril de 2010 .

1. INTRODUÇÃO

A hipercolesterolemia é uma das condições metabólicas que determina o surgimento de doenças degenerativas crônicas tal como a aterosclerose^{1,2,3}. A formação das lesões iniciais parece, mais freqüentemente, originarse do aumento focal do conteúdo de lipoproteínas dentro de regiões da íntima, devido não só a alterações na permeabilidade do endotélio sobrejacente, mas principalmente porque elas se ligam a constituintes da matriz celular, aumentando o tempo de permanência das partículas ricas em lipídios dentro da parede arterial⁴. No espaço extracelular da íntima as lipoproteínas podem sofrer alterações e as evidências apontam um papel patogênico para tais modificações⁵. A hipercolesterolemia, conseqüentemente, é um importante fator de risco para doenças cardiovasculares^{6,7,8} e a redução do colesterol plasmático e a proteção endotelial colocam-se como importantes providências para o controle da doença aterosclerótica e de suas complicações tais como o infarto agudo do miocárdio e a hipertensão arterial sistêmica⁹.

Há, em função disto, uma busca incessante de novos medicamentos para prevenção ou diminuição dos danos causados por problemas genéticos ou por dietas com excesso de gorduras que levam à hipercolesterolemia¹⁰. Têm-se tentado, para tanto, provocar o aumento do colesterol plasmático utilizando animais de laboratório para melhor entender a relação entre as alterações do metabolismo dos lípidos e a aterogênese e testar possíveis tratamentos para sua redução¹¹. Nesse contexto destaca-se o uso do Triton WR1339, também conhecido como Tyloxapol (Sigma Aldrich), um detergente não aniônico de estrutura polimérica³ que tem sido utilizado com sucesso em diversos trabalhos para induzir hipercolesterolemia^{12,13,14,15,16,17}.

Não foram encontrados, entretanto, trabalhos na literatura que esclareçam a qualidade e a durabilidade desse estado hipercolesterolêmico induzido em ratos pela administração intraperitoneal do tyloxapol. Dessa forma, ao se estudar drogas, plantas ou alimentos com objetivo hipocolesterolemizante em ratos, torna-se difícil determinar se a queda dos níveis de colesterol resultou do tratamento ou de sua diminuição espontânea ao longo dos dias, em função do metabolismo.

O objetivo desse estudo foi determinar os níveis de colesterol em ratos Wistar, ao longo de 9 dias após a aplicação do Tyloxapol, para assim obter parâmetros necessários para o estudo de drogas, plantas ou alimentos hipocolesterolemizantes.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 16 ratos Wistar, adultos, machos, provenientes do biotério da Universidade Federal de Juiz de Fora. Os animais foram pesados, acondicionados em gaiolas individuais e mantidos à temperatura ambiente em regime de claro-escuro de 12 horas e ofertados água e ração ad libitum.

Após um período de adaptação de 5 dias, os animais foram anestesiados com Ketamina e Xilazina por via intraperi-

toneal e, por punção da veia caudal, foram coletadas amostras de 0,5 mL de sangue. O material foi enviado a um laboratório de análises clínicas para dosagem do colesterol total através de kits enzimáticos (BioSystems S.A.).

Logo após a coleta, foi administrado, por via intraperitoneal, Triton WR1339 (Tyloxapol), adquirido do laboratório Sigma Aldrich, dissolvido em NaCl 0,9%, na dose de 200mg/Kg de peso corporal. Os animais foram observados durante 9 dias, período em que também foram ofertados água e ração ad libitum. No terceiro, sexto, e nono dias foram colhidas novas amostras de 0,5 mL de sangue obedecendo os mesmos padrões da primeira coleta.

A análise estatística foi realizada através do programa Graphpad versão 5.0 utilizando uma ANOVA de freedman para medidas repetidas com post-hoc de Dun'ss. O estudo está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal, adotados pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), e foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) da Pró-reitoria de Pesquisa/UFJF. Protocolo nº 024/2007CEEA.

3. RESULTADOS

Dez animais morreram durante o estudo, sendo seis deles três dias depois da administração da droga, um seis dias após da administração e três, nove dias da administração do medicamento.

A média do colesterol, antes de se administrar o Triton WR 1339, foi de 66,0 (n=6) (Figura 1). Três dias após a administração da droga, houve um aumento de 448,0% desta média para valores de 296,0 (n=6) (p=0,004) (Figura 1). Seis dias após a administração da droga, evidenciou-se uma queda de 64,19% em relação ao terceiro dia, com média de 106,0 (n=6), não havendo diferença em relação à média inicial (p < 0,05) (Figura 1). No nono dia a média foi de 76,5(n=6), também não

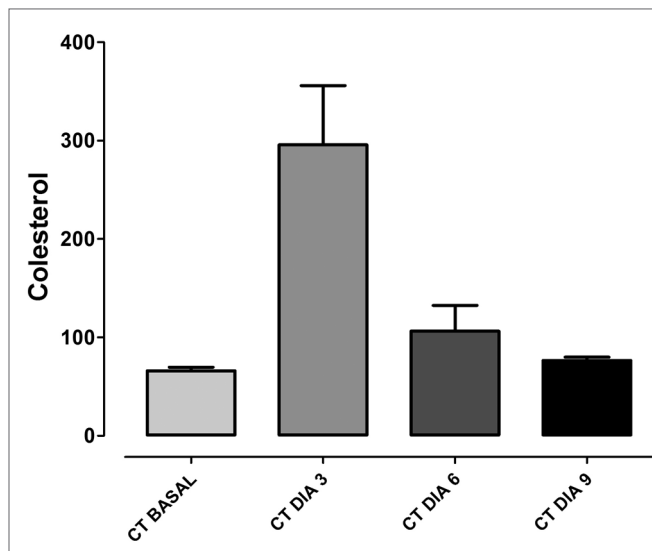


Figura 1. Média de colesterol dos ratos Wistar

havendo diferença estatisticamente significativa em relação aos valores basais ($p < 0,05$) (Figura 1).

4. DISCUSSÃO

Os resultados mostram que o Tyloxapol foi eficaz em aumentar os níveis de colesterol total sérico em relação ao basal, com um pico no terceiro dia após aplicação. No sexto e nono dia, entretanto, houve uma queda dos níveis lipídicos, não havendo mais diferença estatisticamente significativa entre os valores obtidos e a dosagem basal. Isto sugere que em até 72 horas da aplicação do tyloxapol, na dose de 200mg/kg, é possível obter valores de colesterol elevados.

Diversos estudos também comprovaram que o Tyloxapol foi eficaz em elevar os níveis de colesterol plasmático em ratos Wistar quando administrado por mesma via e dose. Entretanto, apesar de mostrarem uma crescente elevação dos lípides ao longo de 24 horas, não se pode observar a durabilidade desse efeito nesses trabalhos^{18,19,20}. Essa mesma conclusão foi observada também, quando se utilizou a droga por via intravenosa na dose de 400mg/kg²¹.

Em um outro estudo²² que também utiliza o Triton WR1339 e avalia dosagens de “dolichols”, um produto que participa do mesmo processo de biossíntese do colesterol, notou-se resultados também muito próximos ao encontrado no presente estudo. A dosagem sérica de tal produto ao longo de oito dias apresentou um pico no quarto dia e uma redução já no oitavo dia, porém com valores ainda maiores em relação ao basal. Esses dados indicam que o Triton WR 1339 atua nas concentrações tanto de dolichols quanto de colesterol de uma mesma maneira, uma vez que ambos compartilham do mesmo processo de biossíntese. Em camundongos pode-se observar um pico de ação em 24 horas e uma queda do colesterol plasmático após 48 horas do uso da droga²³.

Apesar de diversos estudos usarem o Triton WR 1339 como meio de induzir hipercolesterolemia em ratos, não foram encontrados trabalhos na literatura que definam com clareza a variação dos níveis plasmáticos de colesterol por longos períodos.

No presente estudo, a indução de hipercolesterolemia através do Triton WR 1339 mostrou ser eficaz em ratos, com pico em 72 horas da aplicação da droga. Após esse período houve queda dos níveis para valores comparáveis aos basais, o que pode induzir a erros em pesquisas com agentes hipocolesterolemiantes por um tempo maior que três dias da utilização do medicamento. Merece destaque o fato de que ao longo do estudo houve morte de 10 animais, apontando para uma menor sobrevida após a aplicação da droga, o que pode ser um fator limitante para futuros estudos que utilizem esse modelo de indução de hipercolesterolemia por longos períodos.

REFERÊNCIAS

1. Kim HY, Jeong da M, Jung HJ, Jung YJ, Yokozawa T, Choi JS. Hypolipidemic effects of *Sophora flavescens* and its constituents in poloxamer 407-in-

- duced hyperlipidemic and cholesterol-fed rats. *Biol Pharm Bull*2008 Jan;31(1):73-8.
2. Devi R, Sharma DK. Hypolipidemic effect of different extracts of *Clerodendron colebrookianum* Walp in normal and high-fat diet fed rats. *J Ethnopharmacol*2004 Jan;90(1):63-8.
3. Okazaki M, Suzuki M, Oguchi K. Changes in coagulative and fibrinolytic activities in Triton WR-1339-induced hyperlipidemia in rats. *Jpn J Pharmacol*1990 Feb;52(2):353-61.
4. Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA, Kelley JL, Nerem RM. The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. *Clin Cardiol*1991 Feb;14(2 Suppl 1):11-16.
5. Werner N, Nickenig G. Endothelial progenitor cells in health and atherosclerotic disease. *Ann Med*2007;39(2):82-90.
6. Bahramikia S, Yazdanparast R. Effect of hydroalcoholic extracts of *Nasturtium officinale* leaves on lipid profile in high-fat diet rats. *J Ethnopharmacol*2008 Jan 4;115(1):116-21.
7. Ardestani A, Bahramikia S, Yazdanparast R. *Nasturtium officinale* reduces oxidative stress and enhances antioxidant capacity in hypercholesterolemic rats. *Chem Biol Interact*2008 Apr 15;172(3):176-84.
8. Catanozi S, Rocha JC, Nakandakare ER, Passarelli M, Mesquita CH, Silva AA, et al. The rise of the plasma lipid concentration elicited by dietary sodium chloride restriction in Wistar rats is due to an impairment of the plasma triacylglycerol removal rate. *Atherosclerosis*2001 Sep;158(1):81-6.
9. Watts GF, Jackson P, Mandalia S, Brunt JN, Lewis ES, Coltart DJ, et al. Nutrient intake and progression of coronary artery disease. *Am J Cardiol*1994 Feb 15;73(5):328-32.
10. Seok SH, Park JH, Cho SA, Choi SA. Cholesterol lowering effect of SG-GN3, the extract of salted and fermented small shrimps, *Acetes japonicus*, in Triton WR-1339 or high cholesterol-diet induced hypercholesterolemic rats. *J Ethnopharmacol*2004 Apr;91(2-3):231-5.
11. Sato K AY, Kimura S, Horiguchi M. Species differences between chicks and rats in inhibition of lipoprotein hydrolysis by Triton WR-1339. *Comp Biochem Physiol C Pharmacol Toxicol Endocrinol* 1995 Nov;112(3):315-9.
12. Kourounakis AP, Victoratos P, Peroulis N, Stefanou N, Yiangou M, Hadjipetrou L, et al. Experimental hyperlipidemia and the effect of NSAIDs. *Exp Mol Pathol*2002 Oct;73(2):135-8.
13. Okunevich IV, Ryzhenkov VE. [Anti-atherosclerotic action of mildronate in experiment]. *Patol Fiziol Eksp Ter*2002 Apr-Jun(2):24-7.
14. Horak J, Cuparencu B, Horak A. Acute effects of zopiclone on blood glucose level and serum lipids in hyperlipidemic rats. Interactions with PK 11195 and flumazenil. *Acta Physiol Hung*2000;87(2):185-92.
15. Hoffman A, Lomnický Y, Luria MH, Gilhar D, Friedman M. Improved lipid lowering activity of bezafibrate following continuous gastrointestinal administration: pharmacodynamic rationale for sustained release preparation of the drug. *Pharm Res*1999 Jul;16(7):1093-7.
16. Perez C, Canal JR, Romero A, Torres MD. Experimental hypertriglyceridemia and hypercholesterolemia in rats. *Acta Physiol Hung*1999;86(1):57-68.
17. Ara J, Sultana V, Qasim R, Ahmad VU. Hypolipidaemic activity of seaweed from Karachi coast. *Phytother Res*2002 Aug;16(5):479-83.
18. Amrani S, Harnafi H, Bouanani Nel H, Aziz M, Caid HS, Manfredini S, et al. Hypolipidaemic activity of aqueous *Ocimum basilicum* extract in acute hyperlipidaemia induced by triton WR-1339 in rats and its antioxidant property. *Phytother Res*2006 Dec;20(12):1040-5.
19. Lomnický Y, Friedman M, Luria MH, Raz I, Hoffman A. The effect of the mode of administration on the hypolipidaemic activity of niacin: continuous gastrointestinal administration of low-dose niacin improves lipid-lowering efficacy in experimentally-induced hyperlipidaemic rats. *J Pharm Pharmacol*1998 Nov;50(11):1233-9.
20. Goldfarb S. Rapid increase in hepatic HMG CoA reductase activity and in vivo cholesterol synthesis after Triton WR 1339 injection. *J Lipid Res*1978 May;19(4):489-94.
21. Olson B, Schneeman BO. Alimentary lipemia is enhanced in fiber-fed rats. *J Nutr*1998 Jun;128(6):1031-6.
22. Humaloja K, Roine RP, Salaspuro M. Effects of Triton WR 1339 and orotic acid on biliary and serum dolichols in rats. *Metabolism*1998 Jun;47(6):644-9.
23. Xie W, Wang W, Su H, Xing D, Cai G, Du L. Hypolipidemic mechanisms of *Ananas comosus* L. leaves in mice: different from fibrates but similar to statins. *J Pharmacol Sci*2007 Mar;103(3):267-74.