

AVALIAÇÃO DO EFEITO DO VENENO DE ESCORPIÕES DA FAMÍLIA BUTHIDAE SOBRE O TUMOR ASCÍTICO DE EHRLICH *IN VIVO*

Jenifer do Espírito Santo Alvim¹; Fábio Henrique Kwasniewski²

Estudante do curso de Ciências Biológicas; e-mail: jenalvim@gmail.com¹

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: fhkwas@uol.com.br²

Área do conhecimento: Imunologia

Palavras chave: antitumoral, tumor de Ehrlich, *Tityus bahiensis*, *Tityus serrulatus*

INTRODUÇÃO

O ensaio em modelos biológicos de substâncias obtidas a partir de seres vivos insere-se na bioprospecção que, embora não seja uma atividade nova, tem recebido bastante atenção ultimamente. Graças ao conhecimento acumulado sobre os efeitos em organismos ou culturas celulares, de substâncias coletadas da natureza, produtos de valor comercial foram obtidos e alguns estão em produção ou aguardam testes clínicos. Um exemplo é o anti-hipertensivo captopril, desenvolvido a partir da observação do efeito hipotensor do veneno da serpente brasileira *Bothrops jararaca*. Existem poucos estudos com venenos de aracnídeos (aranhas e escorpiões), mas há interesse neles devido principalmente às neurotoxinas e sua ação sobre canais iônicos, e nos antibióticos encontrados na hemolinfa das aranhas. Embora existam, são poucos os estudos com esses venenos sobre outros sistemas, como, por exemplo, o sistema imune. Em relação à ação do veneno de escorpião sobre o sistema imune, merece destaque a margatoxina, isolada do escorpião *Centruroides margaritatus*, bloqueia a ativação de linfócitos T humanos. Promissoras descobertas em bioprospecção vêm do estudo da fisiopatologia do envenenamento com animais peçonhentos, uma vez que pode desvendar ações importantes do veneno. Uma observação sobre os produtos obtidos de venenos, e fica evidente que os dados colhidos a partir dos estudos em fisiopatologia, farmacologia e imunofarmacologia foram decisivos para que esforços fossem concentrados para isolar uma toxina e avaliar seu potencial.

Há fortes indícios da participação da inflamação no envenenamento por escorpiões do gênero *Tityus*. Admite-se que ocorra uma inflamação sistêmica em animais envenenados com o veneno do *T. serrulatus* devido aos elevados níveis circulantes de IL-1 α , IL-1 β , IFN- γ , IL-6 (Petricevich & Peña, 2002).

O veneno do escorpião *T. serrulatus* também promove a ativação e produção de citocinas por macrófagos. Além de aparentemente importantes no escorpionismo, essas células são importantes na resposta imunológica, os macrófagos podem participar da imunidade contra tumores e impedir o surgimento de metástases. O tumor de Ehrlich é frequentemente escolhido para a investigação de drogas ou substâncias com potencial antitumoral, pois é um tumor agressivo de fácil crescimento em animais receptores. Sobre o tumor de Ehrlich foi avaliada a ação de venenos de serpentes. Foi demonstrado que o veneno da *Bothrops jararaca* (da Silva e cols., 2002) possui importante atividade antitumoral. Ao menos um veneno de um escorpião da família Buthidae (o asiático *Buthus martensi*), demonstrou possuir uma ação antitumoral sobre glioma (Wang e Xi, 2005).

OBJETIVOS

O objetivo geral do projeto foi avaliar se os venenos de escorpiões da família Buthidae de nossa fauna (*T. serrulatus* e *T. bahiensis*) têm atividade antitumoral, utilizando o tumor ascítico de Ehrlich como modelo. O objetivos específicos foram avaliar o ganho de peso e a sobrevida dos animais.

METODOLOGIA

Utilizamos camundongos Swiss machos entre 30 e 38 g. O TAE (5×10^6 células) foi administrado por via intraperitoneal (ip) e 24 hs depois 200 µg/kg de vTs ou vTb (em volume fixo de 300 µL) foram administrados ip. Um outro grupo no qual 24 hs após o TAE as injeções dos venenos foram substituídas por 300 µL de PBS e repetidas a cada 5 dias também foi realizado. Adicionalmente, um grupo no qual 300 µL de PBS substituindo o TAE e 300 µL de PBS substituindo os venenos foi realizado. Diariamente os animais eram observados para a avaliação da sobrevida, e o peso dos animais medido a cada 5 dias. Grupos controle foram constituídos de animais nos quais o TAE foi administrado e após 24 injeções repetidas de PBS a cada 5 dias no mesmo volume que os venenos; e um grupo no qual apenas PBS no mesmo volume que o TAE e posteriormente e a cada 5 dias, PBS 300 µL.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os animais do grupo 1 (PBS) apresentaram evolução de peso e sobrevida dentro das características esperadas, ou seja, mantiveram um ganho de peso considerado normal e sobreviveram até o 30º dia. Já o grupo Tumor + PBS, apresentou um aumento de peso do animal, a partir do 5º dia e esse ganho de peso continuou até o 17º dia quando os animais morreram. Em relação à sobrevida dos animais, nesse grupo as mortes começaram a ocorrer a partir do 11º dia. Nesse dia 20% dos animais morreram, no 12º dia mais 50% dos animais restantes morreram, e as mortes continuaram diariamente até o 17º dia, quando o último animal morreu (Figura 1).

Os animais que receberam as doses seguidas do vTb ou do vTs, iniciando esse tratamento 24 horas após o PBS, também ganharam peso, que se tornou significativo após o 15º dia de experimento, como no grupo 1. Quanto à sobrevida foi notado que os animais que receberam o vTb continuaram vivos até o último dia de avaliação, comportando-se, mais uma vez como os animais do grupo 1, entretanto no grupo que recebeu o vTs alguns animais morreram (2 no total), o que teve início no décimo dia.

O vTb administrado periodicamente após o TAE teve um efeito indesejado nos primeiros dias pois nesse grupo houve a morte de 2 animais até o quinto dia, o que não havia ocorrido no grupo que recebeu o TAE mas não foi tratado com o veneno. No entanto o vTb retardou o efeito letal do TAE entre o 12º e o 16º dias, e os últimos animais morreram 1 dia após (18º dia) aqueles que não receberam o veneno.

O vTs também influenciou a sobrevida dos animais com TAE, a primeira morte nesse grupo (TAE+vTs) ocorreu 5 dias após as primeiras mortes do grupo com TAE, e 15 dias após do que no grupo TAE+vTb. Outro resultado aparentemente positivo foi que o último animal do grupo TAE+vTs morreu 3 dias após o último do grupo TAE.

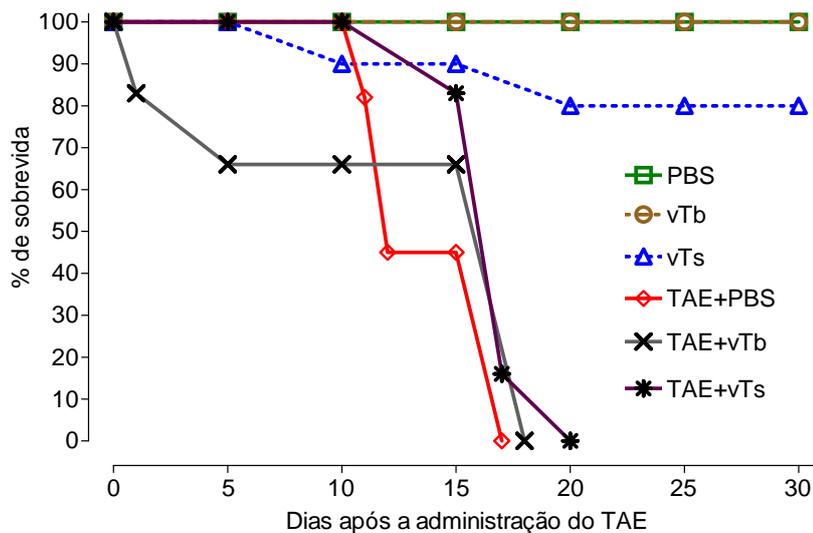


Figura 1: Sobrevida dos animais. O significado de cada grupo pode ser encontrado na metodologia, e a sobrevida foi acompanhada diariamente até o 30º dia.

O primeiro grupo analisado apresentou características esperadas, pois os animais do grupo PBS, que eram animais saudáveis, bem alimentados e tratados apenas com uma solução inóqua (PBS) sobreviveram até o 30º dia e tiveram um ganho de peso considerado normal. Já o grupo TAE+PBS, apresentou um aumento de peso do animal, pois o tumor ascítico desencadeia grande acúmulo de líquido no peritônio do animal, o que foi refletido no peso do animal. O tumor de Ehrlich, na quantidade utilizada, é agressivo e mata os animais rapidamente, o que de fato ocorreu, lembrando que em torno no 17º dia não havia mais sobreviventes nesse grupo. Embora as doses dos venenos utilizadas por nós nesse estudo não sejam letais aos animais quando administradas em uma única vez, o tratamento crônico com o vTs mostrou-se letal para parte dos animais. É sabido que esse veneno induz alterações importantes, como arritmia, taquicardia, vômitos, tetania, tremores, salivação, convulsões, hipertermia, hipertensão ou hipotensão arterial, edema pulmonar, choque e a morte por falência respiratória, o que muito provavelmente contribuiu para a morte dos animais, principalmente quando administrado repetidamente. Além disso, a inflamação sistêmica com produção de citocinas (Petricevich & Peña, 2002) também pode ter sido o determinante da morte dos animais.

O vTb não promoveu a morte dos animais quando administrado cronicamente, no entanto, antecipou o início de mortes em animais inoculados com o TAE e que passaram a ser tratados com o vTb, para o que não temos explicação. Quando avaliamos a sobrevida dos animais com TAE que foram submetidos ao tratamento crônico com os venenos notamos que ambos, vTb e vTs, aumentaram a sobrevida dos animais, em especial o vTs. É possível que a ativação de macrófagos que é promovida pelo vTs (Petricevich, 2002) tenha sido importante no controle da agressividade do TAE e, uma vez que o vTb e o vTs exibem características bioquímicas similares, por exemplo, o peptídeo mais abundantemente isolado do vTb guarda similaridade de 95% com a toxina gama, isolada do vTs (Becerril e cols., 1996). Existe ainda uma reatividade cruzada quando o vTb e o vTs reagem com anti-soro produzido contra o vTs, mostrando novamente uma grau de similaridade entre as toxinas encontradas nos dois venenos (Nishikawa e cols., 1994; Becerril e cols., 1996).

No ano de 2005 um grupo de pesquisadores da China avaliaram os efeitos do veneno do escorpião *Buthus martensi* em células tumorais do glioma., *in vivo* e *in vitro*, e obtiveram resultados satisfatórios em relação à diminuição do tumor em ambos. Apesar dos *Tityus* pertencerem a mesma família de *Buthus martensi*, nossos resultados não foram tão marcantes quanto os reportados por Wang e Xi (2005). O tumor utilizado como modelo neste trabalho foi um tumor espécie-específico de camundongo e estava na forma ascítica, este difere do glioma, que é um tumor cerebral primário originado de células auxiliares do cérebro chamadas células gliais. Além disso, testamos os efeitos dos venenos frente a uma dose alta do TAE, visto que em 15 dias o tumor matava todos os animais. Talvez inoculando-se menos tumor nos animais conseguiríamos resultados melhores da eficácia dos venenos.

CONCLUSÃO

Os venenos utilizados exerceram alguma atividade contra o TAE ou seus efeitos no organismo, que prolongou a sobrevivência dos animais, muito embora não tenham conseguido impedir o estabelecimento do tumor e nem o seu resultado final, ou seja, a morte dos animais.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECERRIL, B. e cols. Toxic peptides and genes encoding toxin □ of the Brazilian scorpions *Tityus bahiensis* and *Tityus stigmurus*. **Biochem. J.** **313(Pt 3)**:753-60, 1996.

PETRICEVICH, V.L. & PEÑA, C.F. The dynamics of cytokine and nitric oxide secretion in mice injected with *Tityus serrulatus* scorpion venom. **Mediators Inflamm.**, **11 (3)**: 173-80; 2002.

NISHIKAWA, A.K. e cols. Antigenic cross-reactivity among the venoms from several species of Brazilian scorpions. **Toxicon**, **32 (8)**: 989-98; 1994.

SILVA, R.J. e cols. Antitumor effect of *Bothrops jararaca* venom., **Mediators Inflamm.** **11 (2)**: 99-104, 2002.

WANG, W-X. e Ji, Y-H. Scorpion venom induces glioma cell apoptosis *in vitro* and inhibits glioma tumor growth *in vivo*. **J. Neuro-Oncol.**, **73**: 1-7, 2005