

## **A AÇÃO DE UM NOVO PROTÓTIPO A FÁRMACO CARDIOTÔNICO (LASSBio 294) SOBRE O SISTEMA CARDIOVASCULAR DE CÃES**

Andréa Cintra Bastos TÔRRES<sup>1</sup>; Rosângela de Oliveira Alves CARVALHO<sup>2</sup>; Patrícia Nunes de OLIVEIRA<sup>3</sup>; Moisés Caetano e SOUZA<sup>3</sup>; Renata Carolina de Oliveira Lopes BRASIL<sup>3</sup>; Priscilla Regina NASCIUTTI<sup>3</sup>; Rodrigo Vieira MUNIZ<sup>4</sup>; Saura Nayane de SOUZA<sup>5</sup>; Ana Paula Araujo COSTA<sup>5</sup>; Gabriel Costa JACOBINA<sup>5</sup>.

1. Escola de Veterinária e Zootecnia – UFG/GO - Aluna de doutorado: [a\\_cbt@yahoo.com.br](mailto:a_cbt@yahoo.com.br); 2. Escola de Veterinária e Zootecnia – UFG/GO – Professor Adjunto de Clínica Médica Animal: [rosangela2210@gmail.com](mailto:rosangela2210@gmail.com); 3. Escola de Veterinária e Zootecnia – UFG/GO - Alunos de graduação; 4. Médico veterinário; 5. Escola de Veterinária e Zootecnia – UFG/GO – Alunos de Mestrado.

**Palavras chave: ecocardiograma, inotrópico positivo, vasodilatador**

### **INTRODUÇÃO**

A insuficiência cardíaca humana é hoje reconhecida como um problema importante e crescente de saúde pública (ROSSI NETO, 2004). Da mesma forma, a prevalência das cardiopatias nos pequenos animais também está crescendo, principalmente porque a expectativa de vida dos animais de companhia aumenta a cada ano (SOARES & LARSSON, 2003)

A terapia geralmente empregada para o tratamento dos sinais de insuficiência cardíaca inclui o uso de fármacos com efeitos inotrópicos positivos como glicosídeos cardíacos, combinados com diuréticos. Além destes cardiotônicos que parecem atuar sobre a  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ , fármacos inibidores da enzima conversora de angiotensina (ECA), antagonistas de receptores de angiotensina, antagonistas de canais de cálcio e antagonistas adrenérgicos também são empregados. Infelizmente o uso dos glicosídeos cardiotônicos tem sido restrito, em função de seus efeitos pró-arritmogênicos e do reduzido índice terapêutico que possuem (BARREIRO, 2002). Diante disto, vários pesquisadores vêm estudando moléculas com o intuito de produzir novos fármacos que possam ser úteis no tratamento das doenças cardíacas.

Recentemente um novo protótipo a fármaco (LASSBio294) capaz de promover efeitos vasodilatadores e inotrópicos positivos combinados, foi desenvolvido pelo Laboratório de Avaliação de Substâncias Bioativas (LASSBio) da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ) com a colaboração do Laboratório de Bioconversão da Faculdade de Farmácia-UFG.

O envolvimento do  $\text{Ca}^{+2}$  miofibrilar e da isoforma cardíaca da fosfodiesterase três (PDE3), que apresenta a mesma afinidade para ambos os nucleotídeos cAMP e cGMP (monofosfato cíclico de adenosina e guanosina), tem antecipado a possibilidade de tratamento da insuficiência cardíaca congestiva com inibidores desta isoforma, capazes de promover efeitos combinados vasodilatadores e inotrópicos positivos (KAGIMOTO *et al.*, 1997). E com bioensaios os resultados obtidos indicaram que LASSBio294 foi capaz de induzir intenso relaxamento, concentração-dependente, em anéis isolados e intactos de aorta de ratos, e estes sugerem, que o mecanismo de ação pode estar relacionado com a inibição de PDEs (BARREIRO *et al.*, 2002; SILVA *et al.*, 2002). O efeito inotrópico positivo do LASSBio294 também foi comprovado a partir de estimulação elétrica de tecido cardíaco de ratos, onde as fibras de átrio, de músculos papilares e de ventrículos foram isoladas, tratadas com diferentes concentrações do LASSBio294 e monitoradas eletrocardiograficamente antes e após o tratamento, observando um significativo incremento na contração desses tecidos após a perfusão com o composto sem causar alterações de condução e nem arritmias (SUDO *et al.*, 2001).

Face ao atraente perfil farmacológico identificado para este protótipo cardioativo, realizou-se uma investigação de seu perfil toxicológico, em ratos e em cães e os resultados obtidos não evidenciaram nenhuma reação de toxicidade aguda (BARREIRO, 2002). No presente estudo propôs-se os testes *in vivo* em cães, com o objetivo de determinar a os efeitos do fármaco sobre o sistema cardiovascular, tendo como exemplo o pimobendan, um fármaco já utilizado no tratamento da insuficiência cardíaca de cães, que também possui propriedades inotrópicas e vasodilatadoras, mas com efeitos pró-arritmogênicos (KITZEN & WINBURY, 1989).

**MATERIAL E MÉTODOS** : O experimento foi realizado com cinco cães, adultos, da raça beagle, fêmeas e clinicamente saudáveis. Foram alimentados com Ração Natural Guabi Cães Adultos® com fornecimento em duas refeições, e fornecimento de água à vontade. Toda a metodologia empregada obedeceu aos preceitos do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal e o projeto já foi submetido e aprovado (PROTOCOLO Nº 074/10) pelo Comitê de Ética da Universidade Federal de Goiás.

Na primeira fase de experimentação todos os cães receberam uma dose de 2mg/kg de LASSBio294, por via oral. Os animais foram submetidos à coleta de sangue

com anticoagulante; sem anticoagulante e de urina; à realização dos exames ecodopplercardiográficos, eletrocardiográficos e mensuração da pressão arterial. Na segunda e terceira fases de experimentação todos os cães receberam uma dose de 5mg/kg e 10mg/kg respectivamente, de LASSBio294, por via oral, e foram submetidos às mesmas avaliações anteriormente citadas.

As coletas de sangue para hemograma e bioquímicas e coletas de urina foram realizadas antes e após 24 horas de administração do LASSBio 294. As avaliações ecodopplercardiográficas, eletrocardiográficas e mensuração da pressão arterial foram realizadas antes e após a administração da molécula nos tempos: duas, quatro, seis, doze e vinte e quatro horas. O intervalo entre as três fases do experimento foi de sete dias. Os dados foram submetidos Análise de Variância (ANOVA) para medidas repetidas, seguida do teste de Student-Newman-Keuls para comparação ao longo dos momentos dentro de cada grupo e ANOVA de uma via para comparação entre os grupos em cada momento. Para os dados que não apresentaram distribuição normal, empregou-se o teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Student-Newman-Keuls (significância de 5%).

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

Durante as fases experimentais os animais não apresentaram nenhuma alteração clínica ou de comportamento e as avaliações laboratoriais realizadas mantiveram todas dentro dos parâmetros normais sem diferenças significativas, corroborando com os achados preliminares de toxicologia de BARRETO (2002), que descreveu não ter encontrado alteração nas enzimas e metabólitos mensurados.

As avaliações ecodopplercardiográficas não apresentaram nenhuma alteração durante os tempos de avaliação e nem entre os grupos, diferente dos achados descritos por SILVA et al. (2002) que mostraram que este composto promoveu relaxamento de aortas isoladas de ratos e também diferindo dos achados de SUDO et al.(2001), que relatam que o uso desse protótipo em tecidos cardíacos de ratos isolados demonstrou efeito inotrópico positivo, observando um significativo incremento na contração de fibras de átrio, de músculos papilares e de ventrículos isoladas após a perfusão com o composto, sendo ainda este incremento na contratilidade dose-dependente.

Durante as avaliações eletrocardiográficas, após administração do LASSBio294, nenhuma cadela apresentou anormalidades de ritmo, corroborando com o descrito por SUDO et al., (2001), que perfundiou tecido cardíaco de ratos em LASSBio294 e observou significativo incremento na contração desses tecidos sem causar alterações de condução e nem arritmias, diferindo de outros compostos com ação terapêutica semelhante como os digitálicos que podem provocar arritmias (SPINOSA et al., 2006).

Quanto às variáveis avaliadas ao eletrocardiograma não foi observada diferença estatística entre os tempos dentro dos grupos nem entre os grupos, diferindo de um estudo com fármaco de ação terapêutica semelhante feito por Kitzen, J. M. & Winbury, M. M.(1989) que observaram redução progressiva da duração do intervalo PR em cães anestesiados submetidos ao uso de Pimobendan na dose de 1,0mg/Kg, sendo que esta redução foi mantida até quatro horas após a administração do fármaco. Exceto para a duração do intervalo QT, que observou aumento significativo para os animais que receberam a dose de 2 mg/Kg, nos tempos duas, quatro, seis, 12 e 24 horas em relação ao tempo zero, e diminuição do intervalo QT nos tempos 12 e 24 horas quando comparados com o tempos, duas, quatro e seis horas, diferente ao observando no mesmo estudo com o fármaco Pimobendan de ação terapêutica semelhante (Kitzen, J. M. & Winbury, M. M., 1989) no qual ocorreu diminuição significativa do intervalo QT após trinta minutos da administração de 1,0 mg/Kg, sendo que esta foi mantida durante todo o período de observação.

Na avaliação da pressão arterial sistólica foi observada diminuição significativa dentro do grupo 2mg/Kg, em relação ao basal e os tempos de quatro ( $p=0,010$ ), seis ( $p=0,018$ ) e vinte quatro ( $p=0,045$ ) horas, porém os valores nos tempos de quatro (107,07mmHg) e seis (109,07mmHg) horas tiveram médias discretamente abaixo dos parâmetros considerados normais para a espécie em questão (TILLEY & GOODWIN, 2002). Pode-se assim, confirmar o potencial vasodilatador do LASSBio294 em cães da raça Beagle saudáveis, além da sua segurança, já que não foi observada hipotensão. Efeitos similares foram observados por THOMASON & FALLOW (2007) que, utilizando o Pimobendan em cães com insuficiência cardíaca congestiva não observaram hipotensão arterial ou qualquer queda na pressão arterial sistólica quando o fármaco foi adicionado a monoterapia com inibidores da ECA. Porém, para as doses de 5mg/Kg e

10mg/kg, não foram observadas diferenças significativas ao longo do tempo em cada grupo, nem entre os diferentes grupos para pressão arterial sistólica. Mostrando que o LASSBio294, possivelmente não apresenta efeito dose-dependente, diferentemente do observado por SUDO et al. (2001) que comprovaram que o incremento na contratilidade cardíaca em corações isolados de ratos Wistar, foi dose-dependente.

**CONCLUSÕES:** Diante dos resultados obtidos e das condições em que este experimento foi realizado, pode-se concluir que a administração via oral do protótipo a fármaco LASSBio294, nas diferentes doses, não causaram efeitos colaterais e nem arritmias em cães da raça Beagles hípidos, demonstrando que o protótipo a fármaco é seguro. Contudo, foi observada discreta queda da pressão arterial sistólica na dose de 2mg/Kg, indicando vasodilatação. E apesar de não apresentar melhora na função de contração cardíaca, acredita-se que com o uso contínuo possa observar resultados mais promissores, uma vez que a resposta clínica de medicações de mesma classe terapêutica só é possível após um período de administração.

#### **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

- BARREIRO, E. J. Estratégia de simplificação molecular no planejamento racional de fármacos: a descoberta de novo agente cardioativo. **Química Nova**. Rio de Janeiro, v.25, n. 6B, p.1172-1188, 2002.
- BARREIRO, E.J.; FRAGA, C.A.M.; MIRANDA, A.L.P.; RODRIGUES, C.R. Química medicinal de n-acilidrazonas: novos compostos-protótipos de fármacos analgésicos, antiinflamatórios e anti-trombóticos. **Química Nova**. Rio de Janeiro, v. 25, n.1, p. 129-148, 2002.
- KAGIMOTO, K.; HAGIWARA, N.; KASANUKI, H.; HOSODA, S. Contribution of phosphodiesterase isozymes to the regulation of the L-type calcium current in human cardiac myocytes. **British Journal of Pharmacology**. Tokyo, v. 121, p.1549-1556, 1997.
- KITZEN, J.M.; WINBURY, M.M. Pimobendan. **Cardiovascular Drug Reviews**. New York, v.6, n.4, p.265-291, 1989.
- ROSSI NETO, J. M. A dimensão do problema da insuficiência cardíaca do Brasil e do mundo. **Revista da Sociedade de Cardiologia do Estado de São Paulo**. v.14, n.1, p. 1-10, 2004.
- SILVA, C.L.M.; NOEL, F.; BARREIRO, E.J. Cyclic GMP-dependent vasodilatory properties of LASSBio 294 in rat aorta. **British Journal of Pharmacology**. Rio de Janeiro, v. 135, p. 293-298, 2002.
- SOARES, E.C.; LARSSON, M.H.M.A. Aspectos clínicos-epidemiológicos da doença valvar crônica. **Revista Brasileira de Ciência Veterinária**. Niterói, v.10, n.1, p.3-9, 2003.
- SPINOSA, H. S.; GORNIK, S.L.; BERNARDI, M.M. **Farmacologia aplicada a Medicina veterinária**. 4.ed. Rio de Janeiro: Guanabara, p.897, 2006.
- SUDO, R.T.; ZAPATA-SUDO, G.; BARREIRO, E.J. The new compound, LASSBio 294, increases the contractility of intact and saponin-skinned cardiac muscle from Wistar rats. **British Journal of Pharmacology**. Rio de Janeiro, v. 134, p. 603-613, 2001.
- TILLEY, L.P.; GOODWIN, J.K. **Manual of canine and feline cardiology**. 3.ed. Philadelphia: W.B. Saunders, p.337-344, 2002.
- THOMASON, J.D.; FALLAW, T.K.; CALVERT, C. Pimobendan treatment in dogs with congestive heart failure. **Veterinary Medicine**. v. 102, p.736 , 2007.