

TRATAMENTO COM PIOGLITAZONA EM CAMUNDONGOS KNOCKOUT TLR4^{-/-} INOCULADOS COM TUMOR LEWIS LUNG CARCINOMA: POSSÍVEL EFEITO ANTI-CAQUEXIA

Kaltinaitis Benetton Nunes Hypolito dos Santos¹, Sidney Barnabé Peres²,
Miguel Luiz Batista Júnior³

Estudante do Curso de Biomedicina; e-mail: Kaltinaitis@hotmail.com¹.

Professor da Universidade Estadual de Maringá; e-mail: sbperes@gmail.com²

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: migueljr4@me.com³

Área do Conhecimento: Fisiologia de Órgãos e Sistemas

Palavras-chave: Câncer; Caquexia; Pioglitazona; Tecido Adiposo

INTRODUÇÃO

Portanto como a caquexia é uma síndrome que, uma vez estabelecida não tem terapia que a reverta, nas últimas décadas vêm se estudando uma nova classe de fármacos que têm por característica atenuar os efeitos deletérios no TAB. Neste aspecto, recentemente, as Tiazolidinedionas (TZDs) tem se destacado, tanto por seus efeitos lipogênicos como por seus possíveis efeito anti-caquético. Estudos anteriores do nosso grupo utilizando a Pioglitazona no tratamento da síndrome da caquexia em ratos demonstraram que houve um efeito de preservação dos estoques de gorduras nos estágios iniciais e o aumento do tempo de sobrevivência dos animais e o tratamento foi capaz de reduzir a massa tumoral, sugerindo desse modo um possível tratamento. Havendo um efeito benéfico sobre a síndrome, optou se então para a utilização do mesmo tratamento em animais knockout TLR4 inoculados com células tumorais LLC (Lewis Lung Carcinoma), sendo esse um dos modelos mais usado e já caracterizado de câncer para indução da caquexia, estudos demonstram que os animais knockout TLR4, apresentam um crescimento da massa tumoral maior quando comparados com animais selvagens (que apresentam essa via ativa) (LEE et. al, 2010) corroborando com resultados já encontrados pelo nosso grupo usando o mesmo modelo (dados não publicados).

OBJETIVOS

Avaliar a evolução do tratamento com Pioglitazona em animais com caquexia induzida pelo tumor Lewis Lung Carcinoma (LLC), por meio de acompanhamento temporal do desenvolvimento do quadro de caquexia e peso da massa tumoral final.

METODOLOGIA

Desenho do experimento: Para avaliar as alterações do tecido adiposo associadas ao tratamento com a Pioglitazona em C57BL/6 TLR4^{-/-} inoculados com tumor LLC (Lewis Lung Carcinoma) na quantidade 0,25mL de solução contendo 2.5×10^5 células viáveis, suspensas em PBS, pH 7,4. os animais foram divididos em dois grupos experimentais: i) Tumor mais Pioglitazona (TB-P); ii) Tumor mais Solução Salina (TB-S) e iii) Controle sem tumor. Foi administrado 0,5mL de solução salina 0,9% DMSO 0,1% no grupo TS (a mesma solução em que foi suspenso o fármaco para administração ao grupo TP) via gavagem orogástrica. Enquanto, o grupo TP foi tratado

com 5 mg/kg/dia de Pioglitazona também via gavagem orogástrica. Os animais foram sacrificados, após 30 dias estipulados para o tratamento.

Controle da massa corporal: A massa corporal foram aferidos com intervalos de 2 dias, no mesmo horário, ao longo dos 30 dias do período experimental em balança de precisão.

Obtenção do soro: No dia anterior ao sacrifício os animais foram submetidos a jejum alimentar de 12 horas, em seguida eutanasiados por decapitação sem anestesia. O sangue coletado foi centrifugado à 2000 rpm à 4°C por 20 minutos, alicotados e estocados em freezer -20°C para posterior análise.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a síndrome caquexia o peso é o principal marcador clínico (ARGILLÉS *et al*, 2008), desta forma a massa corporal dos animais foram aferidas com intervalos de um dia, durante 30 dias de experimento. É possível observar na Figura 1 a relação dos pesos entre os animais do grupo tratado com Pioglitazona e os do grupo controle, no decorrer dos 30 dias de experimento.

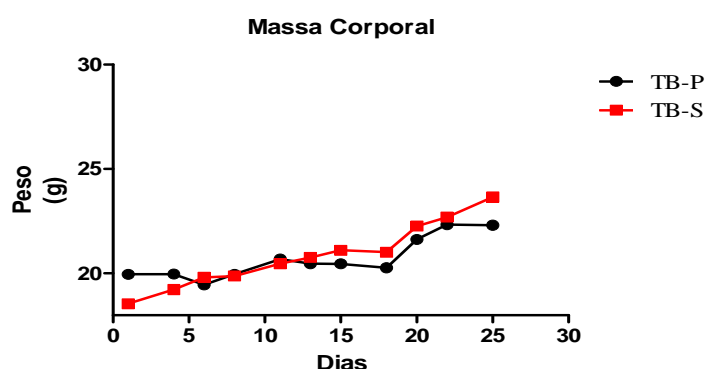


Figura 1 - Acompanhamento da variação da massa corporal dos camundongos durante a vigência do tratamento com Pioglitazona.

De acordo com a Figura 1, pode-se observar que no grupo tratado o ganho de peso não apresentou diferença significativa em ambos os grupos. O grupo tratado mostrou uma discreta diminuição na massa corporal comparada com seu respectivo controle, porém não significativa. Desta forma é possível observar que não houve diferença estatística quando comparamos os dois grupos, evidenciou-se que ainda houver crescimento da massa tumoral, desta forma a Pioglitazona não demonstrou um efeito anti-caquexia.

O tecido adiposo branco é o principal alvo da caquexia, por isso, após a decorrido o tempo de 30 dias houve a eutanásia dos animais e os tecidos dos estoques retroperitoneal e mesentérico foram coletados e pesados ao 30 dia após a inoculação do tumor. Coletou-se também o fígado e procedeu-se à pesagem.

Nas figuras a seguir pode-se observar a relação dos pesos teciduais e o fígado dos animais tratados com a Pioglitazona, com a Solução Salina e um grupo Controle sem tumor. Em estado caquético, usando a Pioglitazona em uma tentativa de preservação dos estoques de gordura não houve uma preservação dos tecidos. É possível verificar, também, que em todos os tecidos, os grupos tratados com o fármaco não apresentaram um ganho de peso significativo do que os grupos controle.

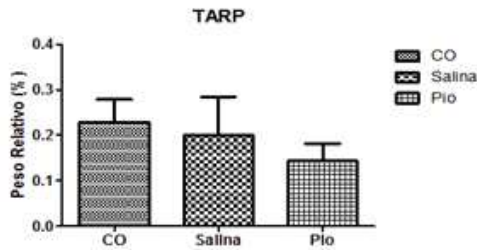


Figura 2 - Peso relativo dos estoques de tecido adiposo branco retirados dos camundongos no 30º dia após inoculação do tumor comparado com seus respectivos controles. Os resultados representam médias (n=5) ± erro padrão. Anova one way com pós-teste de Tukey, para * $p < 0,05$.

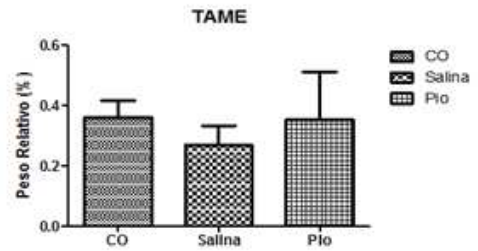


Figura 3 - Peso relativo dos estoques de tecido adiposo branco retirados dos camundongos no 30º dia após inoculação do tumor comparado com seus respectivos controles. Os resultados representam médias (n=5) ± erro padrão. Anova one way com pós-teste de Tukey, para * $p < 0,05$.

CONCLUSÕES

Se por um lado a Pioglitazona foi capaz de reduzir a massa tumoral, preservar os estoques de gordura e aumentar a sobrevivência partimos então desta hipótese e testamos nos animais knockout TLR4 e comprovamos que o tratamento com pioglitazona não foi eficaz em aumentar a sobrevivência neste modelo e tão pouco preservar os estoques de gordura e diminuição da massa tumoral.

Sugerindo que um possível tratamento com a pioglitazona não demonstra eficácia durante a vigência da síndrome da caquexia nos animais knockout TLR4.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BATISTA ML JR, NEVES RX, PERES SB, YAMASHITA AS, SHIDA CS, FARMER SR, SEELAENDER M. Heterogeneous time-dependent response of adipose tissue during the development of cancer cachexia. *J Endocrinol.* 2012 Dec;215(3):363-73.

DAY, C. Thiazolidinediones: a new class of antidiabetic drugs. *Diabetic Medicine*, v. 16, n. 3, p. 179-192, 1999. ISSN 1464-5491.

MACHADO A. P. , COSTA ROSA L. F. , SEELAENDER MC. Adipose tissue in Walker 256 tumor-induced cachexia: possible association between decreased leptin concentration and mononuclear cell infiltration. *Cell* 2004 Dec;318(3):503-14.

LEE, C. H., C. L. Wu, et al. (2010). Toll-like receptor 4 signaling promotes tumor growth. *J Immunother* 33(1): 73-82.

TISDALE, M. J. Cachexia in cancer patients. *Nat. Rev. Cancer*, v. 2, p. 862- 871, 2002.

AGRADECIMENTO

CNPQ e FAPESP