

# ANÁLISE DOS EFEITOS ANTICAQUÉTICOS CAUSADOS PELA PIOGLITAZONA EM RATOS WISTAR INOCULADOS COM TUMOR DE WALKER-256

Vanessa Souza Truda<sup>1</sup>; Fernanda Kamimura<sup>2</sup>; Mércia Eliane de Assis Beluzi<sup>3</sup>  
Miguel Luiz Batista Junior<sup>4</sup>

Estudante do Curso de Medicina; e-mail: vanessa52@ig.com.br<sup>1</sup>

Estudante do Curso de Medicina; e-mail: fe\_kami@hotmail.com<sup>2</sup>

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: mercia.beluzi@gmail.com<sup>3</sup>

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: migueljr4@me.com<sup>4</sup>

**Área do Conhecimento:** Fisiologia dos órgãos e sistemas

**Palavras-chave:** Pioglitazona, caquexia, câncer, tecido adiposo branco

## INTRODUÇÃO

O câncer se caracteriza pelo crescimento descontrolado e desordenado das células, sendo a segunda principal causa de morte no mundo (OMS, 2011). Uma variável que contribui para prever a mortalidade pelo câncer é a perda de peso (ARGILLÉS *et al*, 2008). Intimamente relacionada com a perda de peso está a caquexia. Trata-se de uma síndrome multifatorial caracterizada por uma acentuada perda de peso, anorexia, astenia e anemia (FERON *et al*, 2006). Estima-se que a caquexia esteja presente em cerca de 90% dos quadros neoplásicos, atribuindo-se 20% da responsabilidade pelas mortes por câncer (THEODORE & DANIEL, 2011). O tecido adiposo branco (TAB) desempenha um importante papel na caquexia, tendo em vista que secreta citocinas que atuam na distribuição de gordura corporal por meio da adipogênese (TRAYHURN & BING, 2006). O Peroxisome Proliferator-Activated Receptor (PPAR $\gamma$ ) é um importante receptor, presente no tecido adiposo, de derivados de Tiazolidinedionas, mais conhecidos como Pioglitazona, Troglitazona e Rosiglitazona, utilizados no tratamento do *Diabetes Mellitus* do tipo II (DM tipo II) (SHAHIN *et al*, 2011). De acordo com Saiki *et al* (2005), a Pioglitazona apresenta uma propriedade fundamental que corresponde à ativação do PPAR $\gamma$ , acarretando um aumento na transcrição de diversas proteínas dos adipócitos, ocasionando, assim, uma resposta adequada do metabolismo da glicose e do metabolismo lipídico. A Pioglitazona está relacionada ao aumento da massa corporal, devido às ações sobre o processo inflamatório decorrente da Síndrome Metabólica (FUJITAKA *et al*, 2011) e que as Tiazolidinedionas, em geral, estão associadas ao controle da evolução do câncer, por meio da desaceleração no processo de proliferação celular (AL-ALEM *et al*, 2011). Com o intuito de melhorar a expectativa de vida das pessoas acometidas por essa patologia, que se torna a cada ano mais incidente, faz-se necessário compreender de forma mais aprofundada a ação de fármacos que possam intervir positivamente nas comorbidades associadas ao câncer.

## OBJETIVOS

**Objetivo Geral:** Verificar os efeitos anticaquéticos da Pioglitazona nos diferentes estoques de TAB, retroperitoneal (TARP) e subcutâneo (TASC), de ratos Wistar inoculados com tumor de Walter-256. **Objetivos Específicos:** Caracterização do desenvolvimento de alterações no TAB em ratos tratados com Pioglitazona; caracterizar as possíveis alterações no desenvolvimento tumoral; e caracterizar as possíveis alterações bioquímicas.

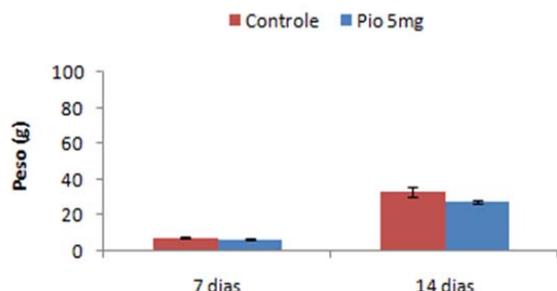
## MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 24 ratos machos (*Rattus norvegicus albinus*) com 6 a 8 semanas de idade da linhagem Wistar (250 – 350 g), obtidos no biotério da Universidade de Mogi das Cruzes (UMC). Os animais foram separados em dois grupos experimentais: i) Tumor mais Pioglitazona (TP) (5 mg/kg/dia de Pioglitazona também via gavagem orogástrica); ii) Tumor mais Solução Salina (TSS) (1,0 mL de solução salina 0,9% DMSO 0,1% por via orogástrica), 7 e 14 dias após o início do tratamento. Cada rato recebeu 1,0 mL de solução contendo  $2 \times 10^7$  células viáveis de Tumor de Walker 256, suspensas em PBS, pH 7,4. Com o objetivo de manter uma cultura *invivo*, as células eram provenientes de ratos previamente inoculados intraperitonealmente. A inoculação ocorreu no flanco direito posterior do animal (SEELAENDER *et al*, 1996; MACHADO *et al*, 2004). A massa corporal e o consumo de ração foram aferidos diariamente, no mesmo horário, ao longo dos 7 e 14 dias do período experimental em balança de precisão (OHAUS® USA). No presente trabalho foram utilizados comprimidos com 30mg de princípio ativo. O pó do comprimido macerado foi suspenso em solução salina: DMSO (cloreto sódio 0,9%, DMSO 0,1%). Após o experimento os animais foram eutanasiados por decapitação, sem anestesia. O sangue foi coletado em tubo plástico para coleta de sangue à vácuo (4mL), com EDTA. Posteriormente, o sangue foi centrifugado a 2000 rpm, por 15 min, à 4°C. O plasma separado foi alíquotado em microtubos e armazenados em freezer -80°C. A concentração plasmática de glicose, triglicerídeos, colesterol total, HDL-colesterol foi realizada a partir de kits comerciais colorimétricos Labtest®. A determinação da concentração plasmática de ácidos graxos livres foi determinada conforme método descrito por Bazin & Ferré (2001). Os dados foram expressos como média  $\pm$  desvio padrão e porcentagens. Para a análise estatística foi utilizado o Teste *t* de Student. O valor adotado para significância foi de 5% ( $p < 0,05$ ).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na caquexia neoplásica o peso é o principal marcador clínico (ARGILLÉS *et al*, 2008), por isso a massa corporal dos ratos foi aferida diariamente, durante 7 e 14 dias de experimento. Como o TAB é o principal alvo da caquexia neoplásica, após a eutanásia dos ratos os tecidos dos estoques subcutâneos e retroperitoneais, bem como o tumor, foram coletados e pesados ao 7º e 14º dias após a inoculação do tumor. Em estado caquético inicial houve uma melhor preservação dos tecidos quando comparado com o estado avançado. É possível verificar, também, que em todos os tecidos, corporal e tecidual, os grupos tratados com o fármaco apresentaram um ganho de peso maior do que os grupos controle, com exceção ao peso do tecido tumoral, que se encontra maior nos grupos controle do que nos grupos tratados com a Pioglitazona, tanto no grupo de 7 dias quanto no grupo de 14 dias. A massa tumoral dos grupos controle, dos 7 aos 14 dias, apresentou um aumento de 356,16%, enquanto que nos grupos tratados com a Pioglitazona o aumento foi de 310,44%. Com relação ao peso do tecido adiposo, o tecido subcutâneo apresentou uma diminuição no peso de 25,71% nos grupos controle, enquanto que nos grupos do fármaco apresentou redução de 38,21%. Já o tecido retroperitoneal apresentou uma diminuição de 68,75% de seu peso nos grupos controle entre os dias 7 e 14, sendo que nos grupos tratados com a Pioglitazona houve uma redução de 68,14%. Ou seja, o fármaco demonstrou-se eficaz para o controle do crescimento tumoral (FUJITAKA *et al*, 2011), porém, não apresentou diferença significativa entre os tecidos adiposos, com ênfase no tecido adiposo retroperitoneal.

Segundo a **Figura 1**, observa-se que não houve diferença estatisticamente significativa nos dias 7 e 14. O grupo tratado com Pioglitazona durante 7 dias apresentou uma média de  $6,64 \pm 0,67g$ , enquanto que o grupo controle apresentou média  $7,31 \pm 0,44g$ . No experimento de 14 dias, o grupo tratado com o fármaco apresentou uma média de  $27,47 \pm 0,88g$ , enquanto que o grupo controle apresentou média  $33,27 \pm 2,6g$ .



**Figura 1** – Peso do tumor dos grupos tratados com Pioglitazona e Solução Salina por 7 e 14 dias.

Como é possível observar na **Tabela 1**, no 7<sup>o</sup> dia, o grupo tratado com pioglitazona apresentou maior valor referencial quando comparado ao grupo tratado com o veículo, com exceção da proteína total e do triglicérides, sendo que o último apresentou uma média de  $71,3 \pm 3,9$  (pioglitazona) e  $75,7 \pm 1,5$  (veículo). Já após o 14<sup>o</sup> dia de estudo, o grupo tratado com a pioglitazona apresentou um valor referencial menor em relação ao veículo, com exceção dos triglicérides ( $250,6 \pm 14,5$ , com pioglitazona, e  $180,4 \pm 2,5$ , com veículo). A glicose também apresentou diferença significativa, com as médias de  $52,11 \pm 5,3$  (pioglitazona) e  $114,8 \pm 4,8$  (veículo).

**Tabela 1**– Parâmetros bioquímicos dos grupos tratados com Pioglitazona e Solução Salina por 7 e 14 dias.

Parâmetros Bioquímicos	7 dias		14 dias	
	Pioglitazona	Veículo	Pioglitazona	Veículo
Glicose (mg/dL)	$105,1 \pm 4,8$	$84,3 \pm 6,0$	$52,11 \pm 5,3$	$114,8 \pm 4,8$
Triglicérides (mg/dL)	$71,3 \pm 3,9$	$75,7 \pm 1,5$	$250,6 \pm 14,5$	$180,4 \pm 2,5$
Proteína total (mg/dL)	$21,1 \pm 3,0$	$26,3 \pm 2,8$	$19,8 \pm 2,1$	$27,7 \pm 3,1$
Albumina (mg/dL)	$1,9 \pm 0,1$	$1,9 \pm 0,03$	$1,83 \pm 0,1$	$2,18 \pm 0,1$

O resultado do experimento é condizente com a literatura, já verifica-se que a Pioglitazona interfere positivamente no processo inflamatório (FUJITAKA *et al*, 2011), demonstrada pela melhora progressiva dos parâmetros com o decorrer do tempo de tratamento.

## CONCLUSÃO

Pode-se verificar que os animais tratados com a Pioglitazona apresentaram um aumento no peso corporal e tecidual e uma redução no aumento do peso do tumor quando comparados com o grupo controle. Observou-se também que a Pioglitazona exerce efeito benéfico, melhorando os parâmetros bioquímicos.

## REFERÊNCIAS

AL-ALEM, L.; SOUTHARD, R. C.; KILGORE, M. W.; CURRY, T. E. Specific Thiazolidinediones Inhibit Ovarian Cancer Cell Line Proliferation and Cause Cell Cycle Arrest in a PPAR Independent Manner. **Plos One**, 2011, 6 (1), 1-14.

ARGILÉS, J. M.; MOORE-CARRASCO, R.; FUSTER, G.; BUSQUESTS, S.; LÓPEZ-SORIANO, F. J. Cancer cachexia: the molecular mechanisms. **The International Journal of Biochemistry & Cell Biology**, 2003,35 (4), 405-409.

FERON, K. C.; VOSS, A. C.; HUSTEAD, D. S. Definition of cancer cachexia: Effect of weight loss, reduced food intake, and systemic inflammation on functional status and prognosis. **The American Journal of Clinical Nutrition**, 2006, v.83, 1345–50.

FUJITAKA, K.; OTANI, H.; JO, F.; JO, H.; NOMURA, E.; IWASAKI, M.; NISHIKAWA, M.; IWASAKA, T. Comparison of metabolic profile and adiponectin level with pioglitazone *versus* voglibose in patients with type-2 diabetes mellitus associated with metabolic syndrome. **Endocrine Journal**, 2011, 58 (6), 425-432.

SAIKI, A.; OHIRA, M.; ENDO, K.; KOIDE, N.; MURANO, T.; MIYASHITA, Y.; SHIRAI, K. Pioglitazone Decreases Plasma Angiotensin II Concentration in Type2 Diabetes. **Journal of Atherosclerosis and Thrombosis**, 2009, 17: 6, 651-657.

SHAHIN, D.; EL TORABY, E.; ABDEL-MALEK, H.; BOSHRA, V.; ELSAMANOUDY, A. Z.; SHAHEEN, D. Effect of Peroxisome Proliferator-Activated Receptor Gamma Agonist (Pioglitazone) and Methotrexate on Disease Activity in Rheumatoid Arthritis (Experimental and Clinical Study). **Clinical Medicine Insights: Arthritis and Musculoskeletal Disorders**, 2011, v. 4, 1-10.

THEODORE, P. B; DANIEL, L. M. Pathophysiology and treatment of inflammatory anorexia in chronic disease. **Journal Cachexia Sarcopenia Muscle**, 2010, v.1, 135–145.

TRAYHURN, P.; BING, C. Appetite and energy balance signals from adipocytes. **Philosophical Transactions of the Royal Society: Biological Sciences**, 2006, v.361, 1237–1249.

OMS. **Cancer**. Disponível em: <http://www.who.int/cancer/en/>. Acesso em: Dezembro 2011.