



## **INFLUÊNCIA DA TERAPIA ANTIRRETROVIRAL ALTAMENTE ATIVA SOBRE A ADIPOSIDADE DE CAMUNDONGOS DA LINHAGEM SWISS**

Laís Fernanda Bonfim de Souza (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Débora Alves Guariglia, Rafael Evangelista Pedro, Bruno Melo, Meliana Borilli Pereira, Solange Marta Franzoi de Moraes, Sidney Barnabé Peres (Orientador), sbperes@uem.br

Departamento de Ciências Fisiológicas  
Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

**Palavras-chave:** HIV, Lipodistrofia, TARV.

### **Resumo:**

A Síndrome da Imunodeficiência adquirida (AIDS) é um evidente problema de saúde pública. Seu tratamento dá-se pela combinação de diferentes drogas, sendo denominada Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (TARV). Este tratamento pode levar a uma síndrome caracterizada pela redistribuição de gordura corporal, a lipodistrofia, associada a severas alterações metabólicas. Assim sendo, o objetivo deste trabalho foi estudar os efeitos da TARV em camundongos e determinar se a terapia foi capaz de induzir a lipodistrofia. Para isso, camundongos machos da linhagem Swiss (40 dias de vida) foram tratados (gavagem gastro-esofágica) com a combinação dos seguintes fármacos: AZT+3TC+Lopinavir/Ritonavir (LPV/r). Após 60 dias, os animais foram anestesiados e submetidos à laparotomia mediana para a coleta de 1 mL de sangue (veia cava inferior) e remoção dos coxins de tecido adiposo marrom interescapular, tecido adiposo branco retroperitoneal, epididimal, mesentérico e subcutâneo e fígado. O plasma sanguíneo foi usado para determinação do perfil lipídico e glicemia. O tecido adiposo branco foi usado para a determinação do peso e diâmetro dos adipócitos. Os dados obtidos foram analisados usando-se o teste-t de Student para dados independentes e Wilcoxon para variáveis não paramétricas (nível de significância  $p < 0,05$ ). Em relação ao peso do fígado, o grupo TARV apresentou valores maiores no peso do fígado (24%), na dosagem de colesterol total (25%) e triglicerídeos (22%) em comparação ao grupo controle. Em contrapartida, o grupo controle apresentou valores maiores para aspartato transaminase (20%) em relação do grupo TARV ( $p < 0,05$ ). Por fim, o grupo TARV apresentou redução do peso do coxim periepididimal (-28,5%) e da somatória dos coxins adiposos brancos (-18,7%) e viscerais (-19,4%), ( $p < 0,05$ ). A TARV foi capaz de induzir algumas



**FUNDAÇÃO  
ARAUCÁRIA**

**CNPq**  
Conselho Nacional de Desenvolvimento  
Científico e Tecnológico



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO  
Secretaria da Ciência, Tecnologia  
e Ensino Superior



alterações metabólicas e morfológicas importantes características da síndrome de lipodistrofia em camundongos Swiss.

## Introdução

A síndrome lipodistrófica consiste na redistribuição de gordura corporal caracterizado por acúmulo da gordura visceral está associada a alterações metabólicas graves como dislipidemia e resistência à insulina que pode originar algumas doenças (ENGELSON, 2003; SHAH et al., 2005). A infecção causada pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) associada ou não a terapia antirretroviral (TARV) tem sido uma das principais causas do desenvolvimento da lipodistrofia (VIGOUROUX et al., 2011). A TARV se baseia na combinação de diferentes classes de drogas que têm se demonstrado extremamente tóxicas para o tecido adiposo, ocasionando alterações como diminuição do acúmulo de triacilglicerol, supressão da diferenciação dos pré-adipócitos através da inibição da expressão de fatores de transcrição pró-adipogênicos, estímulo da apoptose, entre outros. Diante disso, este estudo se propôs a estabelecer um modelo experimental em camundongos da linhagem Swiss que mimetizasse o quadro de lipodistrofia observado em humanos sob TARV com base na administração de uma combinação de drogas e não apenas uma droga isolada.

## Materiais e métodos

### *Animais*

O projeto foi submetido ao Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação da Universidade Estadual de Maringá sendo aprovado no protocolo 019/2014.

### *Indução da Lipodistrofia*

Foram utilizados 60 camundongos machos da linhagem Swiss (40 dias de vida), mantidos condições controladas de temperatura ( $23 \pm 2^\circ\text{C}$ ) e fotoperíodo de 12 horas claro/12 horas escuro, com dieta padrão balanceada e água ad libitum. Para analisar a indução da lipodistrofia os camundongos foram divididos em 2 grupos, submetidos a gavagem gastroesofágica: 1. Grupo controle; 2. Grupo TARV. O grupo controle recebeu solução fisiológica e TARV recebeu solução contendo a combinação dos seguintes fármacos: AZT 100 mg/kg + 3TC 100 mg/kg + Lopinavir/Ritonavir (LPV/r) 200/50 mg/kg.

### *Coleta e Análise dos Tecidos*

Ao final do período experimental, os animais foram pesados e submetidos à anestesia com a mistura de 80 mg de cetamina + 15 mg de xilazina kg/p.c., via intramuscular. A seguir laparotomia mediana foi realizada para a coleta





de 1 mL de sangue (veia cava inferior) e remoção dos coxins de tecidos adiposos: marrom interscapular e brancos retroperitoneal, epididimal, mesentérico e subcutâneo, além da remoção do fígado. A eutanásia dos animais ocorreu por parada cardiorrespiratória em decorrência da secção do músculo diafragma.

#### *Análises bioquímicas*

Amostras de sangue retiradas durante a laparotomia foram imediatamente centrifugadas para obtenção do plasma, o qual foi utilizado para a determinação do colesterol total, triglicerídeos, glicose, creatina cinase, aminotransferase de aspartato (TGO) e aminotransferase de alanina (TGP).

#### *Isolamento de adipócitos*

Amostras do tecido adiposo subcutâneo inguinal e visceral retroperitoneal foram utilizadas. Após digestão dos tecidos, a suspensão celular foi colocada em lâmina histológica para captura (microscópio óptico) de número mínimo de campos que continham pelo menos 100 adipócitos (ampliação de 200x). Logo após foi realizada a análise morfométrica através da mensuração aleatória do diâmetro de 100 adipócitos por camundongo, por coxim, através de sistema de análise de imagem (Image-Pro Plus 4.5 Media Cybernetics®).

#### *Análise estatística*

Os dados foram submetidos ao teste de Shapiro Wilk para analisar a distribuição dos dados e, em seguida, comparações pelo teste-t de Student para dados independentes e Wilcoxon para variáveis não paramétricas.

## **Resultados e Discussão**

### *Peso dos coxins*

Os pesos dos coxins entre os grupos Controle e TARV não tiveram diferença significativa. Em relação ao peso do fígado, o grupo TARV apresentou valores maiores no peso do fígado (24%) em comparação ao grupo controle.

**Tabela 1.** Peso dos coxins adiposos (g) dos grupos Controle e submetidos a 60 dias de tratamento com a terapia antiretroviral (Grupo TARV).

	Controle	TARV	$\Delta$ %	P
Periepididimal	1.049 $\pm$ 0.27	0.750 $\pm$ 0.34	-28.5	<b>0.001</b>
Retroperitoneal	0.282 $\pm$ 0.12	0.220 $\pm$ 0.11	-22.0	0.131
Mesentérico	0.674 $\pm$ 0.17	0.647 $\pm$ 0.18	-4.0	0.346
Inguinal	0.515 $\pm$ 0.17	0.432 $\pm$ 0.16	-16.1	0.120
Marrom*	0.167 $\pm$ 0.01	0.155 $\pm$ 0.01	-7.2	0.423





$\Sigma$ TAB	$2.522 \pm 0.67$	$2.051 \pm 0.73$	-18.7	<b>0.021</b>
$\Sigma$ TAV	$2.007 \pm 0.54$	$1.618 \pm 0.58$	-19.4	<b>0.016</b>

Dados expressos com média  $\pm$  erro padrão (SE). Legenda:  $\Sigma$  TAB = somatórios dos coxins brancos;  $\Sigma$  TAV = somatório dos coxins viscerais. \* tecido adiposo marrom interscapular.

### *Análises bioquímicas*

O grupo TARV apresentou valores superiores de colesterol total (25%) e triglicerídeos (22%) em comparação ao grupo controle. Em contrapartida, o grupo controle apresentou valores maiores para aspartato transaminase (20%) em relação do grupo TARV ( $p < 0,05$ ). As demais variáveis analisadas não tiveram diferenças significativas ( $p > 0,05$ ).

### *Isolamento de adipócitos*

A mensuração do diâmetro de adipócitos de cada coxim adiposo não apresentou diferença significativa entre os dois grupos.

### **Conclusões**

A TARV foi capaz de induzir algumas alterações metabólicas e morfológicas importantes características da síndrome de lipodistrofia em camundongos Swiss.

### **Agradecimentos**

Às instituições de fomento Fundação Araucária, CNPq e UEM.

### **Referências**

VIGOUROUX, C.; CARON-DABERLE, M.; LE DOUR, C.; MAGRÉ, J.; CAPEAU, J. Molecular mechanisms of human lipodystrophies: from adipocyte lipid droplet to oxidative stress and lipotoxicity. **Int J Biochem Cell Biol**, v. 43, n. 6, p. 862-876, 2011.

ENGELSON, E.S. Interventions for visceral adiposity associated with human immunodeficiency virus: application of a method for assessing efficacy. **Clin Infect Di**, v. 37, n. 2, p. 96-100, 2003.

SHAH, M.; TIERNEY, K.; ADAMS-HUET, B.; BOONYAVARAKUL, A.; JACOB, K.; QUITTNER, C.; et al. The role of diet, exercise and smoking in dyslipidaemia in HIV-infected patients with lipodystrophy. **HIV Med**, v. 6, n.4, p. 291- 298, 2005.

