

## **AVALIAÇÃO DO IMPACTO DA ADMINISTRAÇÃO COM L-GLUTATIONA NO RIM DE RATOS PORTADORES DE TUMOR WALKER 256**

Amanda Berton Peratelli (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Lucas Casagrande (Co-autor), Jacqueline Nelisis Zanoni (Orientador), e-mail: ra112861@uem.br.

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

### **Morfologia/Histologia.**

**Palavras-chave:** Síndrome da caquexia, rins, L-glutaciona 1%

### **Resumo:**

A caquexia é uma síndrome associada a progressão do câncer. Sua fisiopatologia inclui o desenvolvimento de inflamação e a formação exagerada de espécies reativas de oxigênio (ERO). A glutaciona é o principal antioxidante endógeno do corpo e se esgota durante a caquexia. O objetivo deste estudo foi verificar o efeito da administração com L-glutaciona a 1% nos rins de animais com caquexia associada ao câncer. Vinte ratos Wistar machos de 55 dias de idade (*Rattus norvegicus*) foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos contendo 5 animais: controle (C), controle administrado com 1% de L-glutaciona (CGT), tumor Walker-256 (TW), Tumor Walker-256 administrado com L-glutaciona a 1% (TWGT). Após a eutanásia, os rins foram coletados e processados para avaliação histológica. Os resultados foram submetidos à análise estatística e o nível de significância foi de 5%. O estresse oxidativo proveniente do quadro de caquexia neoplásica gerou danos aparentes na morfologia renal dos animais induzidos ao tumor. Ademais, foi possível concluir que a suplementação com L-glutaciona nos animais doentes mostrou-se eficiente em relação aos animais induzidos ao câncer sem tratamento.

### **Introdução**

O câncer representa uma das principais causas de adoecimento e mortes na população, sendo que, no Brasil, a projeção é que a cada ano ocorram aproximadamente 625 mil novos casos da doença (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2020). Células de carcinosarcoma de Walker-256 vêm sendo utilizadas em animais como modelo experimental para indução da síndrome de caquexia. Essa síndrome se desenvolve em associação com o crescimento do tumor e caracteriza-se pela perda involuntária de peso, perda do controle da homeostase dos balanços energéticos e proteicos, além de alterar o metabolismo oxidativo levando ao estresse oxidativo (MAIA et al., 2014).

O estresse oxidativo é um estado fisiológico onde há uma alta produção de radicais livres e de espécies reativas de oxigênio (ERO) em detrimento do sistema antioxidante. Nesse estado de desequilíbrio a manifestação se dá através de potencial dano oxidativo contra células e tecidos, envolvendo a inibição da função de moléculas de DNA, de proteínas ou de lipídeos, gerando por exemplo reações de lipoperoxidação (BONA, 2010).

O rim, objeto de estudo do trabalho, devido sua abundância de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, é um órgão de alta vulnerabilidade aos danos causados pelas ERO aumentadas nos estados de inflamação e estresse oxidativo (OZBEK, 2012).

A glutathione, molécula antioxidante produzida pelo fígado e constituída pelos aminoácidos ácido glutâmico, cisteína e glicina, desempenha diversas funções no metabolismo animal, como: recolher radicais livres e outras espécies de oxigênio reativo direta e indiretamente por meio de reações enzimáticas, defesa antioxidante, remoção de peróxidos de hidrogênio de lipídios, prevenção da oxidação de biomoléculas, transdução de sinal e expressão genética, entre outros (BONA, 2010). Diante disso, esse estudo teve o intuito de avaliar a eficácia da administração do antioxidante L-glutathione contra danos causados pelo estresse oxidativo no rim de ratos em estado de caquexia induzida pelo tumor de Walker-256.

## Materiais e métodos

Todos os procedimentos experimentais foram previamente aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA/UEM) sob nº 8617130120. Foram utilizados neste estudo rins de ratos adultos machos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), variedade albinus, provenientes do Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Os animais foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos contendo 5 animais: controle (C), controle administrado com 1% de L-glutathione (CGT), tumor Walker-256 (TW) e Tumor Walker-256 administrado com L-glutathione a 1% (TWGT). Após o período experimental os animais foram eutanasiados e os rins coletados e destinados ao procedimento histológico com desidratação em série crescente de álcoois, diafanização em xilol e embocamento em parafina. Em seguida, foram realizados cortes histológicos semi seriados de 5 µm de espessura e as lâminas foram coradas pela técnica Hematoxilina e Eosina (HE). As imagens foram obtidas por microscopia óptica e para analisá-las foi utilizado o programa Image-Pro Plus® 4.5. Os resultados foram submetidos à análise estatística pelos testes Kolmogorov-Smirnov e Teste de Fisher. O nível de significância foi de 5%.

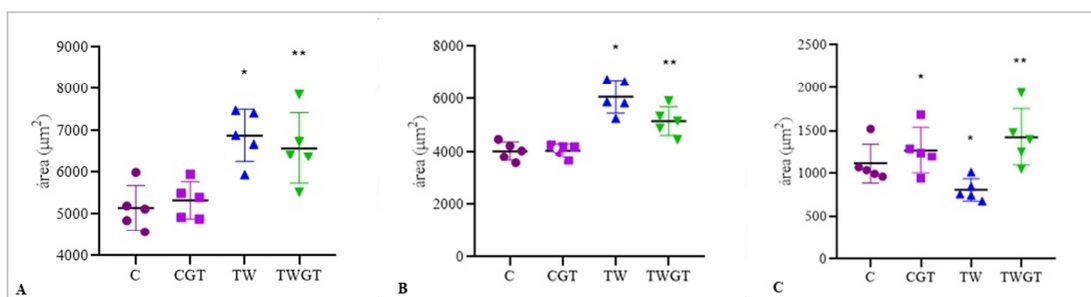
## Resultados e Discussão

No grupo TW a área da cápsula e do glomérulo apresentaram um aumento em relação ao grupo controle, de respectivamente 33,8% (Figura 1A;  $p=0,001$ ) e de 50,9% (Figura 1B;  $p=0,001$ ). Já em relação a área do espaço capsular, o grupo TW apresentou uma diminuição de 27,7% (Figura 1C;

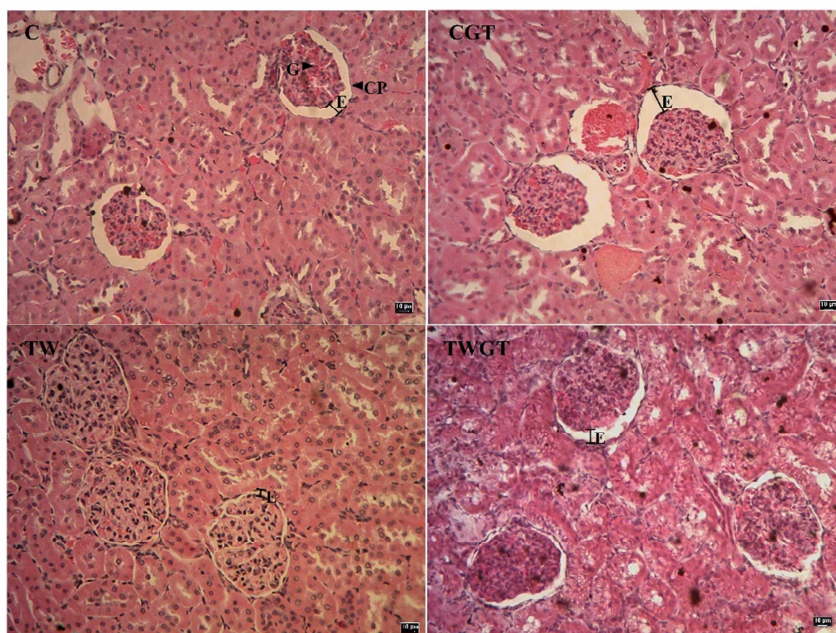
$p=0,001$ ). Essas variações podem significar uma adaptação do órgão aos fatores patogênicos da caquexia, que, além de causarem mudanças estruturais, prejudicam também sua funcionalidade, levando por exemplo ao comprometimento da filtração sanguínea (VICENTINI, 2016).

Em relação ao tratamento, quando comparado o grupo TWGT com o grupo TW, observou-se uma diminuição na área da cápsula do grupo TWGT de 4,3% (Figura 1A;  $p=0.004$ ) e uma diminuição também na área do glomérulo desse mesmo grupo, reduzindo 15% (figura 1B;  $p=0.001$ ) em comparação a TW. Quanto a área do espaço capsular, o grupo TWGT apresentou um aumento de 76,5% (vs TW; Figura 1C;  $p=0,0001$ ). Diante de tais dados, foi possível observar, nesse grupo, os potenciais efeitos protetores antioxidantes da L-glutaciona, uma vez que sua utilização reduziu os parâmetros das alterações morfológicas evidenciadas no grupo TW (VICENTINI, 2016).

Ao comparar o grupo CGT com o grupo C, as áreas da cápsula e do glomérulo não apresentaram diferenças significativas. Já para a área do espaço capsular, o grupo CGT apresentou um aumento de 14% (vs C; Figura 1C;  $p=0.001$ ).



**Figura 1** - A) Área da cápsula em  $\mu\text{m}^2$ , B) Área do glomérulo em  $\mu\text{m}^2$ , C) Área do espaço capsular em  $\mu\text{m}^2$ . Controle (C), controle administrado com 1% de L-glutaciona (CGT), tumor Walker-256 (TW) e tumor Walker-256 administrado com L-glutaciona a 1% (TWGT) contendo 5 animais cada. \* representa  $p < 0,05$  em relação ao controle e \*\* representa  $p < 0,05$  quando comparado ao TW.



**Figura 2-** Fotomicrografias de corpúsculos renais que mostram a Cápsula de Bowman (CP), o Glomérulo (G) e o Espaço capsular (E) dos grupos controle (C), controle administrado com 1% de L-glutathione (CGT), tumor Walker-256 (TW) e Tumor Walker-256 administrado com L-glutathione a 1% (TWGT). Nota-se, principalmente, uma grande diferença entre os espaços capsulares de cada grupo. (Coloração Hematoxilina-eosina. Objetiva de 20x. Barra representativa do Espaço capsular: 10 µm).

## Conclusões

Conclui-se que o estresse oxidativo proveniente do quadro de caquexia gerou danos aparentes nos rins dos animais induzidos ao tumor de Walker-256. A suplementação com L-glutathione nos animais doentes mostrou-se eficiente em relação aos animais induzidos ao câncer sem tratamento. Portanto, sugere-se que a L-glutathione possui efeitos protetivos na morfologia renal contra a caquexia relacionada ao câncer.

## Agradecimentos

Agradeço à orientadora Jacqueline Nelisis Zanoni pelo auxílio, colaboração e esclarecimento. Ao CNPq pela concessão da bolsa e à Universidade Estadual de Maringá.

## Referências

BONA, S. **Proteção antioxidante da quercetina em fígado de ratos cirróticos**. Dissertação, Rio Grande do Sul: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010.

MAIA, F. et al. Estresse oxidativo e lipoproteínas plasmáticas em pacientes com câncer. **Einstein**, 12(4):480-4, 2014.

OZBEK, E. Induction of oxidative stress in kidney. **International journal of nephrology**, v. 2012, 2012.

VICENTINI, G. E. et al. Experimental cancer cachexia changes neuron numbers and peptide levels in the intestine: partial protective effects after dietary supplementation with L-glutamine. **PLoS One**. v.11, n.9, 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. INCA lança estimativas de casos novos de câncer para o triênio 2020-2022. Ministério da Saúde – Brasília: Organização Pan-Americana da Saúde, 2020.