

AVALIAÇÃO DA ADMINISTRAÇÃO DE L-GLUTATIONA 1% NO RIM DE RATOS PORTADORES DE TUMOR DE WALKER-256

Maria Luiza Melo Sergio (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Juliana Vanessa Colombo Perles (Orientador), e-mail: ra119959@uem.br

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

Morfologia/Histologia.

Palavras-chave: Corpúsculo renal, glicogênio, PAS, Síndrome de caquexia.

Resumo:

Câncer é o nome dado ao grupo de doenças causadas pela proliferação descontrolada de células. A caquexia é uma síndrome associada à progressão do câncer, caracterizada pela perda involuntária de massa muscular, entre suas consequências está o desequilíbrio no metabolismo oxidativo, desenvolvendo inflamação e formação exagerada de espécies reativas de oxigênio (ERO). O desequilíbrio entre a quantidade de radicais livres produzidos e a ação dos antioxidantes endógenos gera estresse oxidativo, sendo os rins os órgãos vulneráveis ao mesmo. A glutathione é o principal antioxidante endógeno que atua na eliminação de radicais livres, porém se esgota durante a síndrome de caquexia. Portanto, este estudo tem por objetivo estudar o efeito da administração de L-glutathione 1% no rim de ratos induzidos à caquexia associada ao câncer. Dezesesseis ratos adultos, machos, da linhagem Wistar foram divididos em quatro grupos: controle (C), controle administrado com L-glutathione 1% (CGT), Tumor de Walker-256 (TW) e Tumor de Walker-256 administrado com L-glutathione 1%. Após a eutanásia, os rins foram coletados e processados para avaliação histológica. Se os resultados se confirmarem, o modelo de TW-256 demonstra causar alteração no conteúdo de glicogênio dos corpúsculos renais de ratos e o tratamento com L-glutathione 1% tem potencial de prevenir a alteração.

Introdução

Câncer é a segunda maior causa de mortes mundialmente (OPAS, 2020), no qual abrange mais de cem diferentes tipos de doenças malignas, que têm em comum o crescimento desordenado de células e a capacidade de sair de seus limites, invadir tecidos adjacentes e se espalhar para demais partes do organismo, a chamada metástase (WHO, 2021). A síndrome de caquexia se desenvolve em associação com o crescimento do tumor, sendo caracterizado como a perda involuntária de massa muscular, com ou sem perda de gordura, perda do controle da homeostasia e alteração do metabolismo oxidativo (MAIA, et al., 2014).

O excesso de radicais livres, conhecidos como espécies reativas de oxigênio (ERO), resulta em um desequilíbrio, chamado estresse oxidativo, o qual tem por

consequência potencial dano oxidativo contra células e tecidos, como por exemplo, inibição da função de moléculas de DNA, proteínas ou lipídios, gerando reação de lipoperoxidação (BONA, 2010).

A glutathione é um antioxidante natural, que atua na neutralização de radicais livres auxiliando no equilíbrio da homeostase. É um antioxidante endógeno produzido pelo fígado, no qual os rins dependem de seu fornecimento adequado para manter sua função (LASH, 2005). Algumas de suas funções são: recolher radicais livres por meio de reações enzimáticas, defesa antioxidante, prevenção da oxidação de biomoléculas, entre outros (BONA, 2010).

Os rins são órgãos responsáveis pela filtração e excreção de resíduos do organismo, sendo eles fundamentais na produção de ERO, por consumirem grande quantidade de oxigênio. Porém possui alta quantidade de ácidos graxos poli-insaturados de cadeia longa, sendo assim, é um órgão com alta vulnerabilidade aos danos causados pelas ERO (OZBEK, 2012). Adicionalmente, níveis anormais de acúmulo de glicogênio nos rins são identificados em situações como carcinomas das células renais e diabetes (HAASE, 2020). Dessa forma, o objetivo deste trabalho é estudar o efeito do Tumor de Walker-256 no glicogênio presente nos rins e o efeito da administração de L-glutathione 1%.

Materiais e Métodos

Os procedimentos com animais foram realizados conforme aprovação prévia número 8617130120 da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá. Foram utilizados este para estudo, rins de ratos adultos, machos, da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*), variedade albinus, provenientes do Biotério Central da UEM. Os animais foram divididos em quatro grupos com quatro animais cada, sendo os grupos: controle (C), controle administrado com L-glutathione 1% (CGT), Tumor de Walker-256 (TW) e Tumor de Walker-256 administrado com L-glutathione 1% (TWGT). Os animais dos grupos TW e TWGT sofreram indução do tumor pela inoculação de uma suspensão de células tumorais Walker-256 e os grupos C e CGT passaram pelo mesmo estresse pela inoculação de PBS. Para o tratamento, os animais dos grupos C e TW receberam ração padrão balanceada e os grupos CGT e TWGT receberam L-glutathione incorporada à ração na proporção de 1%. 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 inclusão em parafina. Em seguida foram realizados cortes histológicos semi seriados de 7 µm de espessura e corados pela técnica de PAS. As imagens foram obtidas por microscopia óptica, onde foi feita a quantificação de glicogênio no rim. Por fim os resultados foram submetidos à análise estatística pelos testes de Kolmogorov-Smirnov e Teste de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados e Discussão

Devido a dificuldades metodológicas, os resultados apresentados são dados preliminares (n=1), até a data do evento os dados estarão finalizados (análises morfométricas e estatísticas).

De acordo com as médias apresentadas na figura 1, inferimos que o animal do grupo TW apresentou uma redução na quantidade de glicogênio em relação ao animal do grupo controle. Comparando o animal TW com o animal do grupo TWGT, foi observado um aumento na área ocupada por glicogênio. O animal do grupo CGT apresentou uma redução em relação ao animal do grupo controle.

Aparentemente os resultados preliminares então coerentes com os resultados encontrados em um trabalho de isquemia e reperfusão (VICENTINO et al., 2002.), onde apresentou diminuição de 63% no conteúdo de glicogênio no fígado de animais portadores de Tumor de Walker-256.

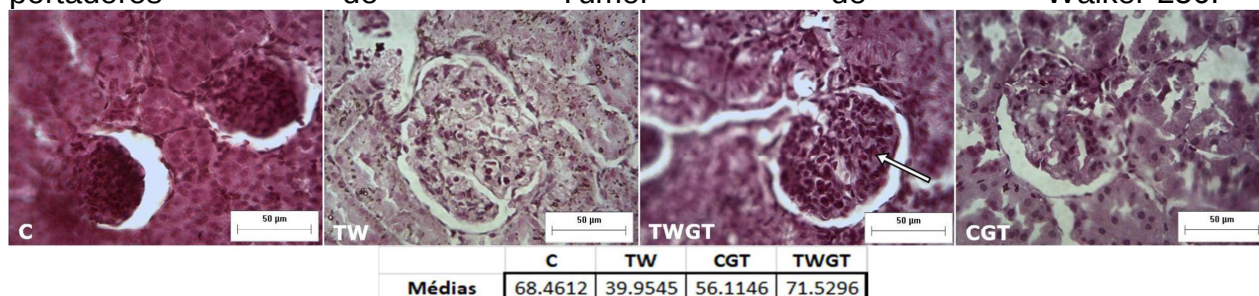


Figura 1: Fotomicrografias capturadas em objetiva de 40x com coloração de PAS, possibilitando visualização de glicogênio nos rins dos animais pertencentes aos 4 grupos estudados: controle (C), Tumor de Walker-256 (TW), Tumor de Walker-256 administrado com L-glutathione 1% (TWGT) e controle administrado com L-glutathione 1% (CGT). A seta branca indica acúmulo de glicogênio. Abaixo, resultados preliminares com a média de área ocupada por glicogênio nos rins (μm^2) em um animal de cada grupo.

Em contrapartida, o animal do grupo TWGT não só apresentou diminuição, como aumentou o conteúdo de glicogênio, se esse resultado se manter podemos esperar um efeito positivo do tratamento na alteração observada no conteúdo de glicogênio do rim de animais com tumor de Walker.

Conclusões

Os resultados preliminares apontam alteração na área ocupada por glicogênio nos corpúsculos glomerulares no animal do grupo Tumor de Walker-256. O tratamento com L-glutathione 1% no animal doente foi oposto ao animal doente sem tratamento, um efeito, que se for confirmado, apresenta ser positivo do tratamento das alterações observadas.

Agradecimentos

Agradeço à orientadora Juliana Vanessa Colombo Perles pelo auxílio, 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.

HAASE, V. H. **Got glycogen? An energy resource in HIF-mediated prevention of ischemic kidney injury.** *Kidney International*, [S.L.], v. 97, n. 4, p. 645-647, abr. 2020. Elsevier BV.

LASH, H. *et al.* **Role of glutathione transport processes in kidney function.** *Toxicology And Applied Pharmacology*, [S.L.], v. 204, n. 3, p. 329-342, maio 2005. Elsevier BV.

MAIA, F. *et al.* **Oxidative stress and plasma lipoproteins in cancer patients.** *Einstein (São Paulo)*, [S.L.], v. 12, n. 4, p. 480-484, dez. 2014.

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

VICENTINO, C. *et al.* **Glucose and glycogen catabolism in perfused livers of Walker-256 tumor bearing rats and the response to hormones.** *Pathophysiology*, v. 8, n. 3, p. 175–182, 2002.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). **Câncer.** mar. 2021. Disponível em:< <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>.> Acesso em: 20 agosto 2022.