



UNICAMP

“EFEITO DOS INIBIDORES DE DPP-4 NO PROCESSO INFLAMATÓRIO SUB-CLÍNICO NO TECIDO ADIPOSEO DE ANIMAIS OBESOS.”

Haddad, N, Pellegrino, M.P., Caricilli, A.M., Carvalho, B.M., Saad, M.J.A.

nicolehaddad46@yahoo.com.br

Laboratório de Investigação Clínica em Resistência à Insulina-LICRI,

Faculdade de Ciências Médicas, CP 6111 Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP, CEP 13083-887, Campinas, SP, Brasil.

Palavras chave: inibidor de DPP-4 - sitagliptina - obesidade - inflamação - diabetes

INTRODUÇÃO

Diabetes Mellitus (DM) é, sem dúvida, um dos grandes desafios do século XXI. Seus fatores etiopatogênicos não são totalmente conhecidos, entretanto sabe-se que há correlação entre fatores genéticos e ambientais, principalmente a obesidade, que levariam a um estado de resistência à insulina, associado a uma diminuição da secreção desta pelas ilhotas pancreáticas. Uma dieta altamente calórica induz a infiltração de macrófagos no tecido adiposo, a qual gera uma resposta inflamatória, com o aumento da secreção de citocinas inflamatórias tais como TNF- α , IL-6 e I κ B. Esses fatores resultam em um estado de inflamação crônica sistêmica de baixo grau em obesos, o qual estaria relacionado às alterações na sensibilidade dos tecidos à insulina, gerando um estado de resistência, caracterizando o diabetes mellitus. Um novo medicamento, a classe dos inibidores da dipeptil peptidase-4 (DPP-4), apresenta-se como uma nova perspectiva para o tratamento do DM 2 e baseia-se no princípio de inibição da enzima responsável pela degradação de incretinas (DPP-4), hormônios que estimulam a liberação de insulina pelas células β e têm efeitos no crescimento e sobrevida dessas. Apesar desta classe de medicamentos já estar em uso, ainda são poucos os estudos a respeito de seu mecanismo de ação, principalmente sobre sua possível interferência no quadro de inflamação presente no DM 2.

OBJETIVOS

O objetivo do presente trabalho é a investigação do efeito dos inibidores de DPP-4, no caso sitagliptina, na infiltração dos macrófagos no tecido adiposo e no processo inflamatório local e sistêmico.

METODOLOGIA

Foram utilizados 2 grupos de 8 camundongos Swiss machos, obtidos do Centro de Bioterismo da UNICAMP-CEMIB. O grupo 1 foi dividido em 4 subgrupos de acordo com a dieta (dieta padrão ou dieta hiperlipídica) e o tratamento (sitagliptina ou salina). No grupo 2 todos os camundongos receberam dieta hiperlipídica (DHL), e o grupo foi subdividido em 2 (camundongos que recebiam a droga e aqueles que recebiam salina).

Os grupos foram submetidos aos respectivos experimentos:

-Teste de tolerância à insulina (ITT);

Após período de jejum, os animais receberam insulina por via intraperitoneal e a glicemia de cada um foi mensurada a cada cinco minutos até completar 30 minutos.

-Tratamento com sitagliptina diluída água durante 7 dias, por meio de gavagem;

-Extração do tecido adiposo epididimal, músculo gastrocnêmio e pequenos fragmentos do fígado;

-Dispersão enzimática do tecido adiposo.

As amostras de tecido adiposo ficaram sob agitação, em banho-maria, à 37 °C com colagenase tipo II. Logo após, elas foram submetidas a 3 etapas de filtração e separação de estroma vascular e de adipócitos, intercalados com a centrifugação das amostras.

-Immunoblotting

Foi realizado immunoblotting para pJNK, pl κ K e IL-6 dos tecidos extraídos.

HISTOLOGIA

Foram preparadas lâminas de microscopia com o tecido adiposo coradas com hematoxilina e eosina para avaliação em microscópio óptico

RESULTADOS

Grupo 1:

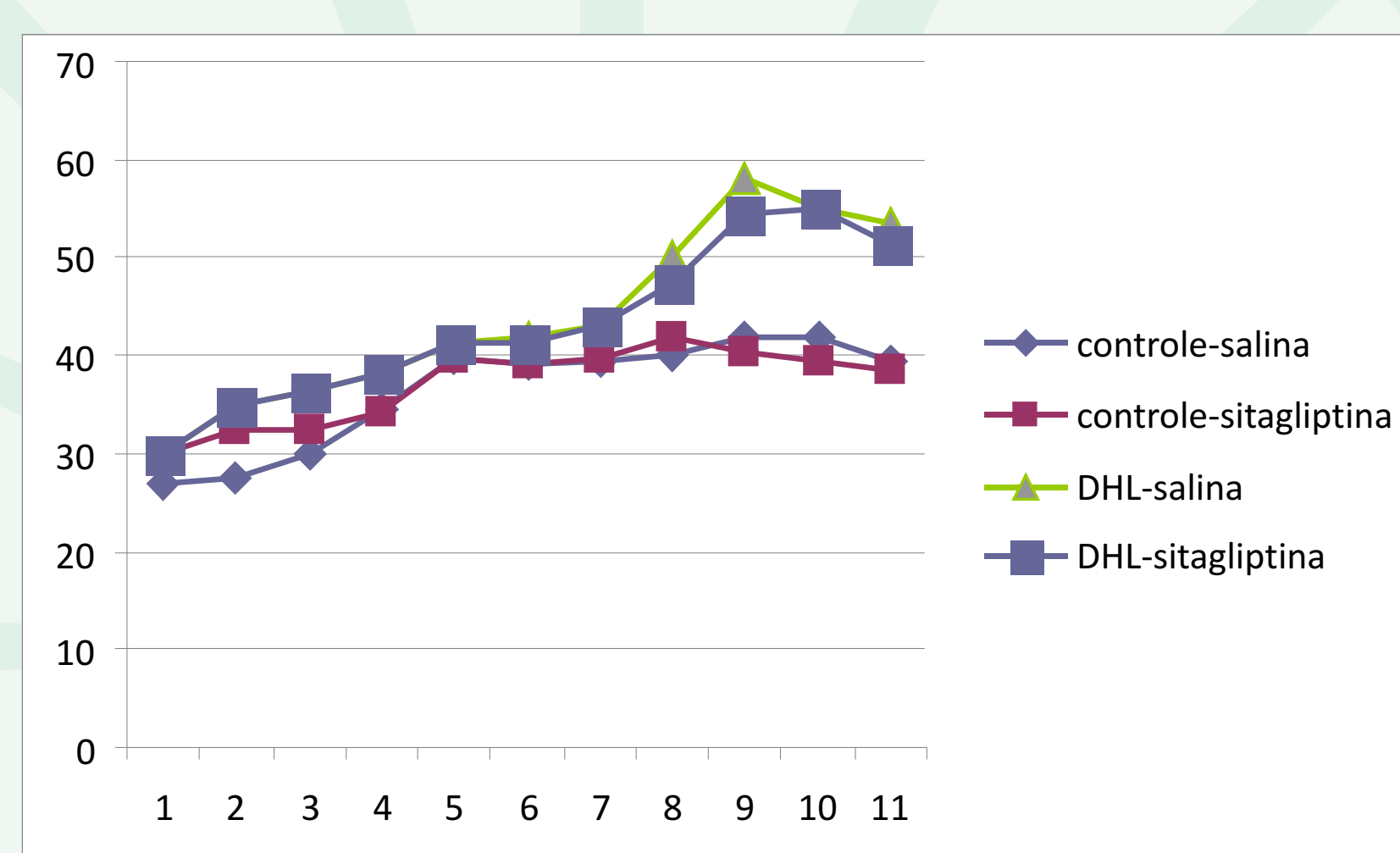


Figura 1: Média das massas dos camundongos

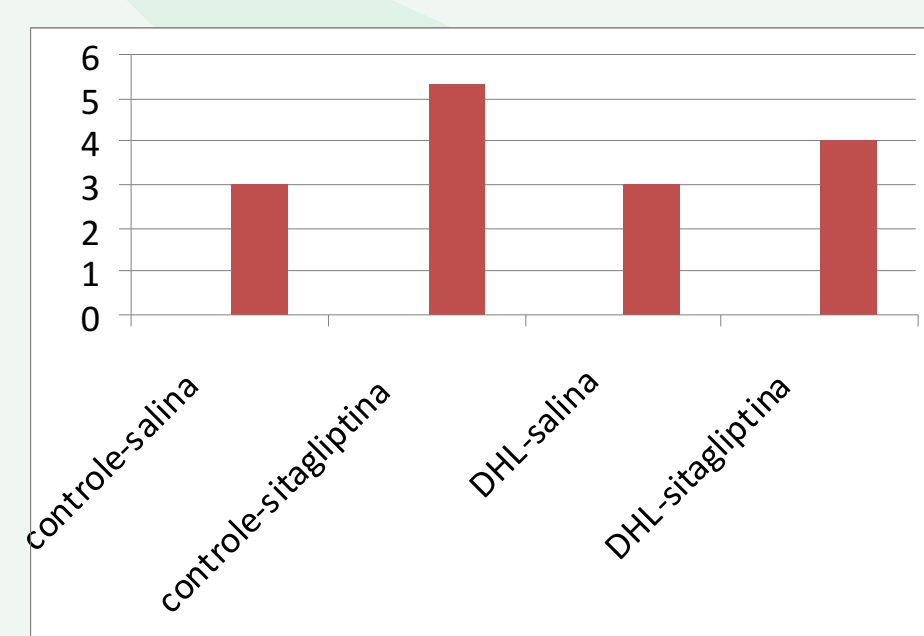


Figura 2: Média das massas perdidas durante o período de tratamento com a sitagliptina.

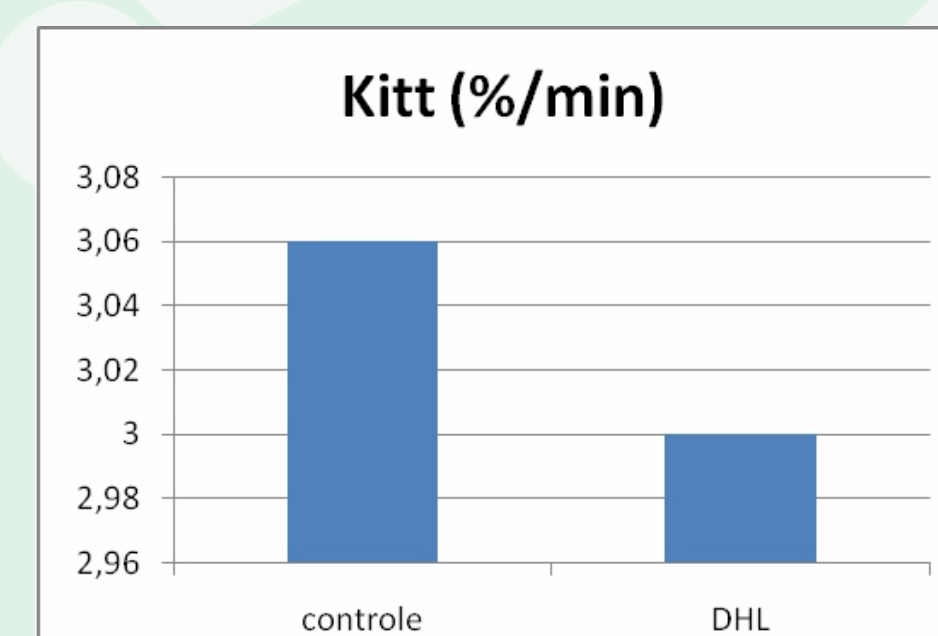


Figura 3: Média dos KITT em %/min dos camundongos.

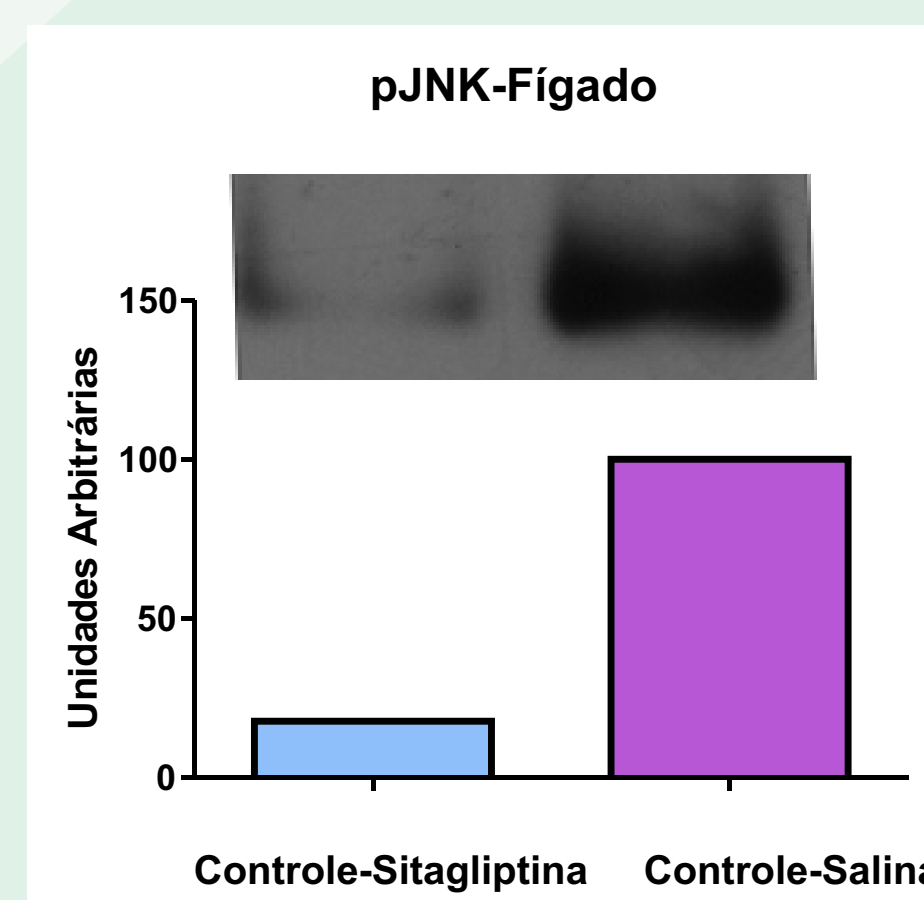


Figura 4: Densitometria da banda para pJNK Fígado.

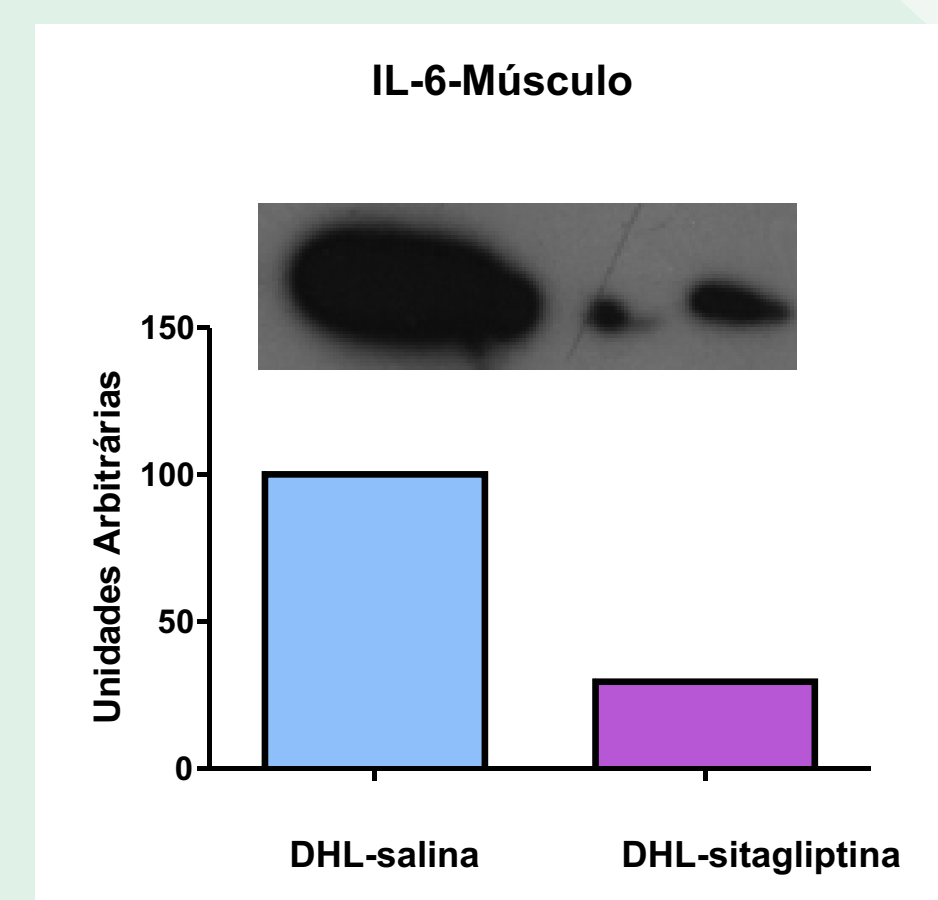


Figura 5: Densitometria da banda para IL-6 Músculo

Grupo 2:

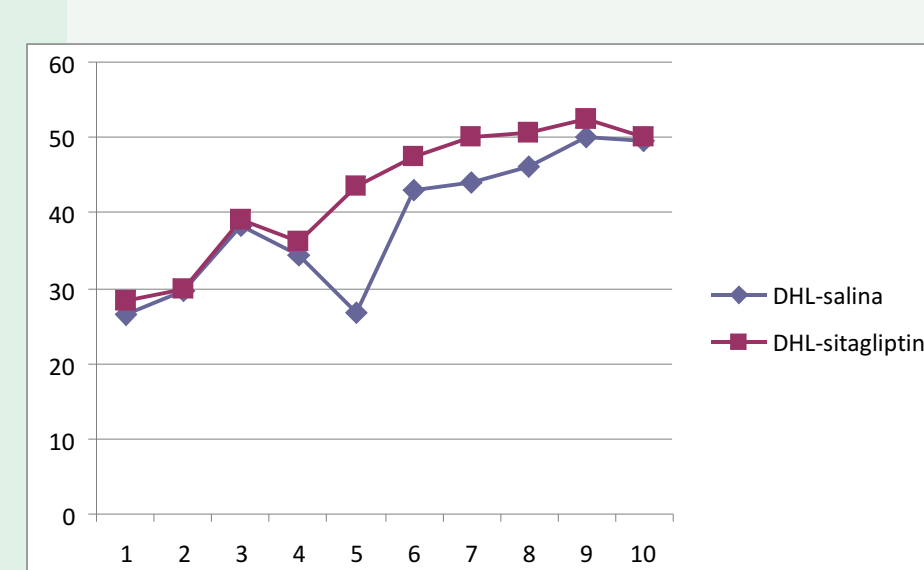


Figura 6: Média das massas dos camundongos.

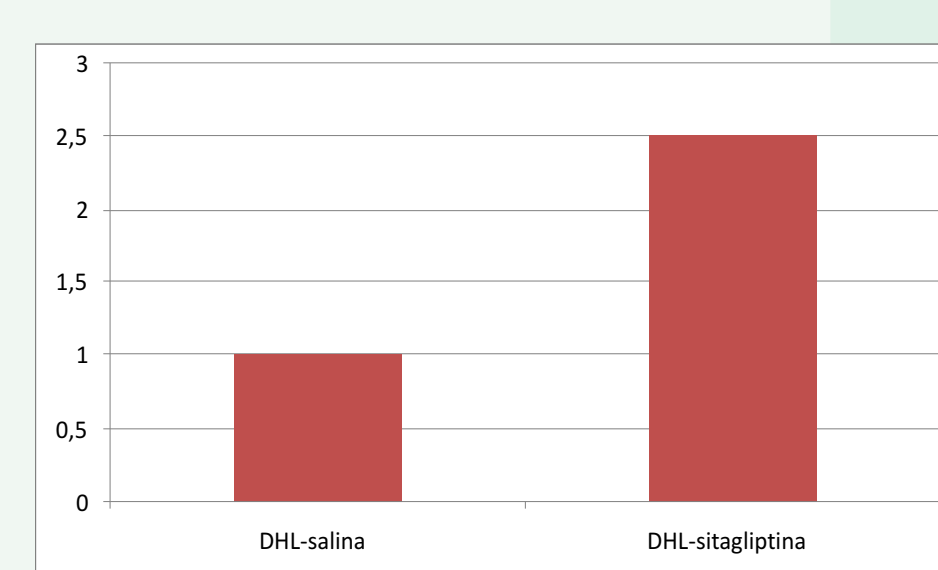


Figura 7: Média das massas perdidas durante o período de tratamento com a sitagliptina.

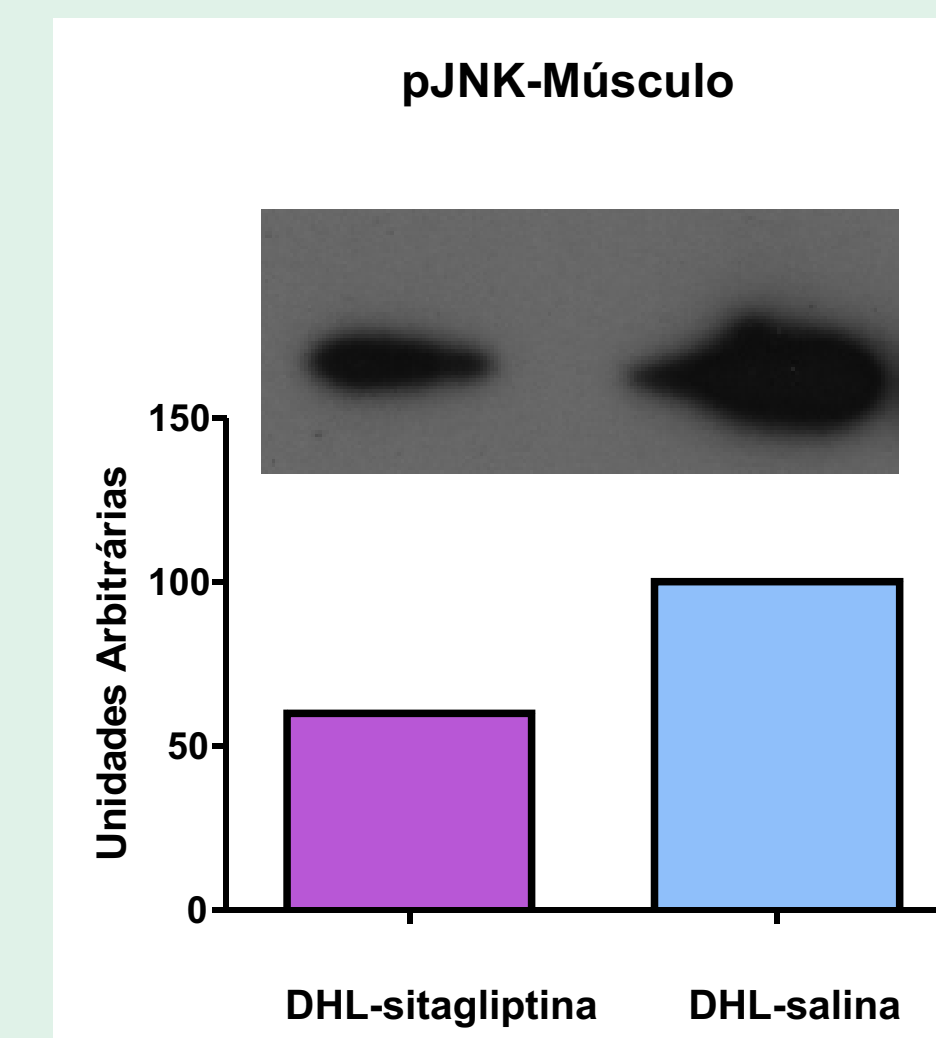


Figura 8: Densitometria das bandas de pJNK de Músculo.

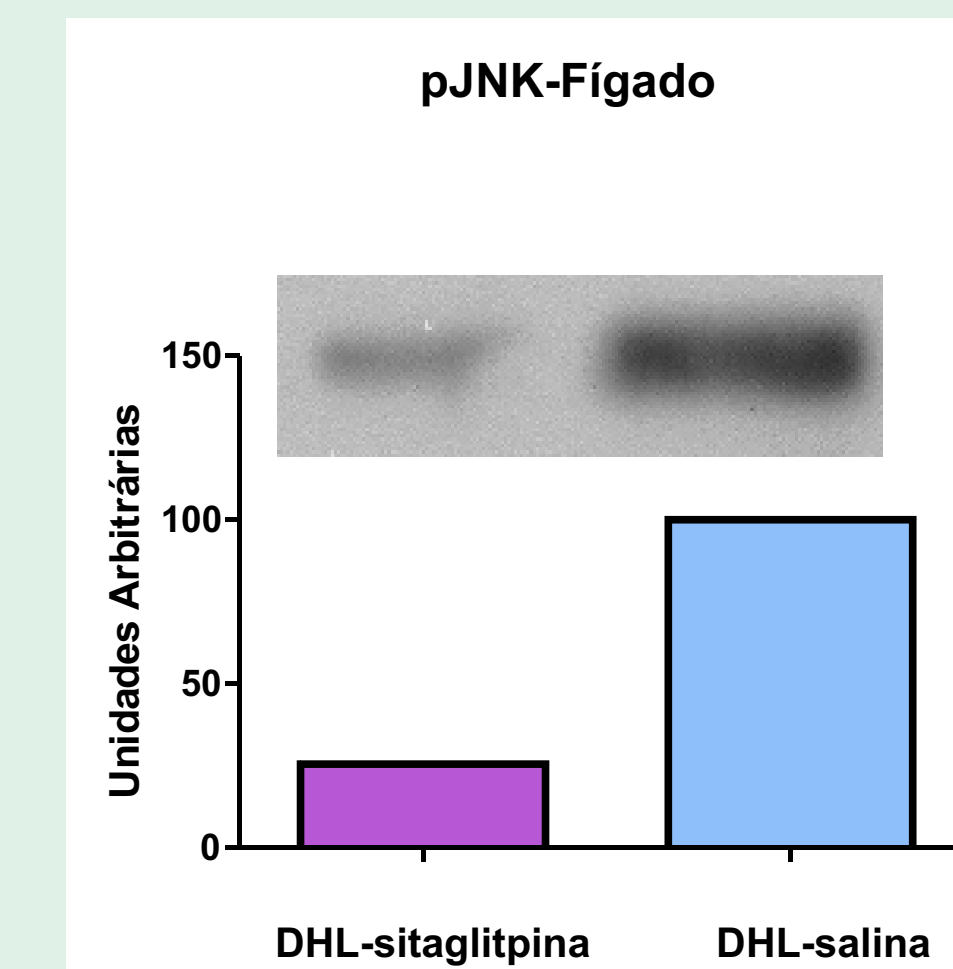


Figura 9: Densitometria das bandas pJNK de Fígado

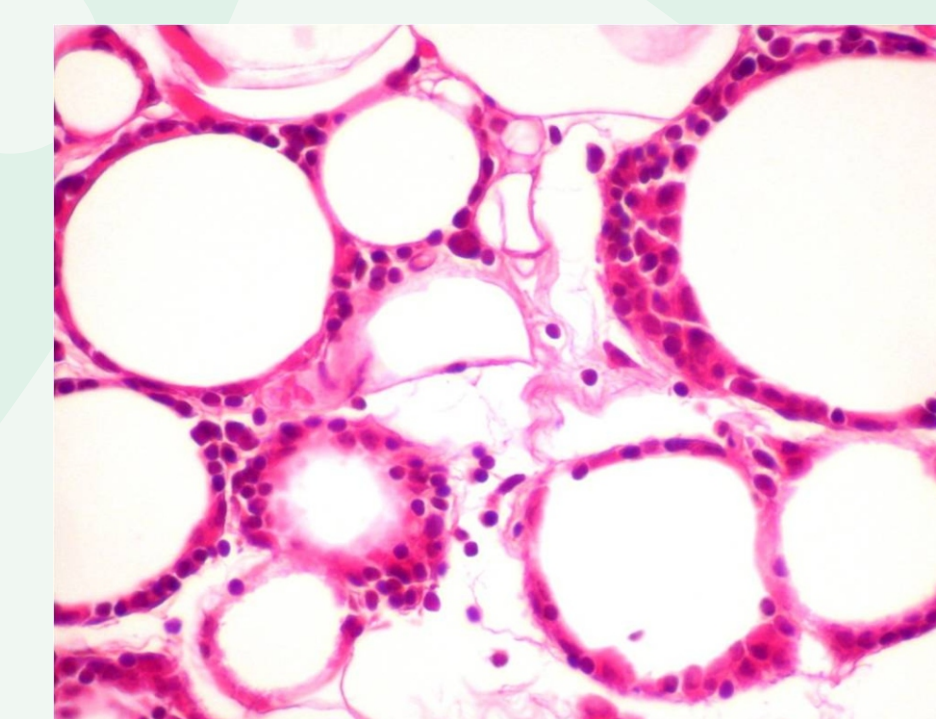


Figura 10: Corte histológico de tecido adiposo de animal obeso corado com hematoxilina e eosina, aumento de 400X.

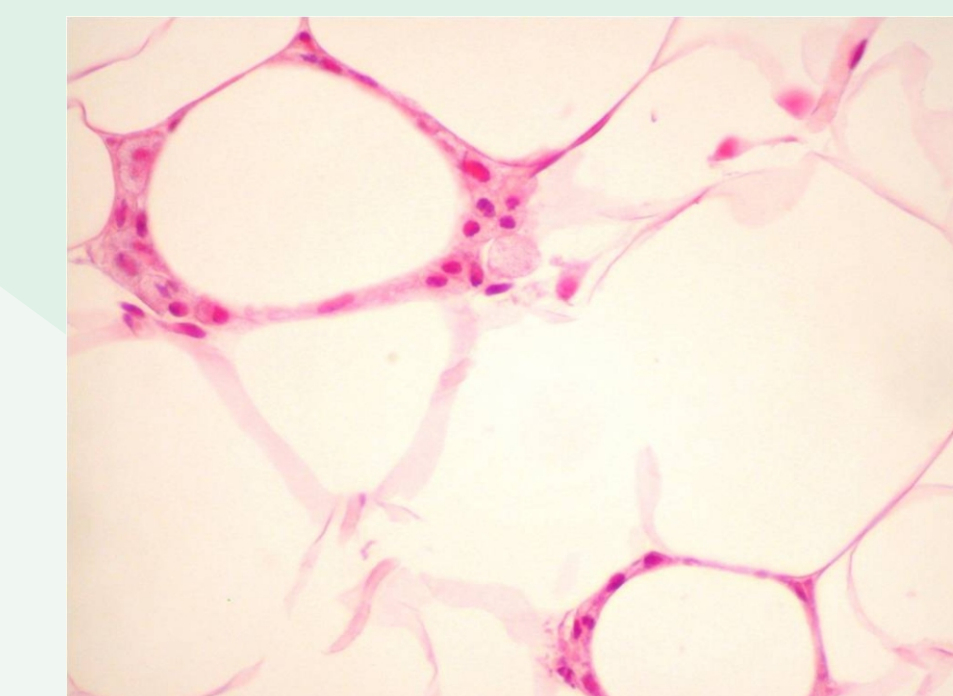


Figura 11: Corte histológico de tecido adiposo de animal obeso tratado com Sitagliptina corado com hematoxilina e eosina, aumento de 400 X

DISCUSSÃO

Podemos observar entre os camundongos submetidos à DHL, que aqueles que foram tratados com a sitagliptina obtiveram uma menor quantidade de proteínas inflamatórias (pJNK e IL-6) nos tecidos, como fígado e músculo, do que os animais que receberam salina. O mesmo pode ser observado nos animais controle, que também obtiveram a diminuição das proteínas inflamatórias, no caso pJNK, em relação aos tratados com salina. Além disso, observou-se uma menor concentração de estruturas crown-like no tecido adiposo dos animais tratados com Sitagliptina revelando que a droga possui um efeito significativo na infiltração de macrófagos do tecido adiposo.

A influência do uso de um inibidor de DPP-4 no quadro inflamatório presente nos animais obesos, pode corresponder a uma das vias pela qual a droga age, alterando e melhorando o quadro de resistência à insulina, instalado nos tecidos. A ação no estado inflamatório pode ter sido mediada pelo aumento das incretinas (GLP-1) que resulta da inibição da enzima DPP-4, ou pela ação de outra substância, que também tenha sua degradação mediada pela enzima, e conseqüente aumento com o uso do inibidor desta.

CONCLUSÃO

Em conclusão, os resultados deste estudo demonstram que a administração de sitagliptina em camundongos obesos reduz o processo inflamatório de baixo grau sistêmico.

Suporte Financeiro

Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPQ, através do programa PIBIC.

O projeto foi aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal-CEEA/ UNICAMP.

