

Atividade Citotóxica e Moduladora da Mielossupressão de Derivados do Nitroestireno em Camundongos Portadores do Tumor Ascítico de Ehrlich

Laís Furlan Embrizi, Andrana Karla Calgarotto, Julia de Souza Queiroz, Juliana Falcato Vecina, Mary Luci de Souza Queiroz

Agência de Fomento: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo – FAPESP

Palavras-chave: Nitroestireno – TAE – Hematopoese

INTRODUÇÃO

O objetivo principal da pesquisa quimioterápica visa, principalmente, a descoberta de novos agentes capazes de inibir especificamente a multiplicação viral e de células neoplásicas, sem afetar a divisão celular normal. Entretanto, os tratamentos de primeira escolha atualmente empregados na terapia do câncer, como a quimioterapia e a radioterapia, são destituídos de toxicidade seletiva, provocando efeitos colaterais graves, dentre eles a inibição da resposta imune que é crítica para a recuperação do paciente. O tratamento com tais agentes é limitado principalmente por imunossupressão e mielossupressão, além de outros efeitos colaterais em células normais¹. Neste caso, a indução farmacológica de uma resposta imune apropriada, ou a modulação do sistema imune, é ferramenta útil que visa, principalmente, aumentar ou restabelecer os mecanismos de defesa próprios do hospedeiro para agir contra as células cancerosas. Neste sentido, resultados experimentais têm sido obtidos com compostos derivados do nitroestireno, os quais apresentaram uma série relevante de atividades biológicas, tais como inibidores da telomerase em células cancerosas humanas, atividade citotóxica e inibidora do metabolismo².

METODOLOGIA

Através de estudos *in vitro*, avaliamos a atividade citotóxica destes compostos empregando o método de redução do MTT-tetrazólio nas linhagens tumorais HL-60 e K562. Este teste é amplamente utilizado para avaliar a proliferação e viabilidade celular.

A eficácia terapêutica dos compostos foi investigada através do estudo da sobrevivência de animais portadores do tumor ascítico de Ehrlich (TAE). O tratamento com os derivados do nitroestireno consistiu na administração intraperitoneal de N1 e N2 com diferentes concentrações em três doses, a primeira sendo 24h após a inoculação do TAE e as seguintes, a cada sete dias.

A capacidade destes derivados de reverter a acentuada mielossupressão observada em animais portadores do TAE, a qual culmina com a morte do hospedeiro, foi avaliada através do estudo do crescimento e diferenciação *in vitro* de precursores hematopoéticos para granulócitos e macrófagos (CFU-GM) na medula óssea e no baço, da atividade estimuladora de colônias (CSA) do soro^{3,4}.

RESULTADOS

Avaliação da Sobrevivência

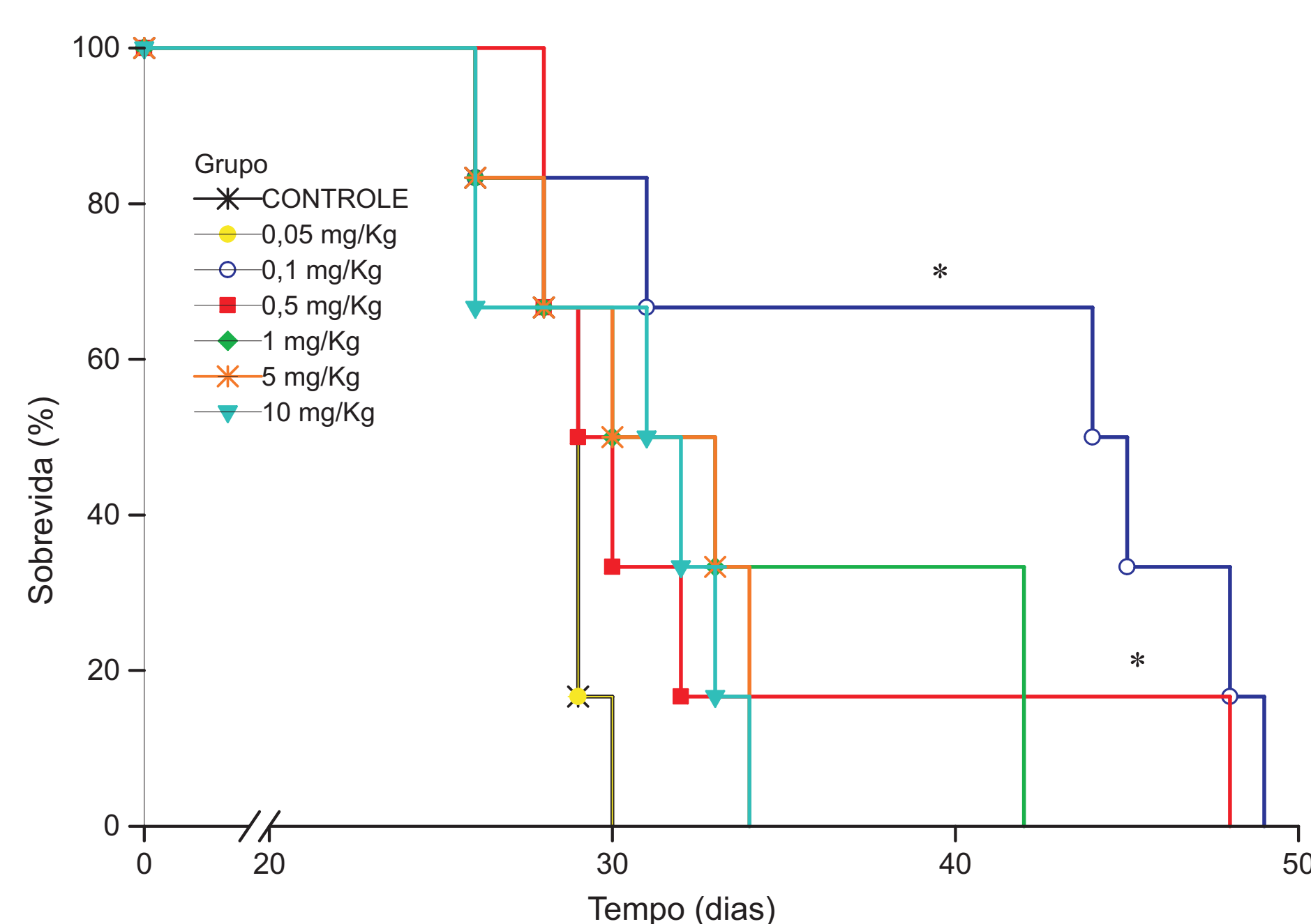


Figura 1: Efeito do tratamento terapêutico com diferentes concentrações de N1 (0,05; 0,1; 0,5; 1; 5 e 10 mg/Kg), na sobrevivência de camundongos BALB/c portadores de TAE. O tratamento foi iniciado no dia da inoculação i.p. das células do tumor (3×10^7 células/mL ou 6×10^8 células/animal). Grupos de 10 animais foram observados diariamente para a avaliação da sobrevivência; (*) significativo em relação ao controle ($p < 0,05$, Kaplan-Meier; Teste Long-Rank).

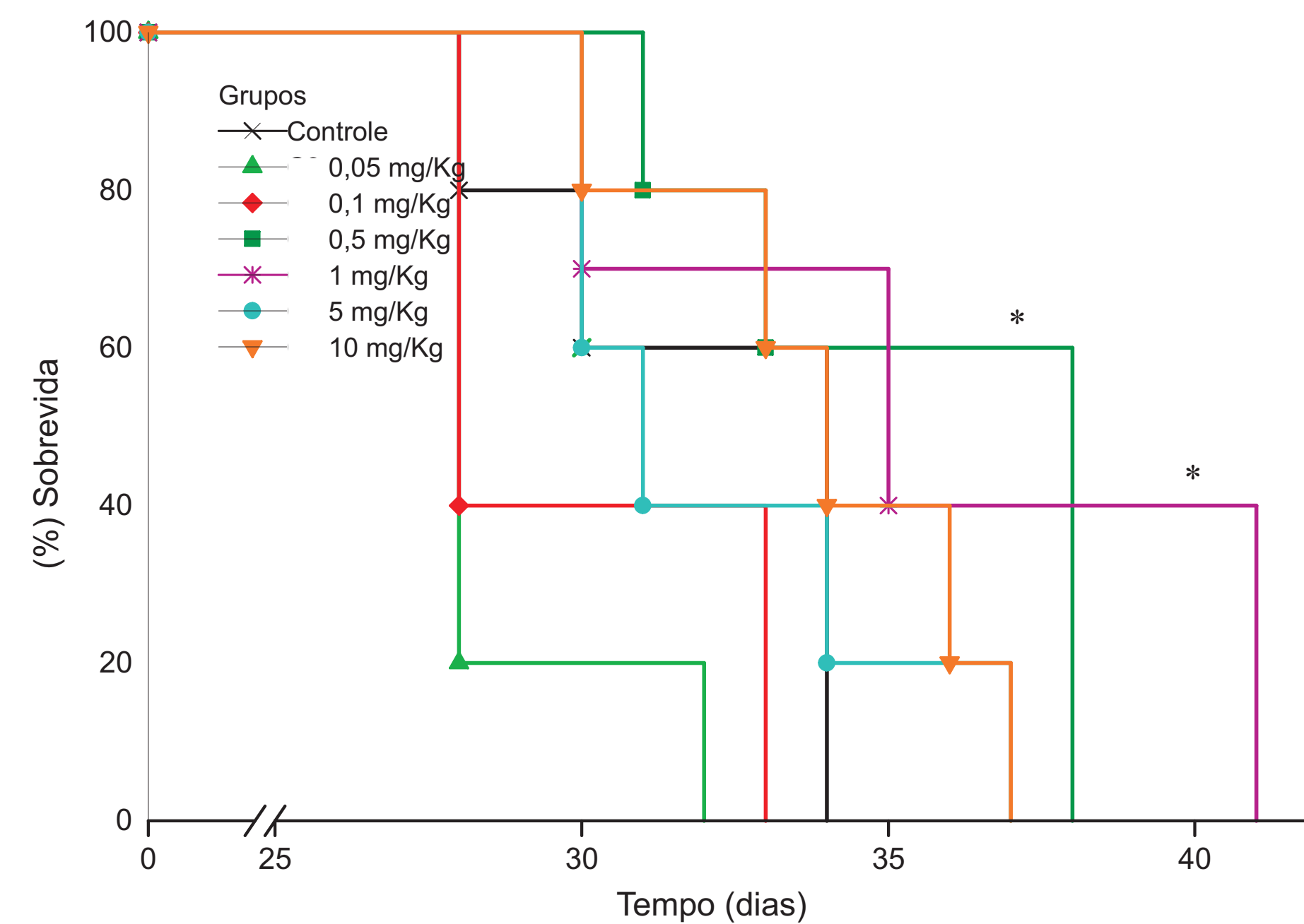


Figura 2: Efeito do tratamento terapêutico com diferentes concentrações de N2 (0,05; 0,1; 0,5; 1; 5 e 10 mg/Kg), na sobrevivência de camundongos BALB/c portadores de TAE. O tratamento foi iniciado no dia da inoculação i.p. das células do tumor (3×10^7 células/mL ou 6×10^8 células/animal). Grupos de 10 animais foram observados diariamente para a avaliação da sobrevivência; (*) significativo em relação ao controle ($p < 0,05$, Kaplan-Meier; Teste Long-Rank).

Avaliação dos Precursores Hematopoéticos para Granulócitos e Macrófagos (CFU-GM) na Medula Óssea e no Baço

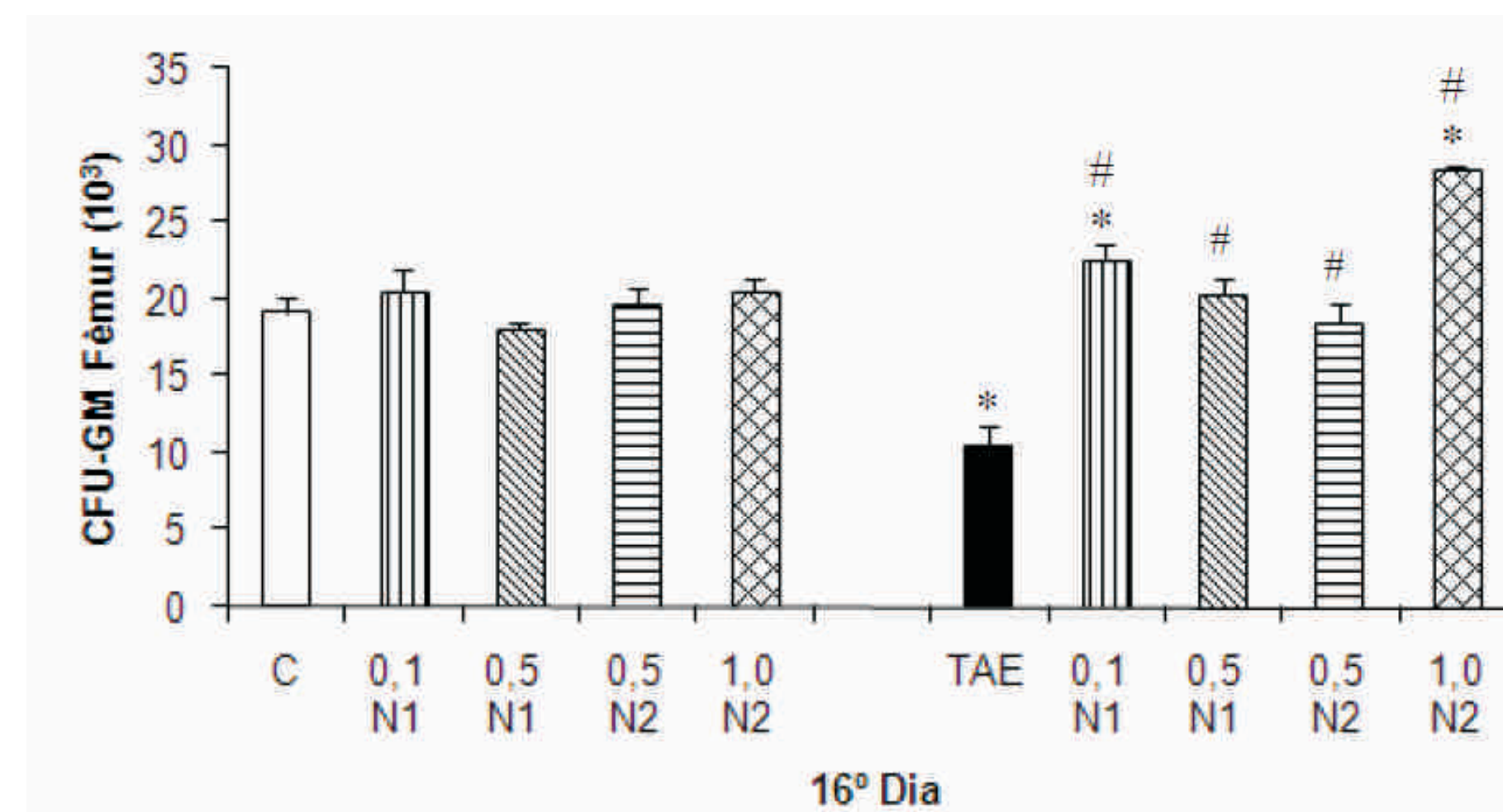


Figura 3: Efeitos dos compostos N1 (0,1 e 0,5 mg/Kg) e N2 (0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre o crescimento e diferenciação de precursores hematopoéticos para granulócitos e macrófagos (CFU-GM) da medula óssea de animais normais e inoculados com tumor ascítico de Ehrlich (3×10^7 células/mL ou 6×10^8 células/animal, ip). Os animais foram sacrificados no quinto, no nono e no décimo sexto dias após a inoculação do tumor. Os dados representam a média \pm DP obtidos de 6 animais por grupo. * $p < 0,001$ em relação ao controle; # $p < 0,001$ em relação ao TAE. (ANOVA, Tukey).

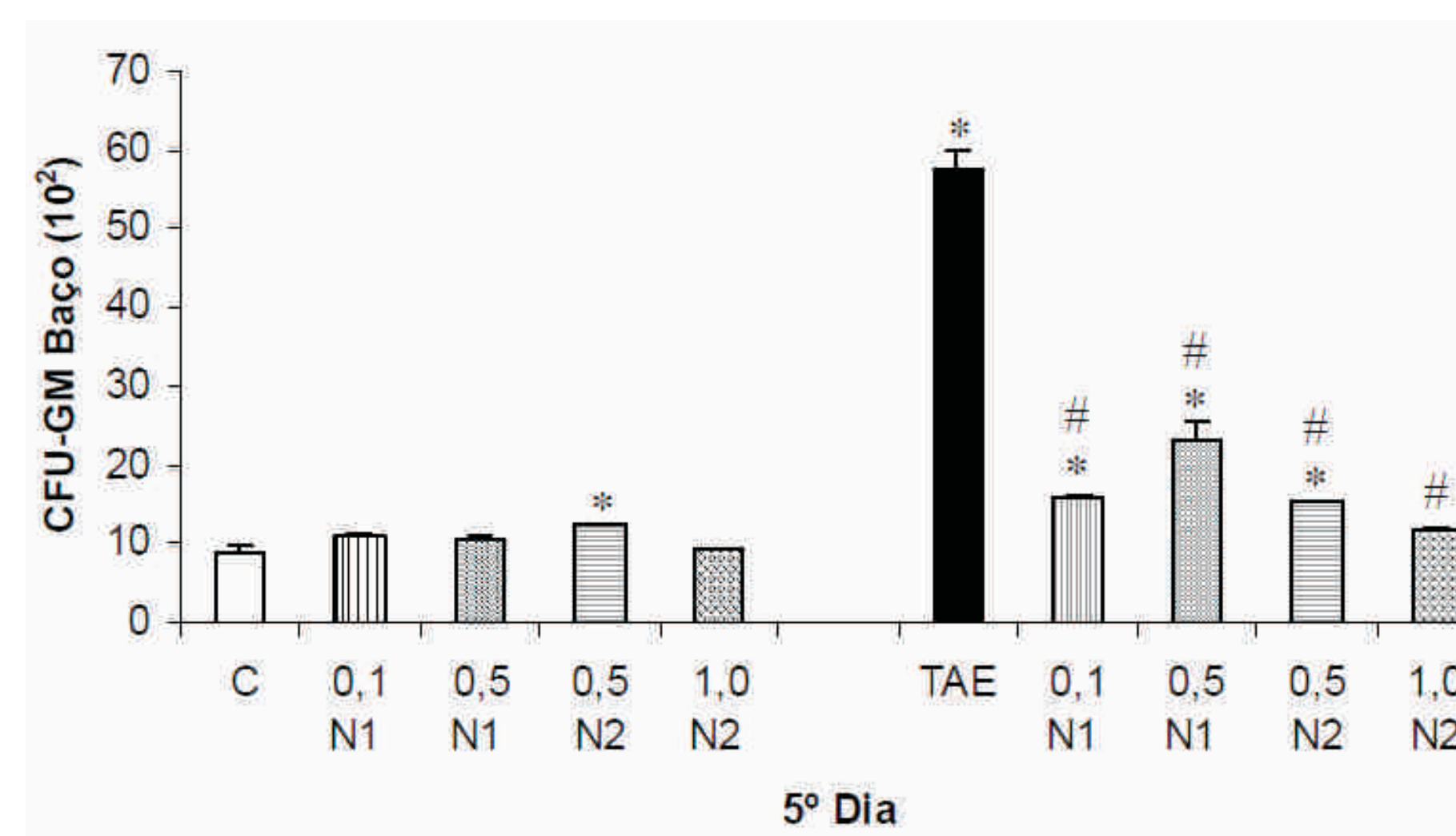


Figura 4: Efeitos dos compostos N1 (0,1 e 0,5 mg/Kg) e N2 (0,5 e 1,0 mg/Kg) sobre o crescimento e diferenciação de precursores hematopoéticos para granulócitos e macrófagos (CFU-GM) do baço de animais normais e inoculados com tumor ascítico de Ehrlich (3×10^7 células/mL ou 6×10^8 células/animal, ip). Os animais foram sacrificados no quinto, no nono e no décimo sexto dias após a inoculação do tumor. Os dados representam a média \pm DP obtidos de 6 animais por grupo. * $p < 0,001$ em relação ao controle; # $p < 0,001$ em relação ao TAE. (ANOVA, Tukey).

Avaliação da Atividade Estimuladora de Colônias (CSA) do Soro

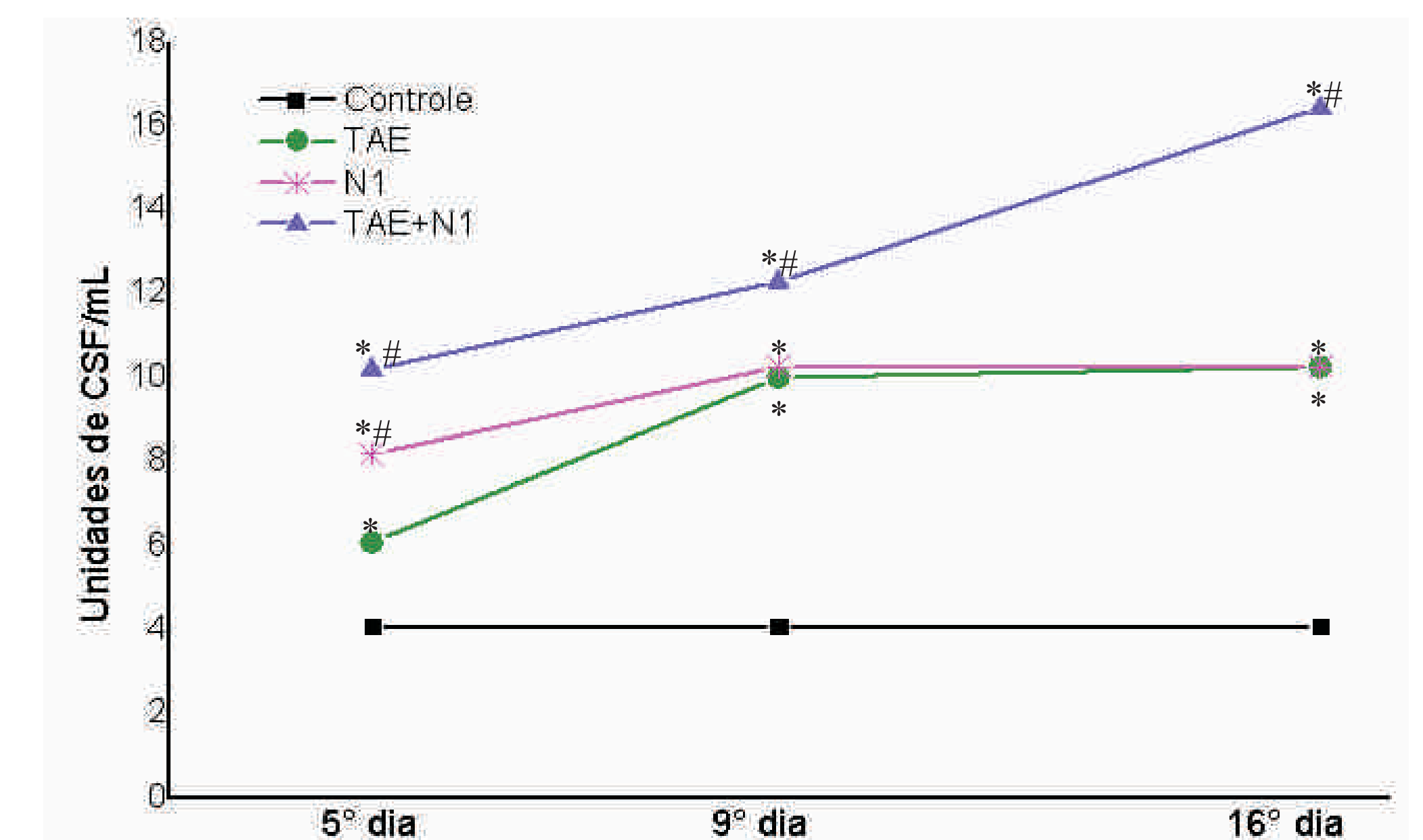


Figura 5: Atividade estimuladora de colônias (unidades de CSF/mL) no soro de camundongos BALB/c portadores de TAE, tratados com 0,1 mg/Kg N1 após a inoculação i.p. de células do tumor (3×10^7 células/mL ou 6×10^8 células/animal). Os animais foram sacrificados no quinto, no nono e no décimo sexto dias após a inoculação do tumor. Os dados representam a média \pm DP obtidos de 6 animais por grupo. * $p < 0,01$ em relação ao controle; # $p < 0,05$ em relação ao TAE (ANOVA, Tukey).

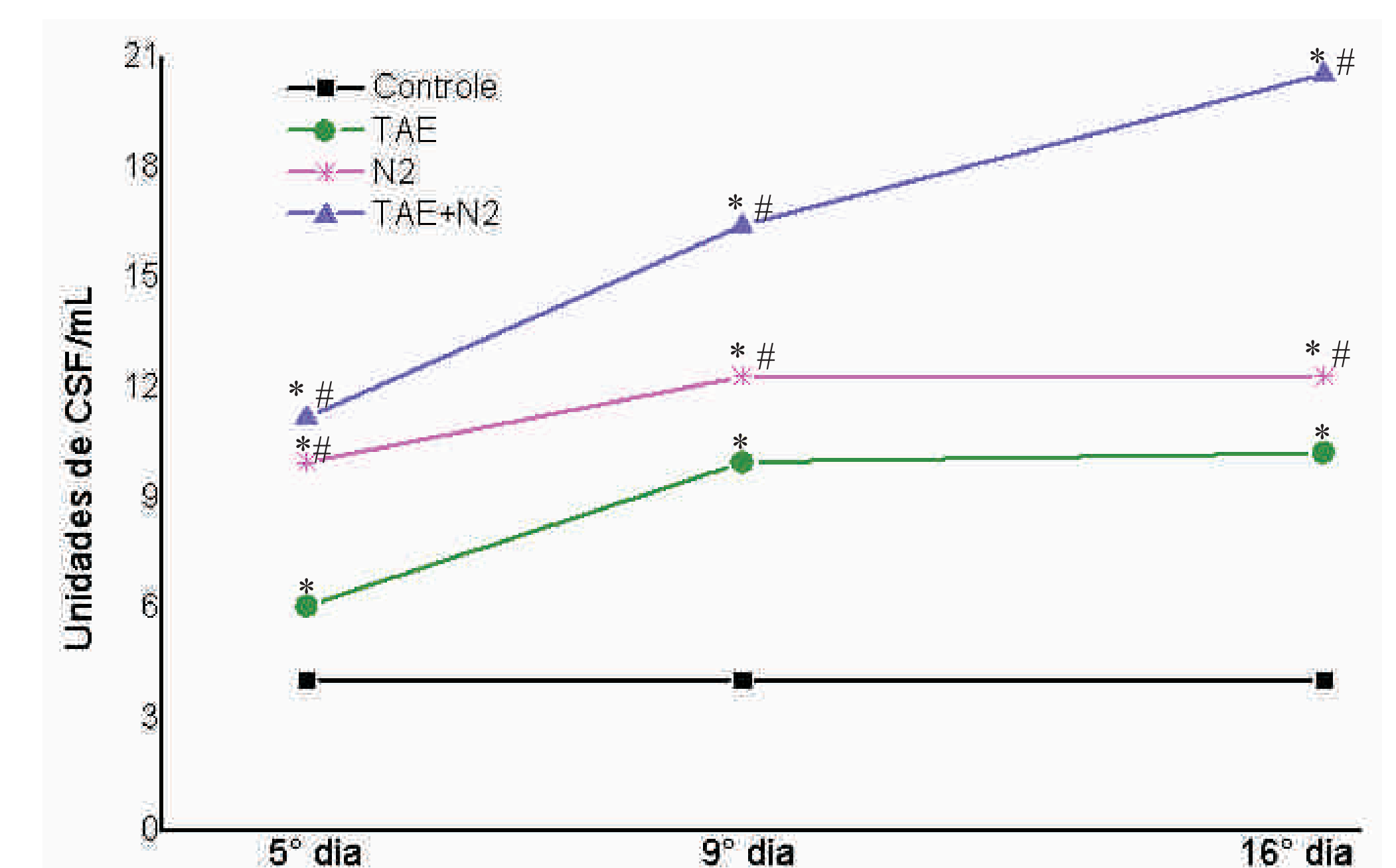


Figura 6: Atividade estimuladora de colônias (unidades de CSF/mL) no soro de camundongos BALB/c portadores de TAE, tratados com 1 mg/Kg N2 após a inoculação i.p. de células do tumor (3×10^7 células/mL ou 6×10^8 células/animal). Os animais foram sacrificados no quinto, no nono e no décimo sexto dias após a inoculação do tumor. Os dados representam a média \pm DP obtidos de 6 animais por grupo. * $p < 0,001$ em relação ao controle; # $p < 0,001$ em relação ao TAE (ANOVA, Tukey).

CONCLUSÕES

Nesse estudo demonstramos que a administração intraperitoneal de N1 e N2 aumenta a sobrevivência de camundongos portadores do TAE quando administrada nas doses 0,5 e 0,1 mg/Kg de N1 e 1 e 0,5 mg/Kg de N2 em três momentos após a inoculação do tumor. O tratamento com N1 e N2 também preveniu a mielossupressão e esplenomegalia causada pela evolução temporal do tumor, devido a um aumento no número de progenitores para granulócitos e macrófagos (CFU-GM) na medula óssea.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- FISHER DC & PETERS WP. Curr Opin Hematol, 1(3):221-7, 1994.
- MILHAZES N, et al. Bioorg Med Chem, 14(12):4078-88, 2006.
- QUEIROZ ML, et al. Immunopharmacol Immunotoxicol, 26(4):511-25, 2004.
- QUEIROZ, MARY L. S, et al. Food and Chemical Toxicology, 46: 3147-3154, 2008.