

UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO  
CENTRO DE CIÊNCIAS SOCIAIS, SAÚDE E TECNOLOGIA  
CURSO DE MEDICINA

BRUNA DA SILVA LIMA

**MANUTENÇÃO DO TUMOR DE EHRLICH EM CAMUNDONDOS NON  
OBESE DIABETIC (NOD) AUMENTA SUA INVASIVIDADE**

IMPERATRIZ  
2018

BRUNA DA SILVA LIMA

**MANUTENÇÃO DO TUMOR DE EHRLICH EM CAMUNDONDOS NON  
OBESE DIABETIC (NOD) AUMENTA SUA INVASIVIDADE**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado ao Curso de Medicina da  
Universidade Federal do Maranhão,  
Campus Imperatriz, como parte dos  
requisitos para a obtenção do título de  
Bacharel em Medicina

**Orientador:** Prof Dr Aramys Silva dos  
Reis

IMPERATRIZ  
2018

Ficha gerada por meio do SIGAA/Biblioteca com dados fornecidos pelo(a) autor(a).  
Núcleo Integrado de Bibliotecas/UFMA

Lima, Bruna.

Manutenção do Tumor de Ehrlich em Camundondos Non Obese Diabetic NOD Aumenta sua Invasividade / Bruna Lima, Eder Fialho, Thiare Fortes. - 2018.

30 p.

Orientador(a): Aramys Reis.

Curso de Medicina, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, 2018.

1. Cancer. 2. Carcinoma de Ehrlich. 3. Diabetes Mellitus. I. Fialho, Eder. II. Fortes, Thiare. III. Reis, Aramys. IV. Título.

## COMITÊ DE ÉTICA



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO**  
**COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS-CEUA**  
**CLAEF:01.0341.2014**

### CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada "Bioprospecção de espécies vegetais com atividade anti-diabetes: ação sobre a inibição enzimática, a glicemia e a produção de insulina" registrada com o n° 23115.009717/2015-10, sob a responsabilidade de Rosane Nassar Meireles Guerra, que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino) - encontra-se de acordo com os preceitos da Lei n° 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto n° 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), e foi considerado Aprovada pela Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA- UFMA) da Universidade Federal do Maranhão em reunião de 21/11/2016.

<b>FINALIDADE</b>	<input type="checkbox"/> Ensino <input checked="" type="checkbox"/> Pesquisa <input type="checkbox"/> Extensão
<b>Vigência da autorização</b>	01/11/2015 a 30/10/2019
<b>Espécie/linhagem/raça</b>	Swiss, NOD, Balb/c, C57Bl/6
<b>N° de animais</b>	600 (150 Swiss, 150 NOD, 150 Balb/c, 150 C57Bl/6)
<b>Peso/Idade</b>	150-250g / 2-6 meses
<b>Sexo</b>	Machos e fêmeas
<b>Origem</b>	150 Swiss -Biotério Central da UFMA e 450- CEMIB/UNICAMP - SP

Prof. Dra. Lucilene Amorim Silva  
Presidente da Comissão de Ética no uso de animais-CEUA  
UFMA

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, fonte de força, esperança e fé em todos os momentos da minha vida, principalmente, durante minha formação acadêmica. Não há palavras para expressar minha gratidão pelo seu cuidado constante desde as pequenas coisas.

Aos meus pais, Raimundo Neto e Samara Ferreira, pelo suporte, compreensão e incentivo na busca pelos meus propósitos. Obrigada por sempre assumirem meus sonhos como seus também.

Aos meus avós maternos, Amadeu Vitorino e Iracy Ferreira, por todo carinho e proteção. Minha gratidão e admiração!

Aos meus professores, pelo empenho em transmitir valiosos ensinamentos profissionais e de vida. Em especial ao meu orientador, Aramys da Silva Reis, pela paciência, dedicação, e pela ajuda indispensável na realização deste trabalho. Agradeço ainda por me guiar rumo aos meus objetivos e por abrir as portas da iniciação científica para mim, e pelo constante estímulo à pesquisa.

Aos demais familiares e amigos, em especial, à minha irmã Brenda Lima, por todo companheirismo e apoio incondicional.

À esta instituição, por possibilitar a realização desse sonho, e a todos que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação profissional.

## **LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS**

DM2 - Diabetes Mellitus tipo 2

IGF – Fator de crescimento semelhante a insulina

DM1 - Diabetes Mellitus tipo 1

NOD – Non Obese Diabetic

TEA – Tumor de Ehrlich Ascítico

SS: Células tumorais mantidas em camundongos Swiss e transferidas novamente para Swiss

SN: Células tumorais mantidas em camundongos Swiss e transferidas para NOD

NN: Células tumorais mantidas em camundongos NOD e transferidas para NOD

NS: Células tumorais mantidas em camundongos NOD e transferidas para camundongos Swiss



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>14</b>
<b>2</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>15</b>
	2.1. Animais.....	15
	2.2. Procedimento Experimental .....	16
	2.3. Mensuração da Glicemia .....	17
	2.4 Análise estatística .....	17
<b>3</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>17</b>
	3.1 Transferência de TEA de camundongo NOD para SWISS aumenta agressividade .....	17
	3.2 Manutenção do TEA em camundongos SWISS induz hipoglicemia ..	20
<b>4.</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>21</b>
<b>5.</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>23</b>
	<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>15</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>16</b>

## Resumo

*Objetivo:* Alterações metabólicas podem modificar o crescimento de diversos tumores. Assim, este trabalho buscou avaliar o desenvolvimento do tumor de Ehrlich em animais pré-diabéticos.

*Métodos principais:* Células de Tumor de Ascítico Ehrlich (TAE) foram inoculadas no peritônio de camundongos Swiss (controle) e NOD (pré-disposição a diabetes) de forma cruzada ou não. Dessa forma, o TEA mantido em Swiss foi transplantado para camundongos Swiss (SS) ou NOD (SN) e o TAE mantido em NOD foi transplantado para camundongos NOD (NN) ou Swiss (NS). Posteriormente foi avaliado crescimento tumoral, glicemia e sobrevida dos camundongos.

*Achados chave:* Dez dias após a implantação do tumor foi verificado um aumento do número de células tumorais e volume ascítico no grupo NS quando comparado aos demais grupo. Interessantemente, este foi o que apresentou menor curva de sobrevida, ao passo que camundongos do grupo SN aumentaram a curva de sobrevivência quando comparados aos demais grupos. Em adição os grupos SS, NS e SN tiveram uma redução da taxa de glicemia no 10º dia após o inóculo, quando comparados ao dia zero.

*Significado:* Os resultados indicam que a manutenção do tumor de Ehrlich em camundongos NOD aumenta sua invasividade, quando transplantados para camundongos Swiss.

**Descritores:** Diabetes Mellitus. Carcinoma de Ehrlich. Cancer.

## Abstract

*Aims:* Metabolic variations may change the tumor development. Therefore, this work has aimed to evaluate the development of the Eritic Ascitic tumor (TEA) in animals predisposed to Type 1 Diabetes Mellitus (NOD).

*Main methods:* Ehrlich ascitic tumor cells (TAE) were inoculated in the peritoneum of Swiss mice (control) and NOD (pre-disposition to diabetes) cross-linked or not. Thus, the TEA maintained in Swiss was transplanted to Swiss (SS) or NOD (SN) mice and the NOD maintained in NOD was transplanted to NOD (NN) or Swiss (NS) mice. Tumor growth, glycemia and survival of the mice were then evaluated.

*Key findings:* Ten days after tumor implantation there was an increase in the number of tumor cells and ascites volume in the NS group when compared to the other groups. Interestingly, this was the one with the shortest survival curve, whereas SN mice increased the survival curve when compared to the other groups. Furthermore, the SS, NS and SN groups had a reduction of the glycemia rate on the 10th day after the inoculum when compared to day zero.

*Significance:* Our results indicate that maintenance of the Ehrlich tumor in NOD mice increases its invasiveness when transplanted to Swiss mice.

*Keywords:* Diabetes Mellitus. Carcinoma de Ehrlich. Cancer

# **Manutenção do Tumor de Ehrlich em Camundondos Non Obese Diabetic (NOD) Aumenta sua Invasividade**

Bruna da S. Lima<sup>1,2</sup>, Aramys S. Reis<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup> Laboratório de Imunofisiologia, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal do Maranhão, São Luis, MA, Brazil

<sup>2</sup> Laboratório de Fisiopatologia e Investigação Terapêutica, Centro de Ciências Sociais, Saúde e Tecnologia, Universidade Federal do Maranhão, Imperatriz, MA, Brazil

**Autor correspondente:** [brunasilval@yahoo.com.br](mailto:brunasilval@yahoo.com.br); [aramys.reis@ufma.br](mailto:aramys.reis@ufma.br)

## 1. Introdução

Alterações metabólicas estão associadas a diversos tipos de câncer. Assim, Diabetes mellitus tipo 2 (DM2) afeta a evolução de diversos tipos de neoplasias [1,2]. Essa associação, é explicada pela resistência à insulina, hiperinsulinemia, hiperglicemia, aumento da disponibilidade de hormônios esteroides, inflamação e pelos altos níveis de fatores de crescimento semelhante a insulina (IGF), que podem ser responsáveis pelo aumento da proliferação celular, favorecendo a carcinogênese [3].

Diabetes Melitus tipo1(DM1) caracteriza-se pela diminuição progressiva da função secretória das células beta pancreáticas, que se traduz, inicialmente, por perda de secreção de insulina e elevação gradual dos níveis glicêmicos [4]. O DM1 desenvolve-se em indivíduos com mecanismos defeituosos de auto-tolerância e imunoregulação e, provavelmente, é desencadeada por fatores ambientais e por uma série de interações multicelulares orquestradas por citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias [5].

Camundongos da linhagem *non obese diabetic* (nod) proporcionam um modelo experimental espontâneo para dm1, essa linhagem exhibe autoimunidade que causa diabetes através da destruição progressiva das células produtoras de insulina, de forma similar à que ocorre em humanos [6]. Histologicamente, estudos mostram que infiltrados de células imunológicas começam a ser observadas ao redor das ilhotas pancreáticas em até 3 a 4 semanas de idade, quando há peri-insulite [7]. Em seguida, esses infiltrados evoluem e invadem as ilhotas, causando a insulite característica dessa linhagem, de tal modo que a maioria dos animais demonstra insulite grave até a 10ª semana de idade [5,6,8].

Estudos indicam que a insulina pode estimular mitose e agir como antiapoptótico. Logo, sua atividade tumorigênica pode ser efetivada por seu efeito direto em seus receptores localizados nas células-alvo ou devido a alterações endócrinas intrínsecas às variações na concentração de insulina plasmática[9]. Acredita-se que células cancerígenas podem apresentar expressão elevada de receptores de insulina, aumentando, assim, a exposição da célula a fatores de crescimento celular, como igf-2 [10]. Além disso, tem sido demonstrado que essas alterações são capazes de causar translocação de carreadores de glicose intracelular para a membrana plasmática dessas células [11]. Diante disso, o estudo em questão tem como objetivo principal, investigar o impacto do ambiente pré-diabético de camundongos nod sobre crescimento do tumor ascítico de ehrlich (tae).

## **2. Materiais e métodos**

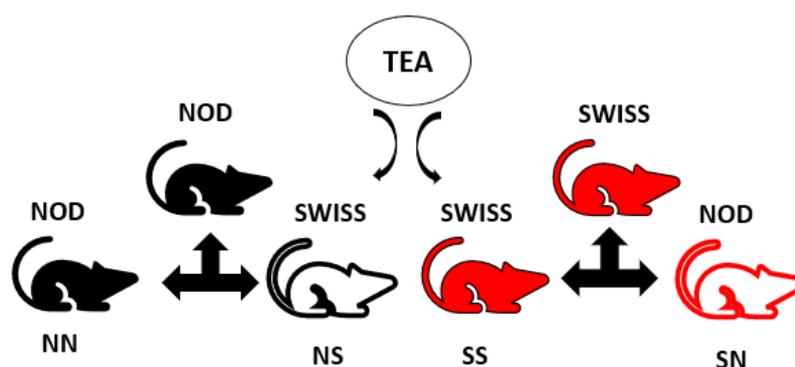
### *2.1. Animais*

Foram utilizados camundongos fêmeas da linhagem Swiss e NOD (*non obese diabetic*), com peso entre 25-30g e 3 e 4 meses de idade, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Os animais foram mantidos sob condições controladas de umidade, iluminação e temperatura (22 a 25°C) e alimentados com uma dieta balanceada e água *ad libitum*. O estudo foi realizado de acordo com recomendações do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal do Maranhão (CEUA-UFMA) sobre o protocolo número 23115.009717/2015-10.

## 2.2. Procedimento experimental

As células do tumor de Ehrlich foram mantidas por sucessivas passagens em camundongos Swiss através da inoculação intraperitoneal. Após sete dias de desenvolvimento o fluido ascítico foi aspirado com auxílio de uma seringa com agulha e centrifugado a 1200 rpm e as células tumorais ressuspendidas em Solução Tamponada de Fosfato (PBS), pH 7,4. Em experimentos específicos, as células tumorais foram obtidas após uma única passagem em camundongos NOD. Posteriormente foi realizada a contagem do número de células e analisada a viabilidade celular através da coloração com azul de tripan.

Para avaliação do desenvolvimento do Tumor Ascítico de Ehrlich (TEA) foram inoculados intraperitonealmente, de forma cruzada ou não, 200µL de uma suspensão celular contendo  $10^7$  células/ mL em dez camundongos por grupo. Dessa forma, células tumorais mantidas em camundongos Swiss foram transplantadas para camundongos Swiss (SS) ou NOD (SN) e as mantidas em NOD foram inoculadas em camundongos NOD (NN) ou Swiss (NS) (Figura 1).



**Fig. 1.** Protocolo de transferência de células do tumor de Ehrlich ascítico (TEA). As células do Tumor Ascítico de Ehrlich (TAE) ( $2 \times 10^6$ / camundongo) foram inoculados intraperitonealmente, de forma cruzada ou não para camundongos as linhagens Swiss w NOD. Assim, células tumorais mantidas em camundongos Swiss foram transplantadas para camundongos Swiss (SS) ou NOD (SN) e as mantidas em NOD foram inoculadas em camundongos NOD (NN) ou Swiss (NS).

Dez dias após a implantação do tumor, cinco camundongos de cada grupo foram eutanaziados com dose letal de anestésico. Para avaliação do desenvolvimento tumoral foi coletado o fluido ascítico para quantificação do volume e número de células tumorais. Os outros cinco camundongos foram mantidos para avaliação da sobrevida.

### *2.3. Mensuração da glicemia*

No primeiro e décimo dia após a inoculação das células tumorais uma gota de sangue foi obtida da veia caudal e analisada com auxílio de um glicosímetro automático (Advantage®), para avaliação da glicemia dos camundongos.

### *2.4. Análise estatística*

Os procedimentos estatísticos foram realizados com auxílio do Software Graph Pad Prism, versão 5.0, por análise de variância (ANOVA) one-way e pós teste de Bonferroni ou teste t-Student. A sobrevida dos camundongos foi demonstrada usando a curva de Kaplan-Meier e o teste estatístico de log-rank foi aplicado para comparação entre as curvas. Foi considerado o nível de significância de 5%. Os dados foram expressos com a média  $\pm$  desvio padrão da média (SD) de 5 animais por grupo

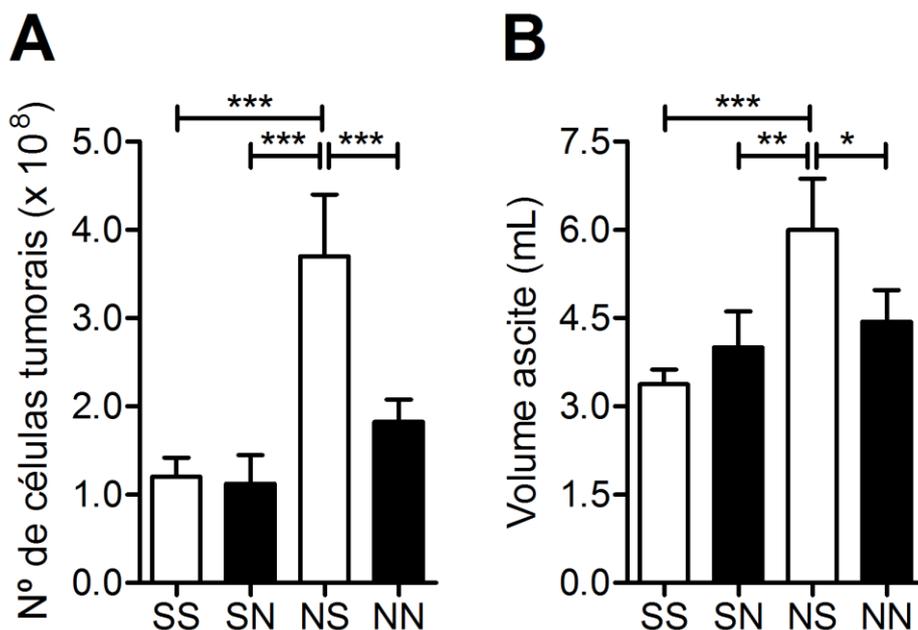
## **3. Resultados**

### *3.1. Transferência de TEA de camundongos NOD para Swiss aumenta agressividade.*

Dez dias após a implantação foi evidenciada proliferação do tumor de Erlich em todos os grupos. Contudo, quando comparado ao demais grupos, houve aumento expressivo de células tumorais em camundongos Swiss que

receberam tumor de camundongos NOD (NS). Camundongos NOD que receberam células tumorais de camundongos Swiss (SN) ou de NOD (NN) não tiveram alteração no número de células tumorais, quando comparado ao grupo controle SS (Figura 2A).

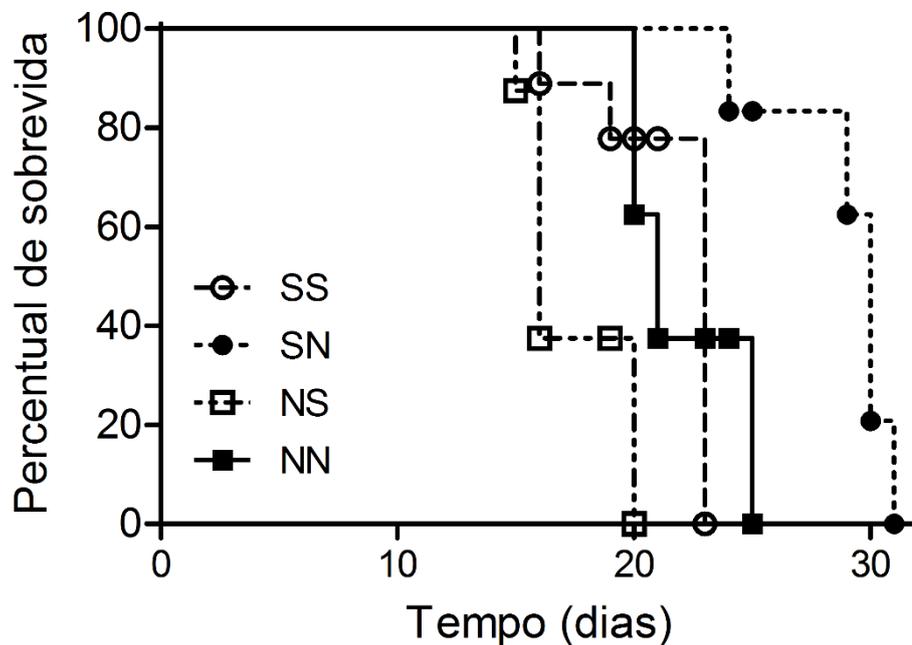
A ascite consiste em líquido presente em quantidade anormalmente aumentada na cavidade abdominal, decorrente de um processo inflamatório local intenso e está diretamente relacionado a agressividade do tumor [12]. Interessantemente, alterações no volume ascítico seguiram o mesmo padrão de proliferação celular, onde o grupo NS teve uma aumento expressivo da ascite quando comparado aos demais grupo, porém os grupos SN e NN não tiveram mudanças expressivas quando comparados ao grupo SS (Figura 2B).



**Fig. 2.** Transferência de tumor de Ehrlich ascítico (TEA) de camundongos NOD para camundongos Swiss, aumenta a proliferação das células tumorais e ascite. Camundongos Swiss ou NOD receberam  $2 \times 10^6$  células de TEA intraperitonealmente de forma cruzada ou não entre as linhagens. 10 dias após o inoculo os camundongos foram eutanaziados e feita a contagem do número de células tumorais totais (A) e

volume da ascite (B). Os dados são apresentados com a média  $\pm$  desvio padrão de 5 camundongos por grupo. A diferença entre os grupos foi determinada através da análise de variância ANOVA One-way e pós teste de Bonferroni. \*  $P < 0,05$ ; \*\*  $P < 0,01$ ; \*\*\*  $P < 0,001$ .

Notavelmente, em relação ao grupo SS, houve uma redução da sobrevida entre os camundongos do grupo NS, com uma média de 16 dias ( $P = 0,0114$ ). Por outro lado, camundongos NOD que receberam células tumorais de camundongos Swiss tiveram um aumento da curva de sobrevida, com média de 30 dias, quando comparados ao grupo SS ( $P = 0,0305$ ). Não houve diferença expressiva entre as curvas de sobrevivência dos grupos que receberam tumor da mesma linhagem (SS x NN) ( $P = 0,7440$ ) (Figura 3).

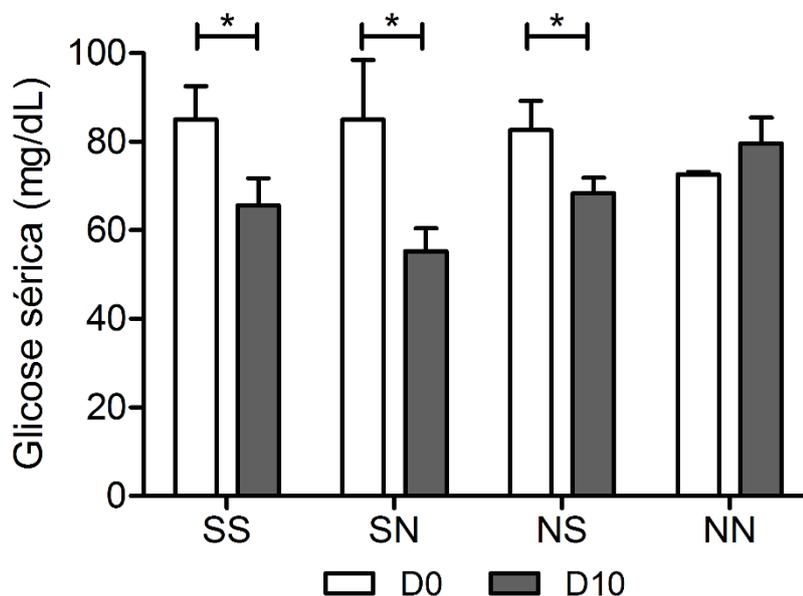


**Fig. 3.** Camundongos Swiss que receberam de tumor de Ehrlich ascítico (TEA) de camundongos NOD têm redução da sobrevida. Camundongos Swiss ou NOD receberam  $2 \times 10^6$  células de TEA intraperitonealmente de forma cruzada ou não entre

as linhagens. Os animais foram monitorados diariamente para avaliação da sobrevivência. Os dados são apresentados com a curva de sobrevivência de Kaplan-Meier e analisados utilizando o teste log-rank utilizando 5 camundongos por grupo.

### 3.2. Manutenção do TEA em camundongos Swiss induz hipoglicemia.

A alta demanda metabólica tumoral é responsável por alterações glicêmicas em diversos tipos de neoplasias em animais fisiologicamente normais[13]. Em nosso estudo, camundongos que receberam células tumorais doadas de camundongos Swiss (SS e SN) e camundongos Swiss que receberam de NOD (NS) tiveram uma redução dos níveis glicêmicos 10 dias após a implantação. Por outro lado, não houve alteração significativa da glicemia dos camundongos NOD que receberam as células tumorais transferidas de camundongos NOD (NN) (Figura 4).



**Fig. 4.** Manutenção do tumor de Ehrlich ascítico (TEA) em camundongos Swiss e NOD induz hipoglicemia. Camundongos Swiss ou NOD receberam  $2 \times 10^6$  células de TEA intraperitonealmente de forma cruzada ou não entre as linhagens. Antes (D) e dez dias

após (D10) o inóculo das células tumorais a glicemia dos animais mensurada utilizando o glicosímetro automático. Os dados são apresentados com a média  $\pm$  desvio padrão de 3 camundongos por grupo. A diferença entre a glicemia em D0 e D10 de cada grupo isoladamente foi determinada através do teste t-Student. \*  $P < 0,05$ .

#### **4. Discussão**

Há evidências que diferentes tipos de tumores, incluindo tumor de Erlich, têm um crescimento mais lento quando se desenvolvem em um ambiente diabético, com hiperglicemia e hipoinsulinemia [11,14,15]. No entanto, ainda não está claro se esse desenvolvimento também é alterado em condições pré-diabéticas e se a manutenção destas células num ambiente metabolicamente modificado altera sua agressividade. Neste trabalho foi mostrado que a manutenção do TAE em camundongos NOD pré-diabéticos aumenta sua invasividade quando transplantados para camundongos Swiss metabolicamente normais, aumentando o número de células tumorais e volume ascítico, bem como reduzindo a sobrevivência destes animais.

Desde a 4ª semana de idade o pâncreas de camundongos NOD já apresenta um importante infiltrado de leucócitos, caracterizando um quadro de insulite [6]. Além disso, tem sido evidenciado que mesmo neste estágio pré-diabético sem hiperglicemia, camundongos NOD já apresentam uma hipoinsulinemia significativa quando comparados aos grupos controles [16,17]. Deste modo, mesmo sem um quadro de hiperglicemia, os camundongos NOD utilizados no estudo já teriam iniciado o processo de destruição beta pancreática com consequente redução da insulina plasmática.

Nossos resultados mostram que células tumorais quando transferidas de camundongos Swiss, fisiologicamente normais, para NOD, não incrementaram

a proliferação celular a curto prazo, no entanto, houve aumento expressivo da sobrevida dos animais hospedeiros, indicando que estado pré-diabético insulino-pênico compromete o desenvolvimento tumoral. De fato, a correlação entre o desenvolvimento tumoral e o estado pré-diabético tipo 1 tem sido enfatizada em alguns estudos, devido a ação da insulina como fator de crescimento, substância pró-mitótica e anti-apoptótica [1,18]. Em contrapartida, quando as células são mantidas em camundongos NOD e transplantadas para NOD, o crescimento tumoral retorna ao normal. Isso indica que as células tumorais se ajustaram ao ambiente pré-diabético conseguindo transpor a falta de insulina. Sugerindo, assim, o desenvolvimento de mecanismos adaptativos para superar a deficiência metabólica do hospedeiro. De fato, tem sido mostrado que tumores possuem capacidade de aumentar a expressão de receptores de insulina e fatores de crescimento semelhante a insulina (IGF), de translocar transportadores intracelulares de insulina para a superfície da célula e síntese de insulina pelo próprio tumor [19–21]. Além disso, experimentos prévios mostraram que a suplementação de insulina exógena, em animais induzidos a DM1 farmacologicamente, levou à retomada do desenvolvimento do tumor inoculado de forma normal, tal fato fortalece a teoria de influência da insulina no crescimento neoplásico [11,19,22].

Interessantemente, quando essas células mantidas em NODs, que possivelmente ajustaram-se a um meio com redução da produção de insulina, encontram um ambiente metabolicamente saudável, são capazes de incrementar seu crescimento, diminuindo a sobrevida dos camundongos hospedeiros, visto que os camundongos Swiss receptores de células cancerígenas mantidas em NOD (NS) foram os que apresentaram a menor

sobrevida, maior número de células neoplásicas e de volume ascítico dentre os grupos analisados. Reforçando a hipótese que células cancerígenas são capazes de se ajustarem ao meio escasso em fatores de crescimento por meio da autoprodução ou do incremento na captação desses fatores e quando retornam à ambiente metabolicamente equilibrado podem fomentar seu crescimento.

Em adição, os animais que receberam células provenientes de Swiss apresentaram redução significativa da glicemia após o transplante. No entanto, estima-se que o consumo aumentado de glicose provavelmente não teve relação com a adaptação celular aos diferentes ambientes metabólicos, já que não seguiu o mesmo padrão de desenvolvimento tumoral. Experimentos prévios indicam que células neoplásicas adequam seu metabolismo energético em favor da via glicolítica dominante, para que haja rápida geração de energia e proliferação celular [13]. Além disso, diversos estudos mostram que há redução importante na glicemia após inoculação de diversos tipos de tumores [11,14,15]. Ademais, há necessidade de mais estudos nesse âmbito para elucidar o fenômeno.

## **5. Conclusão**

Em suma, mesmo em camundongos normoglicêmicos, houve variação no desenvolvimento tumoral após transplante dessas células para camundongos NOD e isso promoveu incremento na sua invasividade quando transferidas para camundongos Swiss, indicando alterações bioquímicas no TAE. Assim, o trabalho traz importantes contribuições no âmbito de compreender o desenvolvimento tumoral em diferentes ambientes metabólicos, contudo, mais

estudos fazem-se necessários para elucidar quais alterações bioquímicas e celulares estão envolvidas neste processo.

### **Agradecimentos**

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e pela Fundação de Amparo a Pesquisa e Desenvolvimento Tecnológico do Maranhão (FAPEMA).

### **Declaração de Divulgação**

Os autores não têm nada a revelar.

## Referências

- [1] C. Greenhill, Suppressing insulin feedback to improve efficacy of cancer therapeutics, *Nat. Rev. Endocrinol.* 14 (2018) 501–501.  
doi:10.1038/s41574-018-0067-4.
- [2] F. Liu, L. Yan, Z. Wang, Y. Lu, Y. Chu, X. Li, Y. Liu, D. Rui, S. Nie, H. Xiang, Metformin therapy and risk of colorectal adenomas and colorectal cancer in type 2 diabetes mellitus patients: A systematic review and meta-analysis, *Oncotarget.* 8 (2017) 16017–16026.  
doi:10.18632/oncotarget.13762.
- [3] S.L. Bowker, Y. Yasui, P. Veugelers, J.A. Johnson, Glucose-lowering agents and cancer mortality rates in type 2 diabetes: Assessing effects of time-varying exposure, *Diabetologia.* 53 (2010) 1631–1637.  
doi:10.1016/j.engfracmech.2017.07.006.
- [4] M. Rewers, J. Ludvigsson, Environmental risk factors for type 1 diabetes., *Lancet (London, England).* 387 (2016) 2340–2348. doi:10.1016/S0140-6736(16)30507-4.
- [5] T. S., T. M., H. D., L. T., I. F., Paquinimod prevents development of diabetes in the non-obese diabetic (NOD) mouse, *PLoS One.* 13 (2018) 1–17. doi:10.1371/journal.pone.0196598.
- [6] M.S. Anderson, J.A. Bluestone, THE NOD MOUSE: A Model of Immune Dysregulation, *Annu. Rev. Immunol.* 23 (2005) 447–485.  
doi:10.1146/annurev.immunol.23.021704.115643.
- [7] L.S. Wicker, J.A. Todd, L.B. Peterson, GENETIC CONTROL OF AUTOIMMUNE DIABETES IN THE Natural History of Disease, *Analysis.* (1995) 179–200. doi:10.1038/nature06258.A.

- [8] G.A. Passos, T.A. Fornari, P.B. Donate, C. MacEdo, E.T. Sakamoto-Hojo, E.A. Donadi, Development of type 1 diabetes mellitus in nonobese diabetic mice follows changes in thymocyte and peripheral T lymphocyte transcriptional activity, *Clin. Dev. Immunol.* 2011 (2011). doi:10.1155/2011/158735.
- [9] B. Arcidiacono, S. Iiritano, A. Nocera, K. Possidente, M.T. Nevolo, V. Ventura, D. Foti, E. Chiefari, A. Brunetti, Insulin resistance and cancer risk: An overview of the pathogenetic mechanisms, *Exp. Diabetes Res.* 2012 (2012). doi:10.1155/2012/789174.
- [10] H. Xu, H.W. Jiang, Q. Ding, Vías relacionadas con IGF-1 (Insulin-like growth factor-1) y promoción de dieta alta en grasas en la progresión del cáncer de próstata en ratones TRAMP (Transgenic Adenocarcinoma of the Mouse Prostate), *Actas Urol. Esp.* 39 (2015) 161–168. doi:10.1016/j.acuro.2014.05.014.
- [11] K.P. Fung, T.W. Chan, Y.M. Choy, Suppression of Ehrlich Ascites tumor Growth in Mice by Starvation and Streptozotocin-induced Diabetes, *28* (1985) 273–280.
- [12] D. Fecchio, P. Sirois, M. Russo, S. Jancar, Studies on inflammatory response induced by Ehrlich tumor in mice peritoneal cavity, *Inflammation.* 14 (1990) 125–132. doi:10.1007/BF00914035.
- [13] H. Gwak, G. Haegeman, B.K. Tsang, Y.S. Song, Cancer-specific interruption of glucose metabolism by resveratrol is mediated through inhibition of Akt/GLUT1 axis in ovarian cancer cells, *Mol. Carcinog.* 54 (2015) 1529–1540. doi:10.1002/mc.22227.
- [14] K. Pavelic, M. Slijepdevic, J. Pavelic, M. Boranic, J. Ivic, S. Audy-

- Jurkovic, Z.P. Pavelic, Growth and Treatment of Ehrlich Tumor in Mice with Alloxan-induced Diabetes, *Cancer Res.* 39 (1979) 1807–1813.
- [15] G.M. Sloan, L.C. Harrison, L.H. Underhill, M.F. Brennan, Inhibition of tumor size by streptozotocin-induced diabetes mellitus, *J. Surg. Res.* 30 (1981) 463–472. doi:10.1016/0022-4804(81)90091-3.
- [16] F. Homo-Delarche, Is pancreas development abnormal in the non-obese diabetic mouse, a spontaneous model of type I diabetes?, *Brazilian J. Med. Biol. Res.* 34 (2001) 437–447. doi:10.1590/S0100-879X2001000400002.
- [17] Y. Goto, K. Kida, Y. Kaino, T. Inoue, M. Ikeuchi, T. Miyagawa, H. Matsuda, Insulin action on glucose uptake by soleus muscles of nonobese diabetic mice and streptozotocin diabetic mice, *Metabolism.* 37 (1988) 74–78. doi:10.1016/0026-0495(88)90032-7.
- [18] K. Pavelić, I. Bašić, J. Pavelić, Habituation of a mammary aplastic carcinoma on diabetic conditions, *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 97 (1980) 275–283. doi:10.1007/BF00405779.
- [19] K. Müssig, H. Staiger, K. Kantartzis, A. Fritsche, L. Kanz, H.U. Häring, Diabetes, Insulin, Insulinanaloga und Karzinome, *Dtsch. Medizinische Wochenschrift.* 135 (2010) 924–929. doi:10.1055/s-0030-1253681.
- [20] R.T. Radulescu, Intracellular insulin in human tumors: Examples and implications, *Diabetol. Metab. Syndr.* 3 (2011) 5. doi:10.1186/1758-5996-3-5.
- [21] D.B. Ulanet, D.L. Ludwig, C.R. Kahn, D. Hanahan, Insulin receptor functionally enhances multistage tumor progression and conveys intrinsic resistance to IGF-1R targeted therapy, *Proc. Natl. Acad. Sci.* 107 (2010)

10791–10798. doi:10.1073/pnas.0914076107.

- [22] K. Pavelić, M. Slijepčević, Growth of a thymoma in diabetic mice treated with insulin, *Eur. J. Cancer*. 14 (1978) 675–679. doi:10.1016/0014-2964(78)90303-1.