

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO
RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



ISSN 1806-549 X

Autor(es): JOÃO VITOR DA SILVA RODRIGUES, JOÃO LUCAS RODRIGUES DOS SANTOS, ALFREDO MAURICIO BATISTA DE PAULA, ANA PAULA FONSECA OLIVEIRA, CAMILA SANTOS PEREIRA, OTÁVIO CARDOSO FILHO, MARCOS VINÍCIUS MACEDO DE OLIVEIRA

Resveratrol não Influencia a Reversão da Caquexia Associada ao Melanoma Maligno Cutâneo Experimental Singênico

Introdução

O melanoma é um tipo de câncer que ocorre a partir de alterações moleculares genéticas e epigenéticas em melanócitos localizados nos revestimentos mucosos, cutâneo e em órgãos internos. O melanoma cutâneo (MC) apresenta alta taxa na incidência mundial, com alto índice de letalidade devido a sua capacidade precoce de disseminação metastática. Com a progressão do câncer, geralmente desenvolve a caquexia que é associada inicialmente à ação natural da doença e mais tardiamente, ao crescimento tumoral e presença de metástases (TISDALE, 2002).

A caquexia é caracterizada como uma progressiva consumação física decorrente principalmente de alterações do metabolismo proteico em fibras musculares esqueléticas (MONDELLO *et al.*, 2015). Quando associada ao câncer, a caquexia promove um impacto negativo sobre a resposta terapêutica anti-neoplásica e a sobrevida geral (FEARON *et al.*, 2012; ARGILES, *et al.*, 2010).

O resveratrol é um composto sintetizado naturalmente na planta sob duas formas isômeras: trans-resveratrol e cis-resveratrol, é rapidamente absorvido e metabolizado e atua como supressor de processos inflamatórios que parecem também influenciar negativamente a progressão do câncer (DEMOULIN E HERMANT, 2015). Tem se mostrado em vários estudos que o resveratrol parece inibir o desenvolvimento tumoral por atuar em vias moleculares anti-câncer específicas.

O presente estudo propôs investigar o efeito do resveratrol sobre a reversão do quadro de caquexia associada ao MC experimental singênico em camundongos C57BL6.

Material e métodos

A. Aspectos éticos

O presente estudo foi avaliado e aprovado pelo comitê de ética em experimentação e bem-estar animal da Unimontes (CEEBEA/Unimontes.Parecer: 099/2016).

B. Animais

Foram utilizadas 22 de camundongos C57Bl/6, fêmeas, saudáveis, sem histórico de uso de qualquer tipo de droga, com idade entre 10 e 12 semanas, com cerca de 50 ± 5 gramas de peso corporal. Os animais foram adquiridos do biotério do departamento de Bioquímica e Farmacologia Molecular do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Inicialmente foram mantidos no biotério do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde da Unimontes para adaptação em condições adequadas de temperatura ambiente ($22 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa do ar de $60 \pm 5\%$, 12h de ciclos de claro/escuro e baixo nível sonoro < 40 dB, com livre acesso à água filtrada e ração balanceada (Purina-Labina®). Na condução experimental os animais foram distribuídos em quatro grupos, sendo dois controles e dois casos. Os grupos controles foram constituídos por quatro animais que não foram submetidos à indução do MC singênico. Já os grupos casos, continham sete animais e foram submetidos ao MC singênico através da inoculação de células de melanoma murinho B16-F10. Um grupo controle e um grupo caso foram tratados com resveratrol e os demais grupos receberam tratamento com solução placebo (PBS), ambos por gavagem.

Os camundongos foram avaliados diariamente quanto às ingestões hídrica e alimentar. O peso da ração foi registrado com o auxílio de uma balança analítica, considerando o peso inicial e o final. A evolução da alteração do peso da ração foi dada pela divisão do peso em gramas de ração consumida por cada animal/dia. Para o cálculo do volume de ingestão hídrica, foi registrado o volume de água consumida diariamente com o uso de uma proveta plástica, com escala de volume.

C. Indução do modelo tumoral singênico de MC, Administração do Resveratrol e Diagnóstico da Caquexia

Os camundongos controles e casos foram submetidos à tricotomia na região dorsal. Após ausência de sensibilidade dolorosa reflexa, foi realizada assepsia com álcool iodado e em seguida os animais foram inoculados com 5×10^5 células de melanoma murino B16-F10, na região subcutânea dorsal. A presença do tumor foi identificada após um período de



cinco dias após a inoculação das células neoplásicas. No quinto dia pós-inoculação, os camundongos foram tratados diariamente com resveratrol (Sigma-Aldrich Co, Saint Louis, EUA) e PBS na concentração de 200 mg por cada 1.000 mg do peso corporal do Camundongo (dose de 0.2%) por meio da gavagem. O tratamento com resveratrol teve duração de 11 dias.

Os animais eram diariamente monitorados com relação à medição do peso corporal e do volume tumoral. O diagnóstico da caquexia foi estabelecido com a ocorrência das seguintes situações: (i) perda de peso corporal $\geq 10\%$, ao longo de 24 h; (ii) perda de peso corporal $\geq 20\%$ no intervalo de dias, a partir do início do experimento; (iii) perda de peso corporal $> 25\%$ em comparação com animais do grupo controle.

D. Análise Estatística

Os dados foram analisados pelo teste estatístico ANOVA com o uso do programa statistical package for Social Science (SPSS), versão 18.0. O nível de confiança adotado foi fixado em 95% ($p < 0.05$).

Resultados e discussão

A caquexia associada ao câncer é caracterizada principalmente por uma perda involuntária de peso corpóreo, causada por alteração morfofuncional progressiva do tecido muscular estriado esquelético. A perda de peso corporal notada na caquexia é um achado de pior prognóstico encontrado nos indivíduos com câncer. (MONDELLO *et al.*, 2015). Inicialmente, nossos resultados não demonstraram nenhuma diferença estatisticamente significativa quanto a ingestão de alimentos (ração) e água consumida pelos animais controles e casos. Assim, alterações obtidas com a variação do peso corporal dos animais submetidos ao MC experimental singênico parece ser devida principalmente ao desenvolvimento dos tumores. Embora a perda de apetite seja frequentemente relatada pelos indivíduos caquéticos com câncer, a diminuição da ingestão de alimentos por si só parece não ser responsável pela grande consumação física demonstrada pelos pacientes (BOSAEUS, *et al.*, 2001). A partir do décimo dia, os animais tratados com resveratrol apresentaram uma diminuição no volume tumoral, com conseqüente perda no peso corporal. Entretanto essa diferença de peso entre os grupos de animais não foi estatisticamente significativa (Fig. 1A e 1B). Com esses resultados, sugere-se que o resveratrol não deve ser considerado um agente anti-caquético, embora a droga tenha promovido efeitos antineoplásicos visíveis sobre o volume tumoral, causando-lhe diminuição.

Conclusão

Considerando os achados, conclui-se que o resveratrol não promoveu a reversão dos efeitos da perda de peso corporal estimada pelo desenvolvimento do MC experimental singênico murino C57BL/6.

Agradecimentos

Agradecemos a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (Capes) pelo apoio. Agradecemos também a diretoria Acadêmica do Hospital Universitario Clemente de Faria pelo suporte a esse projeto de pesquisa.

Referências

- ARGILES JM, ANKER SD, EVANS WJ, MORLEY JE, FEARON KC, STRASSER F, et al. **Consensus on cachexia definitions**. Journal of the American Medical Directors Association. May;11(4):229-230. 2010.
- BOSAEUS I, DANERYD P, SVANBERG E, LUNDHOLM K. **Dietary intake and resting energy expenditure in relation to weight loss in unselected cancer patients**. International journal of cancer Journal international du cancer. 1;93(3):380-3. Aug. 2001 DEMOULIN B, HERMANT M, CASTROGIOVANNI C, STAUDT C,
- DUMONT P. **Resveratrol induces DNA damage in colon cancer cells by poisoning topoisomerase II and activates the ATM kinase to trigger p53-dependent apoptosis**. Toxicology in vitro : an international journal published in association with Bibra.;29(5):1156-65. August. 2015.
- FEARON KC, GLASS DJ, GUTTRIDGE DC. **Cancer Cachexia**. Signaling and Metabolic Pathways. Cell Metabolism. 16(2):1530-66. 2015.
- MONDELLO P, MIAN M, ALOISI C, FAMA F, MONDELLO S, PITINI V. **Cancer cachexia syndrome: pathogenesis, diagnosis, and new therapeutic options**. Nutrition and cancer.; 67 (1):12-26. 2015.
- TISDALE MJ. **Cachexia in Cancer Patients**. Nat. Ver. Cancer. 2(11):862-71. 2002

10^o

FEPEG FÓRUM

ENSINO • PESQUISA
EXTENSÃO • GESTÃO

RESPONSABILIDADE SOCIAL: INDISSOCIABILIDADE
ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO UNIVERSITÁRIA



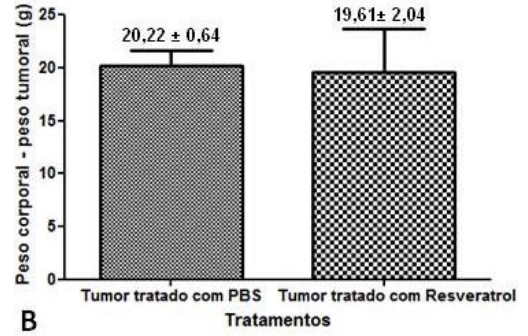
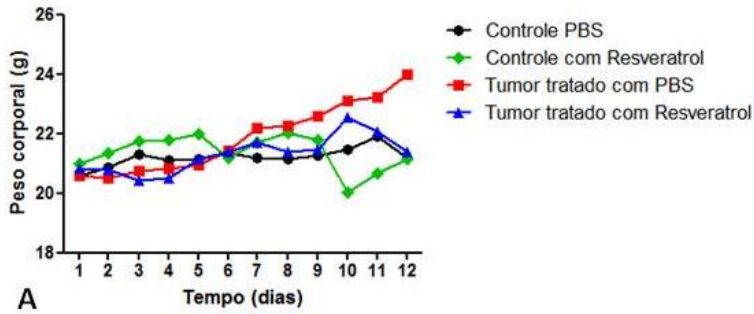
Realização:



Apoio:



ISSN 1806-549 X



peso corporal final dos animais casos foi obtido após subtração do peso tumoral. A) Acompanhamento do peso corporal dos animais casos e experimental. B) Comparação das médias obtidas para o peso corporal dos animais casos e controles. Resultado estatisticamente não significativo ($p = 0,76$).