



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

QUERCETINA PROMOVEU RETARDO NO DIAGNÓSTICO DE CAQUEXIA ASSOCIADA AO MODELO MURINO SINGÊNICO DE MELANOMA CUTÂNEO EM CAMUNDONGOS C57BL/6

Autores: BRUNA MACEDO LIMA, MAYARA CHAGAS MAGALHÃES, GABRIEL DONNER OLIVEIRA, AMANDA SOUTO MACHADO, BRUNA NATHÁLIA SANTOS, MAGDA MENDES VIEIRA, ALFREDO MAURÍCIO BATISTA DE PAULA

Introdução

A caquexia é um tipo específico de condição catabólica multifatorial, caracterizada por perda progressiva de tecido muscular esquelético e tecido adiposo, que ocasiona perda de peso, fraqueza e diminuição da qualidade de vida. Frequentemente é observada em doenças imunossupressoras como o câncer (SILVA, *et al.* 2017; VELÁZQUEZ, *et al.* 2014; CAMARGO, *et al.* 2011). Essa síndrome é bem evidente no melanoma cutâneo, um tipo de câncer altamente destrutivo e metastático, originado através da transformação maligna dos melanócitos, células responsáveis pela pigmentação da pele (LISBÔA-NASCIMENTO, *et al.* 2015). A caquexia está diretamente relacionada com a baixa sobrevida nos cânceres, pois, à medida que o indivíduo perde peso, aumenta a chance de um mal prognóstico (ARGILÉS, 2003). A quercetina, é um composto natural, da classe dos flavonoides, encontrada em muitas frutas e vegetais, com características anti-inflamatórias, antioxidantes e cardioprotetoras. Ela apresentou resposta positiva em relação a quimioprevenção devido a sua ação anticancerígena e sua eficiência em provocar a apoptose celular (VELÁZQUEZ, *et al.* 2014; MARQUES, NEVES, 2013). O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da quercetina sobre a ocorrência do diagnóstico de caquexia associada ao modelo singênico de Melanoma cutâneo em camundongos C57/BL6.

Materiais e Métodos

A. Aspectos Éticos

O projeto de pesquisa foi encaminhado à comissão técnica de ética em experimentação e bem-estar animal da Unimontes (CEEBEA/Unimontes). As atividades experimentais seguiram todos os princípios éticos de experimentação determinados pelos órgãos competentes (Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal; Colégio Brasileiro de Experimentação Animal; e Conselho Federal de Medicina Veterinária).

B. Animais

Foram utilizados 20 camundongos C57BL/6, fêmeas, com oito semanas de idade, sendo estes separados em dois grupos: Grupo Controle, com dez animais com indução tumoral com uso de tampão fosfato-salino (PBS) e Grupo 2, com dez animais, com indução de tumor e uso de quercetina 20mg/kg administrado após o surgimento do tumor. O sacrifício dos animais foi feito com 12 dias de tratamento.

C. Indução Tumoral

Para a indução do melanoma cutâneo murino utilizou-se a linhagem B16-F10, cordialmente adquirida no Laboratório de Substâncias Antitumorais (ICB/UFMG). Um total de 5x10⁴ de células foi utilizada. A concentração celular foi mensurada com o uso de câmara de Neubauer espelhada. A suspensão de células foi inoculada na região subcutânea dorsal de camundongos C57BL/6 com auxílio de uma seringa. Esse procedimento é capaz de causar um ciclo mitótico em 24h e desenvolver o tumor entre três a quatro dias a partir dessa quantidade de células viáveis.

D. Tratamento com Quercetina

Os camundongos foram submetidos a doses de quercetina de 20 mg/kg (Querc20) de seu peso através da gavagem uma vez por dia. O tratamento se iniciou com o aparecimento do tumor, ou seja, três dias após a inoculação. O volume recebido por animal foi calculado através de uma fórmula no Microsoft Excel 2013. O medicamento tinha as seguintes especificações: Quercetina Dihidratada/fórmula molecular: C₁₅H₁₀O₇.2H₂O, fornecido pela Zhejiang Chemicals/China.

E. Diagnóstico da caquexia associada ao modelo singênico de melanoma cutâneo

O peso corporal dos animais foi mensurado diariamente. Para identificar o processo de caquexia nos camundongos, o diagnóstico foi feito quando o animal apresentou uma perda superior a 10% do seu peso corporal inicial.

F. Análises dos Dados



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Foi feita análise estatística, utilizando o teste de Kaplan-Meier. O nível de confiança adotado foi fixado em 95% (0,05). Para a análise dos dados coletados foi utilizado o software PASW (*Predictive Analytics Software*).

Resultados e Discussão

A Fig 1 mostra a diferença de volume tumoral entre os grupos de animais tratados com PBS ou com quercetina 20. Em outros estudos foi visto que a quercetina pode inibir o melanoma metastático em modelo experimental animal, além de ser capaz de induzir a apoptose e inibir a proliferação celular (CAO, *et al.* 2013) o que pode explicar esse processo.

Após a inoculação foi feito o diagnóstico do processo de caquexia nos camundongos. Foi identificado que aqueles do grupo controle entraram no processo de caquexia de forma mais rápida do que os animais tratados com a quercetina 20, como mostrado na Fig 2. A quercetina pode prevenir a perda de massa muscular e a atrofia de fibras musculares, além de melhorar o peso corporal e força muscular inibindo a caquexia no melanoma (FRANCAUX, DELDICQUE, 2018; VELÁZQUEZ, *et al.* 2014).

Conclusões

Com esses resultados foi possível concluir que o uso da quercetina 20 no modelo murino singênico de melanoma cutâneo pode retardar o tempo de ocorrência da caquexia associada ao câncer. Nossos resultados somam-se a outros estudos científicos sobre o uso da quercetina como um potencial agente farmacológico adjuvante com ação anticacética. Futuros estudos *in vivo* com diferentes modelos de caquexia associada ao câncer devem ser avaliados quanto à influência da quercetina.

Agradecimentos

Gostaríamos de agradecer à Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG, processos números: PPM-00029-17 e DEG-00010-16); Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, processos nº 437311 / 2016-3 e 430759 / 2016-9); e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo apoio à realização deste estudo.

Referências bibliográficas

- ARGILÉS JM, BUSQUETS S, LOPEZ-SORIANO FJ. Cytokines in the pathogenesis of cancer cachexia. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2003;6(4):401-406.
- CAMARGO, C. A., DA SILVA, M. E., DA SILVA, R. A., JUSTO, G. Z., GOMES-MARCONDES, M. C., AOYAMA, H. Inhibition of tumor growth by quercetin with increase of survival and prevention of cachexia in Walker 256 tumor-bearing rats. *Biochem Biophys Res Commun*. 2011;406(4):638-642.
- CAO, H. H., TSE, A. K., KWAN, H. Y., YU, H., CHENG, C. Y., SU T., FONG W. F., YU, Z. L. Quercetin exerts anti-melanoma activities and inhibits STAT3 signaling. *Biochem Pharmacol*. 2014;87:424-434. doi: 10.1016/j.bcp.2013.11.008.
- FRANCAUX, M., DELDICQUE, L. Using polyphenol derivatives to prevent muscle wasting. *current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*. 21(3):159-163, MAY 2018. DOI: 10.1097/MCO.0000000000000455
- LIMA, K. D. S., DA LUZ, L., CAMPOS, M., DE ARAÚJO, A. O., LIMA, K.D.S., BURGOS, P. D. A, GORETTI, M., DE ARRUDA, I.K.G e MAIO, R., 2017. Caquexia e pré-caquexia em pacientes com câncer do trato gastrointestinal.
- LISBÔA-NASCIMENTO, T., BATISTA, C., FERREIRA, A. A., DIAZ, B. L. e MACHADO, J. C., 2016. Biomicroscopia Ultrassônica-Um aliado no diagnóstico da metástase no melanoma-estudo em animais. *Revista Brasileira de Física Médica*, 9(3), pp.10-14.
- MARQUES, L. S. G., NEVES, P. B. D. O. A Eficácia da Ingestão de Flavonóides na Prevenção de Neoplasias: uma Revisão. *Revista EVS - Revista de Ciências Ambientais e Saúde*, Goiânia, v. 40, n. 4, abr. 2014. ISSN 1983-781X. doi:<http://dx.doi.org/10.18224/est.v40i4.3060>.
- VELÁZQUEZ, K. T., ENOS, R. T., NARSALE, A. A., PUPPA, M. J., DAVIS, J. M., MURPHY, E. A., e CARSON, J. A. Quercetin Supplementation Attenuates the Progression of Cancer Cachexia in *Apc^{Min/+}* Mice. *The Journal of Nutrition*, Volume 144, Issue 6, 1 June 2014, Pages 868-875, <https://doi.org/10.3945/jn.113.188367>



FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X



Figura 1. Comparação de tamanho de tumor entre camundongos C57BL/6 tratados com PBS (grupo controle) e tratados com quercetina 20 mg/kg.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

FEPEG

F Ó R U M
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

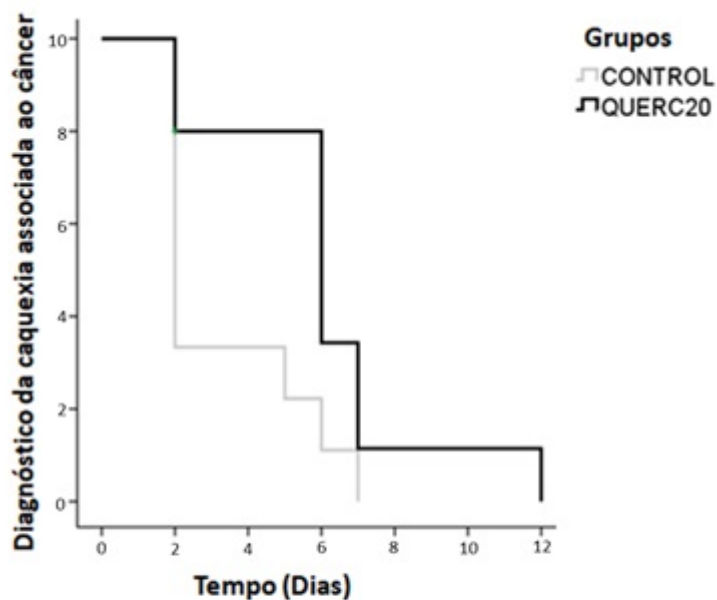


Figura 2: Efeito da Querc. na ocorrência de caquexia relacionada ao câncer (CRC) em camundongos C57BL / 6 com modelo CM singênico. O diagnóstico de CRC (em dias) foi estabelecido com perda de peso $\geq 10\%$. O tempo de diagnóstico de CRC foi avaliado individualmente em cada animal. Controle e grupo experimental (n = 10 em cada grupo) foram comparados pelo teste de log-rank e as curvas foram representadas pelo gráfico de Kaplan-Meier (A). Teste de Log Rank (Mantel-Cox) com $p=0,033$.

