

ANÁLISE DOS EFEITOS CAQUEXIA ASSOCIADA AO CÂNCER EM CÉLULAS CARDÍACAS

Marcela J.O.A. Carreira¹, Miguel Luiz Batista Junior², Cesário Bianchi Filho³

Estudante do curso de Ciências Biológicas; e-mail: marcelaacarreira@hotmail.com ¹

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: miguelj@umc.br²

Professor da Universidade de Mogi das Cruzes; e-mail: cesariofilho@umc.br³

Área de estudo: Fisiologia de Órgãos e Sistemas

Palavras chave: caquexia; coração; exercício; câncer

INTRODUÇÃO

Caquexia é uma síndrome, multifatorial associada a doenças crônicas. Cerca de 60% - 80% dos pacientes com câncer são acometidos por caquexia, na qual é responsável por ~20% das mortes dos mesmos (FEARON; ARENDS; BARACOS, 2013). A caquexia é definida pela perda de massa corpórea maior que 5%, IMC (índice de massa corpórea) menor que 20, e sarcopenia. (FEARON; ARENDS; BARACOS, 2013). A caquexia associada ao câncer afeta muitos órgãos, como cérebro, intestino, fígado, e coração. (ARGILES et al., 2015). Os problemas cardíacos são comuns em pacientes com câncer e durante a progressão do estado caquético o coração sofre alterações, como aumento de fatores pró-inflamatórios, a diminuição do tamanho dos cardiomiócitos, aumento da autofagia, diminuição da inervação, atrofia, aumento do consumo de energia, diminuição das miofibrilas e arritmia. (ZHENG et al., 2016). Recentemente foi incorporado o exercício físico, no qual é visto como um tratamento não farmacológico, que visa a melhora da qualidade de vida dos pacientes. Estudos apontam que o exercício resistido provem um bom resultado ao sistema nervoso cardíaco, particularmente em pacientes com caquexia associada ao câncer, mas os efeitos nessa condição ainda não foram estudados em maior detalhe (FEARON; ARENDS; BARACOS, 2013).

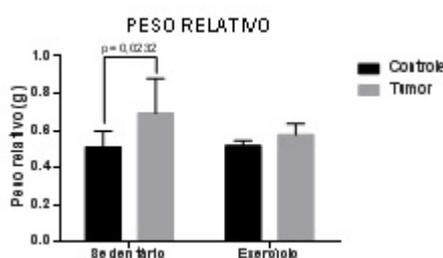
METODOLOGIA

Animais: A amostra foi composta por um total de 24 camundongos da linhagem C57Bl/6, pesando aproximadamente 20g com 6 semanas de vida obtidos pelo Biotério Central da Universidade de Mogi das Cruzes e mantidos em gaiolas individuais, a uma temperatura média de $22 \pm 1^\circ \text{C}$, com ciclos de claro/escuro a cada 12 horas de modo controlado, com fornecimento de alimentação e água *ad libitum*. Todos os experimentos foram realizados aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais e respeitados segundo suas normas, nº 002/2017. **Treinamento dos animais, histologia e Western Blot:** Para este projeto os animais foram separados em quatro grupos: sedentário controle (SECO), sedentário tumor (SETB), treino controle (TRCO) e treino tumor (TRTB). Inicialmente, os animais foram familiarizados com a escada durante 1 semana (1.1 a 0.10 m, 1cm entre os degraus e 80° de inclinação), com 5 escaladas diárias sem adição de carga. Pelas 8 semanas de TR, as sessões foram realizadas 4 dias por semana, com a carga correspondente à 65% da máxima fixada à cauda dos animais; os animais realizaram 8 escaladas/treino. Em seguida foi realizado a histologia em parafina com coloração em H/E, e análise proteica na técnica de *Western Blot* para Conexina-43, Caspase-3 e NFkB. **Análise estatística:** A análise dos dados foi realizada através do *Software GraphPadPrism 6* (GraphPad, San Diego, CA, USA). Foi utilizado Anova, com o $p < 0,05$ de significância.

RESULTADOS/DISCUSSÃO

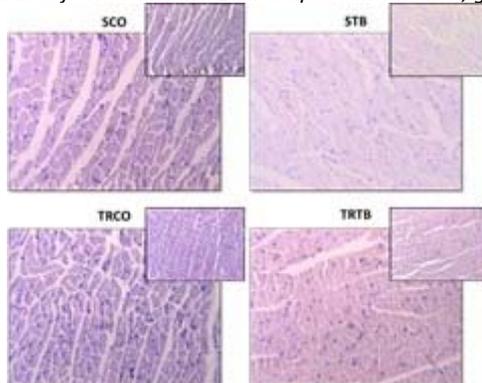
Ao comparar o peso relativo, foi visto que havia diferença entre os pesos dos grupos SECO e SETB, no qual o peso relativo do grupo SETB se encontra maior que seu controle (FIGURA 1). Os dados obtidos se assemelham com os encontrados na literatura, como no trabalho de Tian e colaboradores (2010), que encontrou resultado similar entre os grupos SECO e SETB. De acordo com o autor, somente o decaimento na taxa de consumo alimentar não é suficiente para causar a perda de massa muscular, logo os dados mostrados por ele sugerem que os efeitos são apenas da caquexia associada ao câncer (TIAN et al., 2010). Para os grupos treinados, o estudo de Rooney e colaboradores (2014) constatou que não houve diferença entre o peso de corações de ratos Wistar submetidos a treinamento aeróbio.

Figura 1- Comparação dos corações entre os grupos. Significância entre os grupos SECO e SETB ($p=0,0232$, sendo o SETB com maior peso. Os demais grupos não apresentaram diferença, grupos controle $n=5$, grupos com tumor $n=6$).



Foram realizados os cortes histológicos e a coloração H/E. Na literatura utilizando tricoma de Masson, mostram que há um aumento na fibrose no coração de animais com câncer associado a caquexia (induzido através da linhagem tumoral C26), quando comparado ao seu controle (TIAN et al., 2010).

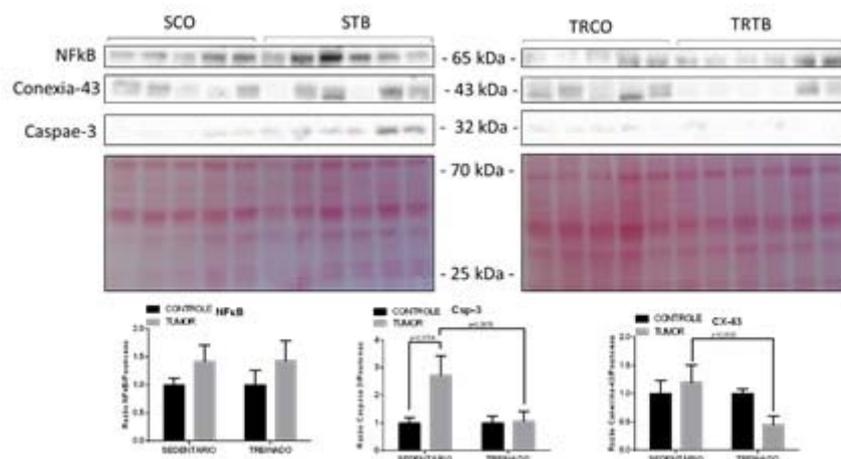
Figura 2- Imagens qualitativas nas objetivas de 40x e 20x. Grupos controle $n=5$, grupos com tumor $n=6$



No presente estudo foi avaliado a Conexina-43 (CX43) através da técnica de Western Blot, em nossas análises não encontramos diferença entre os grupos (FIGURA 3), embora haja uma tendência entre os grupos sedentário tumor (SETB) e treino tumor (TRTB), que a apresentaram o $p=0,0802$. Alterações da CX43 no coração pode disfuncionar o funcionamento cardiovascular, a sua redução pode causar o aumento da fibrose cardiovascular. Em doenças crônicas é visto que a uma desfosforilação da CX43, o resulta em sua redução, porém neste estado de anormalidade ocorre um processo metabólico que aumenta sua fosforilação aumentando os níveis de CX43, que acaba tendo um efeito de cardioproteção. Já é sabido que exercício físico melhora a capacidade cardiovascular, no estudo de Tiscornia e colaboradores 2014 (TIAN et al., 2010), foi avaliado as alterações no treino de natação, após o treinamento, os níveis de CX43 diminuí quando comparado

ao seu controle sedentário, porém após o período de descanso não há diferença entre os grupos (sedentário e treino), sendo discutido que apesar dos níveis de CX43 diminuírem durante o exercício, há uma adaptação sináptica no coração, que quando comparado eletrocardiograma dos grupos treino e sedentário, não há diferença, o que pode ser uma maior sensibilidade aos estímulos sinápticos. Sendo assim apesar de uma baixa na conexina-43 durante o exercício físico, não há alterações prejudiciais no impulso cardíaco (TISCORNIA et al., 2014; ADAMS et al., 2017). Foi avaliada através de análise proteica a Caspase-3 (Csp-3), no qual não obtivemos diferença entre os grupos, embora haja uma tendência entre os grupos sedentário controle (SECO) e sedentário tumor (SETB), a Csp-3 estar mais presente no grupo SETB do que nos demais grupos (FIGURA 3). Como já se sabe a ativação da Csp-3 está relacionada com a degradação de miofibrilas e possível reorganização tecidual, também ligada ao processo de apoptose. A Csp-3 se encontra aumentada, e resulta na degradação muscular e de cardiomiócitos em doenças crônicas. O exercício físico vem sendo estudado como terapia não farmacológica, no qual tem como resultado a recuperação muscular, mesmo que em baixa quantidade, além de atenuar fatores pró-inflamatórios e pró-apoptóticos (BELIZARIO; LORITE; TISDALE, 2001; LENK; SCHULER; ADAMS, 2010). Como já é sabido o fator nuclear kappa B (NFkB) possui diferentes funções fisiológicas, no coração associado ao câncer-caquexia, possui efeito de degradação de proteínas, também em quadro crônico pode aumentar a quantidade de citosinas pró-inflamatórias e pode causar morte celular no coração, o que auxilia no quadro de atrofia cardíaca ligado a síndrome. Obtivemos como resultado nenhuma diferença entre os grupos (FIGURA 3). Dados da literatura mostram que o grupo com tumor apresenta aumento de NFkB, quando comparado com seu controle, utilizando diferentes técnicas e modelos. Neste contexto o exercício físico apresenta um importante papel terapêutico, pois previne o aumento de NFkB segundo a literatura (WYSONG et al., 2011; MURPHY, 2016).

Figura 3- Análise proteica através de Western Blot, para NFkB, Conexina-43 e Caspase-3, não houve diferença entre os grupos. Grupos controle n=5, grupos com tumor n=6.



CONCLUSÕES

No presente trabalho foram realizados o treinamento dos grupos TRCO (treino controle) e TRTB, histologia e *Western Blot*. No qual foram feitas as análises proteicas de todos os grupos para Csp-3, NFkB e CX-43. Não foram encontradas diferenças entre os grupos para essas proteínas, apenas uma tendência no grupo SETB a estar aumentado do que nos demais grupos. O peso dos corações se encontrou diferente no grupo SETB quando comparado aos demais. Posteriormente serão realizados os demais parâmetros propostos.

Conclusão: Todos os animais conseguiram realizar o treino. As técnicas de treinamento, Western blot, e histologia estão padronizadas e dados se mostram similaridades com parte da encontrado na literatura. Apesar de não apresentar diferença entre os grupos na análise proteica, nota-se uma tendência, nos grupos portadores de tumor. Um número maior de animais será necessário.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMS, V.; REICH, B.; UHLEMANN, M.; NIEBAUER, J. Molecular effects of exercise training in patients with cardiovascular disease: focus on skeletal muscle, endothelium, and myocardium. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 313, n. 1, p. H72-H88, 2017.

BELIZARIO, J. E.; LORITE, M. J.; TISDALE, M. J. Cleavage of caspases-1, -3, -6, -8 and -9 substrates by proteases in skeletal muscles from mice undergoing cancer cachexia. **Br J Cancer**, v. 84, n. 8, p. 1135-1140, 2001.

FEARON, K.; ARENDS, J.; BARACOS, V. Understanding the mechanisms and treatment options in cancer cachexia. **Nat Rev Clin Oncol**, v. 10, n. 2, p. 90-99, 2013.
HORNBERGER, T. A., JR.; FARRAR, R. P. Physiological hypertrophy of the FHL muscle following 8 weeks of progressive resistance exercise in the rat. **Can J Appl Physiol**, v. 29, n. 1, p. 16-31, 2004.

LENK, K.; SCHULER, G.; ADAMS, V. Skeletal muscle wasting in cachexia and sarcopenia: molecular pathophysiology and impact of exercise training. **J Cachexia Sarcopenia Muscle**, v. 1, n. 1, p. 9-21, 2010.

MURPHY, K. T. The pathogenesis and treatment of cardiac atrophy in cancer cachexia. **Am J Physiol Heart Circ Physiol**, v. 310, n. 4, p. H466-477, 2016.

TIAN, M.; NISHIJIMA, Y.; ASP, M. L.; STOUT, M. B.; REISER, P. J.; BELURY, M. A. Cardiac alterations in cancer-induced cachexia in mice. **Int J Oncol**, v. 37, n. 2, p. 347-353, 2010.

TISCORNIA, G. C.; MORETTA, R.; ARGENZIANO, M. A.; AMORENA, C. E.; GARCIA GRAS, E. A. Inhibition of connexin 43 in cardiac muscle during intense physical exercise. **Scand J Med Sci Sports**, v. 24, n. 2, p. 336-344, 2014.

WYSONG, A.; COUCH, M.; SHADFAR, S.; LI, L.; RODRIGUEZ, J. E.; ASHER, S.; YIN, X.; GORE, M.; BALDWIN, A.; PATTERSON, C.; WILLIS, M. S. NF-kappaB inhibition protects against tumor-induced cardiac atrophy in vivo. **Am J Pathol**, v. 178, n. 3, p. 1059-1068, 2011.

ZHENG, Y.; CHEN, H.; LI, X.; SUN, Y. Pay attention to cardiac remodeling in cancer cachexia. **Support Care Cancer**, v., n., p., 2016.