

Evaluation of tumor growth of ehrlich solid in animals treated with cardiac glycosides

Avaliação do crescimento do tumor de Ehrlich sólido em animais tratados com glicosídeos cardíacos

Cardiac glycosides in Ehrlich tumor
Glicosídeos cardíacos no tumor de Ehrlich

CARVALHO, N. M¹; NUNES, D. A. F¹; FARIA, I¹; LOPES, G. F¹; VILLAR, J. A. F. P²; BARBOSA, L. A. DE O³; SANTOS, H. DE L³; RIBEIRO, R.I.M.A¹.

ABSTRACT

Cardiac glycosides are a class of molecules in addition to treating cardiovascular disorders, may also possess anti-tumor action. The study evaluated the efficacy of daily treatment with cardiac glycosides, intraperitoneally, for 20 days in mice inoculated with Ehrlich solid tumor (TES). We evaluated the weight of the animals, the tumor growth curve and clinical signs. The animals that received the drug DGB1. 2 mg lost less weight compared to the other groups during the 20 days of treatment. As regards tumor growth curve can be observed that the treatment effect exerted primarily on the lower DGB1 group 20 mg. Finally, with regard to the clinical parameters observed, it can be said that the treatments had an effect on DIGX groups 2mg and DIGX. 5mg (P <0,05).

KEY WORDS: Cancer; Ehrlich solid tumor; Cardiac glycosides

RESUMO

Os glicosídeos cardíacos são uma classe de moléculas que além de tratar alterações cardiovasculares, também podem possuir ação antitumoral. O trabalho avaliou a eficácia do tratamento diário com glicosídeos cardíacos, via intraperitoneal, por 20 dias, em camundongos inoculados com tumor de Ehrlich sólido (TES). Os parâmetros avaliados foram o peso dos animais, a curva de crescimento tumoral e sinais clínicos. Os animais que receberam

a droga DGB1. 2 mg perderam menos peso em relação ao demais grupos durante os 20 dias de tratamento. Quanto à curva de crescimento tumoral pode-se observar que o tratamento exerceu menor efeito principalmente sobre o grupo DGB1. 20 mg. E por último, com relação aos parâmetros clínicos observados, pode-se dizer que os tratamentos tiveram efeito nos grupos DIGX. 2mg e DIGX. 5mg (P < 0.05).

PALAVRAS CHAVE: Câncer; Tumor de Ehrlich sólido; Glicosídeos cardíacos

INTRODUÇÃO

O câncer (CA) refere-se a um grupo de doenças que tem em comum a autonomia, a proliferação descontrolada, a capacidade de invasão e metástase, a formação de clones de células novas e a irreversibilidade. Se esta expansão celular torna-se descontrolada, pode levar a morte do indivíduo (BABA e CÂTOI, 2007). Uma em cada oito mortes no mundo acontece devido ao CA. A incidência está aumentando em países em desenvolvimento devido ao aumento da expectativa de vida, ao declínio da mortalidade infantil e também por causa das doenças infecciosas (ACS, 2011).

O objetivo do tratamento do CA é a cura, ou seja, a completa erradicação das células tumorais ou a melhoria da qualidade de vida de pacientes com doença avançada (SIEGEL *et al.*, 2012). As três principais formas de tratamento do CA são a quimioterapia, a radioterapia e a cirurgia. Elas podem ser usadas em conjunto ou de forma isolada. A terapia antineoplásica é a forma de tratamento sistêmico do CA, que usa medicamentos denominados quimioterápicos, administrados em intervalos regulares e que variam de acordo com esquemas terapêuticos (FILHO, 2004; INCA, 2011).

Os glicosídeos cardíacos (GCS) são uma classe de moléculas conhecidas devido as suas atividades cardiotônicas. Recentemente, foi relatado que além de tratar alterações cardiovasculares, eles também possuíam ação antitumoral⁴. Estudos suportam uma correlação direta entre a

¹ Universidade Federal de São João Del-Rei. Campus Centro-Oeste Dona Lindu – Laboratório de Biologia Celular e Mutagenicidade - Av. Sebastião Gonçalves Coelho, 400, Chanadour - Divinópolis-MG 35501-296 – Minas Gerais. E-mail: natanecarvalho@gmail.com

administração regular de digitálicos e uma menor incidência de câncer (HAUX, 1999; HALLBOOK *et al.*, 2011; CERELLA, DICATO e DIEDERICH, 2012; ELBAZ *et al.*, 2012)

Entretanto, não existem estudos da ação terapêutica antineoplásica e antimetastática da Digoxina sobre o Tumor de Ehrlich (TE). Este tumor é um tipo de neoplasia experimental, transplantável, de origem epitelial maligna, espécie-específica que corresponde ao adenocarcinoma mamário do camundongo. Cresce em várias linhagens dessa espécie animal na forma ascítica (TEA), quando inoculado pela via intraperitoneal, e na forma sólida (TES), quando inoculado pela via subcutânea (EHRlich, 1906).

Deste modo, no presente estudo investigou-se a ação da digoxina e de um derivado da digoxina, a DGB1, no crescimento tumoral do tumor de Ehrlich sólido.

MATERIAL E MÉTODOS

Os animais utilizados neste trabalho foram adquiridos do Centro de Bioterismo (CEBIO) do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG) e autorizados pelo comitê de ética no uso de animais da Universidade Federal de São João Del-Rei (UFSJ) (CEUA- 07/2013). Para o experimento, foram usados 25 camundongos *Swiss*, albinos, fêmeas, com 11 semanas de idade e peso entre 25 e 30g. Estes animais foram distribuídos de forma aleatória em cinco grupos: G1 (Controle– sem tratamento), G2 (Digoxina 2mg), G3 (Digoxina 5mg), G4 (DGB1 2mg), G5 (DGB1 20 mg).

O tumor sólido de Ehrlich foi obtido inoculando 50 µL de solução contendo inoculadas 2,5 x 10⁶ células tumorais no coxim plantar da pata direita de cada um dos camundongos (DAGLI, 1989). No dia subsequente, foram iniciados os tratamentos. As patas foram mensuradas diariamente por paquímetro digital, assim, obteve-se a curva do desenvolvimento do tumor. Por último os animais foram avaliados em relação ao ganho ou perda de peso corporal de acordo com os sinais clínicos apresentados:

deambulação, agitação ou letargia, respiração, salivação, cianose, mortalidade, lacrimejamento e cor dos olhos e pelos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação do peso corpóreo de animais inoculados com tumor de Ehrlich sólido

No terceiro e quinto dia de tratamento foram evidenciadas diferenças significativas entre os grupos DIGX. 2 mg e DGB1. 2 mg (P <0.05) e DIGX. 5 mg e DGB1. 2 mg (P < 0.05). No sétimo dia de tratamento, também ocorreram diferenças significativas entre os grupos DIGX. 2 mg e DGB1. 2 mg (P < 0.05). No nono dia foram evidenciadas diferenças significativas apenas entre DIGX. 5 mg e DGB1. 2mg (P < 0.05) e no décimo quinto dia de tratamento as diferenças estatísticas foram entre DIGX. 2 mg e DGB1. 2mg (P < 0.05). Nos demais dias de tratamento, não houve diferenças significativas entre os cinco grupos participantes do estudo. Com os resultados pode-se prever que os animais dos grupos de DGB foram mais resistentes, já que durante os dias de tratamento, eles não perderam peso, se comparados aos animais dos grupos Digoxina.

Tabela 1- Média e desvio padrão do peso (g) dos animais durante o período de tratamento
 Grupos do estudo

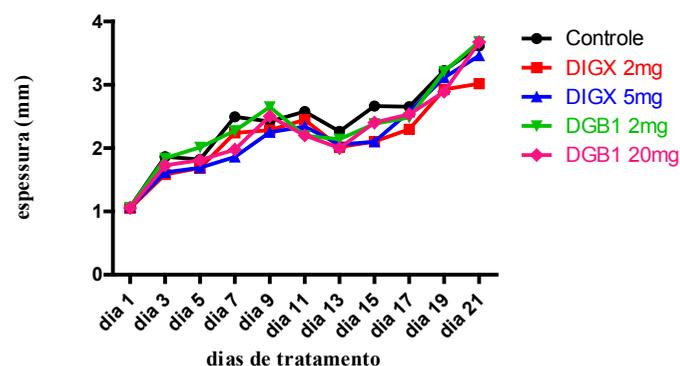
Período de tratamento	Controle	DIGX. 2mg	DIGX. 5mg	DGB1. 2mg	DGB1. 20mg
1º dia	26,00 ± 0	25,60 ± 0,54	25,40 ± 0,54	26,00 ± 0	26,20 ± 0,44
3º dia	26,00 ± 0ab	25,00 ± 0a	25,20 ± 0,83a	27,20 ± 1,14b	25,80 ± 0,44ab
5º dia	25,80 ± 1,09ab	25,20 ± 0,83a	24,80 ± 1,30a	27,80 ± 1,30b	26,20 ± 0,83ab
7º dia	25,60 ± 1,11ab	24,00 ± 0,70a	24,20 ± 1,30ab	26,60 ± 1,14b	25,60 ± 0,54ab
9º dia	25,60 ± 0,54ab	24,80 ± 0,44	24,20 ± 1,09a	27,00 ± 1,22b	25,40 ± 0,54ab
11º dia	25,60 ± 0,89	24,60 ± 0,54	24,40 ± 1,67	26,80 ± 1,09	25,40 ± 0,89
13º dia	26,40 ± 1,14	25,60 ± 0,89	25,20 ± 0,83	26,40 ± 1,34	25,60 ± 0,89
15º dia	25,60 ± 2,07ab	25,0 ± 0,70a	25,60 ± 0,54ab	27,80 ± 0,83b	27,00 ± 0,70ab
17º dia	26,20 ± 2,16	26,60 ± 0,89	25,80 ± 0,83	26,80 ± 1,64	27,00 ± 1,00
19º dia	26,00 ± 3,00	27,20 ± 1,09	26,60 ± 0,89	28,00 ± 1,22	27,20 ± 1,09
21º dia	26,80 ± 2,28	27,20 ± 0,44	26,40 ± 1,14	28,40 ± 1,94	26,80 ± 2,16

As diferenças significativas estão destacadas em negrito e com letras subscritas diferentes. Nas linhas analisadas, letras iguais representam ausência de diferenças estatísticas, enquanto letras diferentes representam presença de diferença estatística entre os grupos. Os valores das médias e desvio padrões que não estiverem em negrito e nem com as letras subscritas, não possuem diferenças estatísticas.

Avaliação da espessura do coxim plantar

Todos os grupos mostraram desenvolvimento tumoral semelhantes, sendo que, apenas em alguns dias houve diferenças estatísticas significativas entre os valores médios de alguns grupos. No dia sete, houve diferença significativa, entre o grupo controle e DIGX. 5 mg ($P < 0.05$), indicando que esse tratamento foi eficaz nessa fase do crescimento tumoral, o que foi novamente evidenciado no 15º dia. No nono dia, devido a um crescimento maior dos tumores no grupo submetido ao tratamento com DGB1. 2 mg, foi evidenciada diferença estatística entre os grupos DIGX. 5 mg e DGB1. 2 mg ($P < 0.05$). Por último, no décimo quinto dia, as diferenças foram entre o grupo controle e DIGX. 2mg ($P < 0.05$). Nos demais dias de tratamento não ocorreram diferenças significativas nas médias de crescimento tumoral entre os grupos.

Figura 1: Acompanhamento da espessura do coxim plantar dos animais com tumor de Ehrlich durante todo o período de tratamento. Controle (linhas preta), DIGX 2mg (linha vermelha), DIGX 5 mg (linha azul), DGB1 2mg (linha verde) e DGB1 20 mg (linha rosa).



Avaliação dos parâmetros clínicos observados nos animais com tumor de ehrlich sólido

Com relação aos parâmetros clínicos observados, pode-se dizer que os tratamentos tiveram efeito principalmente nos grupos DIGX. 2mg e DIGX. 5mg, já que estes apresentaram as melhores características clínicas analisadas.

CONCLUSÕES

Em relação ao peso corporal, pode-se considerar que o tratamento não foi prejudicial ao grupo DGB1. 2 mg, contudo, esse também foi o grupo que apresentou maior crescimento tumoral, sendo similar ao grupo não tratado. A respeito da espessura do tumor, os tratamentos propiciaram menores valores para os grupos DIGX. 2mg e DIGX. 5 mg. E por último, com relação aos parâmetros clínicos observados, conclui-se que os tratamentos DIGX. 2mg e DIGX. 5mg determinaram uma melhora no quadro clínico nos animais destes grupos.

REFERÊNCIAS

1. ACS. **Global Cancer Facts & Figures** SOCIETY, A. C. Atlanta 2011.
2. BABA, A. I.; CÂTOI, C. **Comparative Oncology**. Bucharest:: The Publishing House of the Romanian Academy, 2007. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/ez27.periodicos.capes.gov.br/books/NBK9557/> >.
3. CERELLA, C.; DICATO, M.; DIEDERICH, M. Assembling the puzzle of anti-cancer mechanisms triggered by cardiac glycosides. **Mitochondrion**, n. 0, 2012. ISSN 1567-7249. Disponível em: < <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567724912000724> >.
4. DAGLI, M. L. **Disseminação linfática do tumor de Ehrlich: Estudo experimental**. 1989. (Dissertação de Mestrado (Área -Patologia Experimental e Comparada)). Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da USP, USP
5. EHRLICH, P. Experimentelle carcinomstudien an Mäusen. **Arb. Inst. Exp. Ther. Frankfurt**, v. v.1, p. p. 78-80, 1906. Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> >.
6. ELBAZ, H. A. et al. Digitoxin and a synthetic monosaccharide analog inhibit cell viability in lung cancer cells. **Toxicol Appl Pharmacol**, v. 258, n. 1, p. 51-60, 2012. ISSN 1096-0333 (Electronic) 0041-008X (Linking).
7. FILHO, B. **Patologia Geral**. Rio de Janeiro: 2004.

8. HALLBOOK, H. et al. Ex vivo activity of cardiac glycosides in acute leukaemia. **PLoS One**, v. 6, n. 1, p. e15718, 2011. ISSN 1932-6203 (Electronic)1932-6203 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21246039> >.
9. HAUX, J. Digitoxin is a potential anticancer agent for several types of cancer. **Med Hypotheses**, v. 53, n. 6, p. 543-8, Dec 1999. ISSN 0306-9877 (Print)0306-9877 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10687899> >.
10. INCA. **ABC do câncer: Abordagens básicas para o controle do câncer**. ESTRATÉGIAS, C. G. D. A. e (CEDC), C. D. E. Rio de Janeiro: Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica/CEDC. Serviço de Edição e Informação Técnico-Científica/CEDC: 128 páginas p. 2011.
11. SIEGEL, R. et al. Cancer treatment and survivorship statistics, 2012. **CA Cancer J Clin**, v. 62, n. 4, p. 220-41, Jul-Aug 2012. ISSN 1542-4863 (Electronic)0007-9235 (Linking). Disponível em: < <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22700443> >.