

Avaliação Da Cisplatina, Acupuntura E *Euphorbia Tirucalli* L. No Comportamento E Nutrição De Camundongos

Evaluation Of Cisplatin, Acupuncture And Euphorbia Tirucalli L. On The Behavior And Nutrition Of Mice

Mirella Bezerra de Melo Colaço Dias

Doutora em Ciência Veterinária pela Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE), Brasil. mirella_colaco@yahoo.com.br

Tamires Saches Santos do Nascimento

Estudante de Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE), Brasil

Miriam Nogueira Teixeira

Professora Titular do Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE), Brasil

Melânia Loureiro Marinho

Professora Titular da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Campina Grande (PB), Brasil

Ivone Antônia de Souza

Professora Titular da Universidade Federal de Pernambuco, Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE), Brasil

Evilda Rodrigues de Lima

Professora Titular do Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE), Brasil

Resumo

Avaliou-se as alterações relacionadas com o comportamento e o estado nutricional de camundongos com carcinoma de Ehrlich tratados com cisplatina, acupuntura e *Euphorbia tirucalli* L. Utilizou-se 25 camundongos, fêmeas, com 60 dias de idade, peso corpóreo entre 25 e 35 g os quais foram divididos em Grupo 1 – Controle negativo - 1ml de Soro Fisiológico 0,9% (VO); Grupo 2 – Padrão - 2,5mg/kg de Cisplatina (VO); Grupo 3 - Pré-tratamento com acupuntura + 2mg/kg da *E. tirucalli* (VO); Grupo 4 – Acupuntura; Grupo 5 - Acupuntura + 2mg/kg *E. tirucalli* (VO). Inoculou-se células do tumor carcinoma de Ehrlich em todos os animais. As reações comportamentais foram observadas durante todo tratamento. Realizou-se avaliação nutricional a partir da pesagem diária dos animais e das sobras da ração. Os animais foram pesados, eutanasiados por deslocamento cervical, necropsiados para avaliação histológica e o tumor extirpado. O Grupo G3 apresentou uma diminuição na agressividade, G4 e G5 mantiveram o comportamento natural da espécie, G2 demonstraram uma intensa prostração, apatia, piloereção e pelos sem brilho e G1 apresentaram sintomas similares. Os animais do Grupo G2 ingeriram uma quantidade maior de alimento e tiveram baixo ganho de peso, os do G3, G4 e G5 aumento de peso, G3 e G5 consumiram uma quantidade menor de alimentos e os do G4 uma quantidade maior. Os tratamentos utilizados nos animais dos Grupos G3 e G5 demonstraram uma melhor resposta orgânica, relacionado

ao estado nutricional. A acupuntura e *E. tirucalli*, proporcionou, uma estabilização do quadro comportamental e nutricional dos animais.

Palavras-Chave: Acupontos. Técnica de agulhamento. Câncer. Etnobotânica. Avelóz. Plantas medicinais.

Abstract

It was evaluated the behavior and nutritional status of Ehrlich carcinomas mice treated with cisplatin, acupuncture and *Euphorbia tirucalli* L. It was used 25 female mice, approximately 60 days old, with body weight between 25 and 35 g which were divided into Group 1 - Negative control - 1ml of Physiological Serum 0.9% (VO); Group 2 - Positive control - 2.5mg / kg Cisplatin (VO); Group 3 - Pre-treatment with acupuncture + 2mg / kg of *E. tirucalli* (VO); Group 4 - Acupuncture; Group 5 - Acupuncture + 2mg / kg *E. tirucalli* (VO). Ehrlich carcinoma cells were inoculated into all animals. Behavioral reactions were observed throughout treatment. It was a nutritional evaluation was carried out from the daily weighing of the animals and the leftovers of the ration. The animals were weighed, euthanized by cervical dislocation, necropsied for histological evaluation and the tumor excised. The G3 group showed a decrease in aggressiveness, G4 and G5 maintained the natural behavior of the species, G2 demonstrated intense prostration, apathy, piloerection and non-luster hairs and G1 presented similar symptoms. The animals in Group G2 ingested a greater amount of food and had low weight gain, those of G3, G4 and G5 gained weight, G3 and G5 consumed a smaller amount of food and those of G4 a larger amount. The treatments used in the animals of Groups G3 and G5 demonstrated a better organic response, related to nutritional status. The acupuncture and *E. tirucalli* provided a stabilization of the behavioral and nutritional framework of the animals.

Key-words: Acupoints. Needling technique. Cancer. Ethnobotany. Hazelnuts. Medicinal plants.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença crônico-degenerativa, considerado um problema de saúde pública. O impacto da hipótese diagnóstica, a doença e o tratamento influem diretamente no comportamento, estado nutricional e na de vida do indivíduo (WAITZBERG et al., 2001; MACHADO; SAWADA, 2008).

A quimioterapia é uma das terapias utilizadas no combate ao câncer que de acordo com pesquisas apresenta uma elevada atividade antitumoral, no entanto as drogas utilizadas são tóxicas aos tecidos saudáveis, principalmente àqueles de rápida proliferação celular comprometendo o estado orgânico e bem-estar do paciente oncológico (BONASSA, 2005; KIM; BAE, 2010).

Entre as práticas integrativas encontra-se a acupuntura e a fitoterapia, sendo ambas utilizadas como tratamentos coadjuvantes em indivíduos com câncer. A acupuntura visa equilibrar a energia Qi que circula nos meridianos através de estímulos dos acupontos, tratando, portanto, o indivíduo como um

todo, não somente a doença, estimula a imunidade, atua não só nos sintomas relativos ao câncer como nos efeitos colaterais causados pela quimioterapia (KIM; BAE, 2010; LIMA, 2014; DIAS, 2014; DIAS et al., 2015).

A fitoterapia é a utilização de plantas com atividade medicinal, no tratamento de diversas enfermidades, dentre elas o câncer. Inúmeras são as ervas medicinais que apresentam propriedades antitumorais, dentre elas pode-se citar a *E. tirucalli* que de acordo com estudos é utilizada no tratamento de carcinomas e epitelomas benignos. Tradicionalmente também é utilizada de forma tópica na cauterização de verrugas (CASEIRO, 2006; FONSECA, 2006), anti-inflamatória e antiviral (PAZ, 2017), antioxidante (BARBOSA, 2009) e antitumoral (WANG et al., 2013). Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o comportamento e o estado nutricional de camundogos com carcinoma de Ehrlich tratados com cisplatina, acupuntura e *E. tirucalli* L.

METODOLOGIA

Local do experimento

Esta pesquisa foi desenvolvida no Biotério do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco.

Material Botânico

O látex de *E. tirucalli* L. foi coletado no Jardim do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco nos meses de junho a agosto de 2015. A exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário do Departamento de Botânica/CCB/UFPE com o n.º 41.765. O látex depois de coletado foi imediatamente diluído com soro fisiológico 0,9% para a dose terapêutica de 2,0 mg/kg (SILVA, 2006) e administrado por via oral (VO), uma vez por dia, durante a realização da

pesquisa.

Animais

Foram utilizados 25 camundongos Albino suíço (*Mus musculus*), fêmea, aproximadamente 60 dias de idade, com 25 e 35 g de peso corpóreo, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, em temperatura de $22 \pm 2^\circ \text{C}$, com alimentação adequada, água *ad libitum*, condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas cada) e pesagem diária (balança Triple Beam Scale 2610g, 700 800 Series).

Antes de ser realizada a fase experimental, o projeto de pesquisa foi submetido à apreciação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE, processo nº 23076.022599/2015-49. Os 25 animais que constituíram o experimento foram divididos aleatoriamente em cinco grupos contendo em cada Grupo cinco camundongos.

Grupo 1 – Controle negativo - 1ml de Soro Fisiológico 0,9% (VO).

Grupo 2 – Controle positivo - 2,5mg/kg de Cisplatina (VO).

Grupo 3 - Pré-tratamento com acupuntura + 2mg/kg da *Euphorbia tirucalli* (VO).

Grupo 4 – Acupuntura.

Grupo 5 - Acupuntura + 2mg/kg *E. tirucalli* (VO).

Os animais de todos os grupos foram submetidos a um período de adaptação de 15 dias. Apenas os animais do Grupo 3 receberam um pré-tratamento com acupuntura após oito dias de adaptação. Posteriormente ao período de adaptação, foi realizada a inoculação das células do carcinoma de Erlich em todos os animais do experimento e após 48 horas iniciou-se os diferentes tratamentos, sendo estes, administrados uma vez ao dia durante oito dias. No nono dia os camundongos foram pesados, eutanasiados por deslocamento cervical (RIVERA, 2010) e necropsiados para avaliação

histológica e o tumor extirpado. O tempo estipulado para a realização do experimento foi de acordo com o protocolo adotado no laboratório experimental considerando o princípio dos 3R's (substituição, redução e refinamento dos animais) com foco no respeito e bem-estar animal.

Procedimentos para inoculação do carcinoma de Ehrlich

As células viáveis do carcinoma de Ehrlich foram retiradas de tumores de animais de manutenção de estudos que se encontravam no Biotério do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Para o transplante das células cancerígenas retirou-se um fragmento de 3 mm de diâmetro, do conteúdo tumoral e transplantou-se na região axilar de todos os animais, por via subcutânea, conforme a metodologia de Stock modificada (STOCK et al., 1995) obtendo-se, assim, a implantação do tumor sólido de Ehrlich (TSE).

Técnica de acupuntura e Acupontos

A técnica de Agulhamento e os acupontos B10 (Tianzhu), VB30 (Huantiao) e F3 (Taichong) utilizados foram baseados na literatura (SCHOEN, 2006; DIAS et al., 2015), com modificações necessárias para a realização desta pesquisa. As agulhas usadas foram auriculares de aço inoxidável, com 0,20 a 2,0 mm de comprimento. O comprimento da agulha foi determinado pela espécie e localização do ponto. A aplicação da agulha foi feita com o animal contido (LAPCHIK et al., 2010) e introduzida bilateralmente de forma suave e rápida, com o auxílio de uma pinça anatômica e fixada com esparadrapo. O protocolo terapêutico da acupuntura foi realizado nos camundongos três vezes, com um intervalo de um dia entre uma sessão e outra. O horário estipulado para a realização da acupuntura foi entre às 13h e 15h, para evitar interferências do círculo circadiano (SCHOEN, 2006).

Avaliação comportamental e nutricional

O comportamento dos animais foi observado diariamente desde a formação dos grupos até o final do experimento, sendo registradas as reações comportamentais excitatórias, estimulantes e depressoras, tais como agitação, movimentos de vibrissas, piloereção, irritabilidade, reações de fuga e prostração. A avaliação nutricional foi feita a partir da pesagem diária dos animais e das sobras da ração. Foi oferecido 160g/diária de ração/gaiola. A pesagem diária da ração foi feita na balança SF-400, Capacity: 10000g x 1g/353 oz x 0.1

Análise Estatística

A análise estatística dos dados quantitativos obtidos para as variáveis relacionadas com o peso dos animais e da ração realizou-se através da Análise de Variância (ANOVA), considerando as fontes de variação os diferentes tipos de tratamento. Em seguida, quando detectada diferença, foram analisadas pelo teste Tukey como *post hoc* teste. Os valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Para todas as análises foi utilizado o programa SPSS versão 20.0.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação ao comportamento dos camundongos observou-se que no segundo dia após a realização da acupuntura, os animais do Grupo G3 apresentaram uma diminuição na agressividade durante o período do pré-tratamento. O estímulo realizado nos pontos F3 e VB30 pode ter equilibrado as energias Yin e Yang do elemento madeira o qual pertence aos cinco elementos e que tem como a emoção, a raiva.

Os animais dos Grupos G4 e G5 mantiveram o comportamento natural da espécie (LAPCHIK et al., 2010) durante o período do experimento.

No entanto, nos camundongos dos Grupos controle, especialmente do controle positivo (G2) foi observado uma intensa prostração, apatia, piloereção além de pêlos sem brilho, enquanto que os do controle negativo (G1) apresentaram sintomas similares, porém menos intensos. A cisplatina, quimioterápico utilizado neste experimento, pode causar diversos efeitos colaterais, como náuseas, vômitos, dano renal, mielossupressão, convulsão, tremores, entre outros que além de causar danos no estado orgânico do paciente pode afetar o quadro psicológico e emocional do indivíduo (ASTA MEDICA ONCOLOGIA, 2014).

A literatura relata que o estado emocional é formado a partir dos pensamentos, influencia na resposta hormonal e imunológica do organismo (LIPTON, 2007; MURAKAMI, 2008), assim sentimentos como agressividade, medo, angustia, tristeza, entre outros poderão retardar o processo de cura do paciente. A Medicina Tradicional Chinesa aborda o câncer tratando o indivíduo como um todo, o corpo e a mente são considerados como um círculo de energia e de substâncias vitais que interagem entre si (SCHOEN, 2006). Ao realizar a acupuntura em indivíduos saudáveis ou com câncer poderá manter-se a energia Qi, que é encontrada no corpo energético, equilibrada e conseqüentemente os estados mentais e orgânicos mais estáveis.

Neste experimento, apesar dos animais dos Grupos G3, G4 e G5 estarem organicamente comprometidos pela ação do carcinoma de Ehrlich, a acupuntura e a *E. tirucalli* podem ter auxiliado na manutenção do estado mental e orgânico dos animais já que os camundongos permaneceram mais dispostos quando comparado aos animais dos Grupos controle.

A *E. tirucalli* apresenta em sua composição química os diterpenos que possuem ação anticancerígena já que demonstrou significativa inibição da proliferação da proteína quinase C (PKC) o que resulta num estadiamento das células cancerígenas nas fases S e G2 (SAPIÊNCIA JORNAL, 2010; WANG et al., 2013). Os flavonóides que possuem várias ações terapêuticas, dentre elas a

ação antiinflamatória e antioxidante o que promove um efeito quimioprotetor (BARBOSA, 2009).

Os resultados relacionados ao peso e ingestão de alimentos estão representados na Figura 1 e 2. Em relação ao estado nutricional dos camundongos observou-se que os animais do Grupo G2 ingeriram uma quantidade maior de alimento, no entanto tiveram um baixo ganho de peso quando comparado ao Grupo controle negativo. Observou-se que os animais dos Grupos G3, G4 e G5 tiveram um aumento de peso quando comparado ao grupo controle negativo. No entanto, os camundongos dos Grupos G3 e G5 consumiram uma quantidade menor de alimentos, enquanto que os animais do G4 ingeriram uma quantidade maior de alimento.

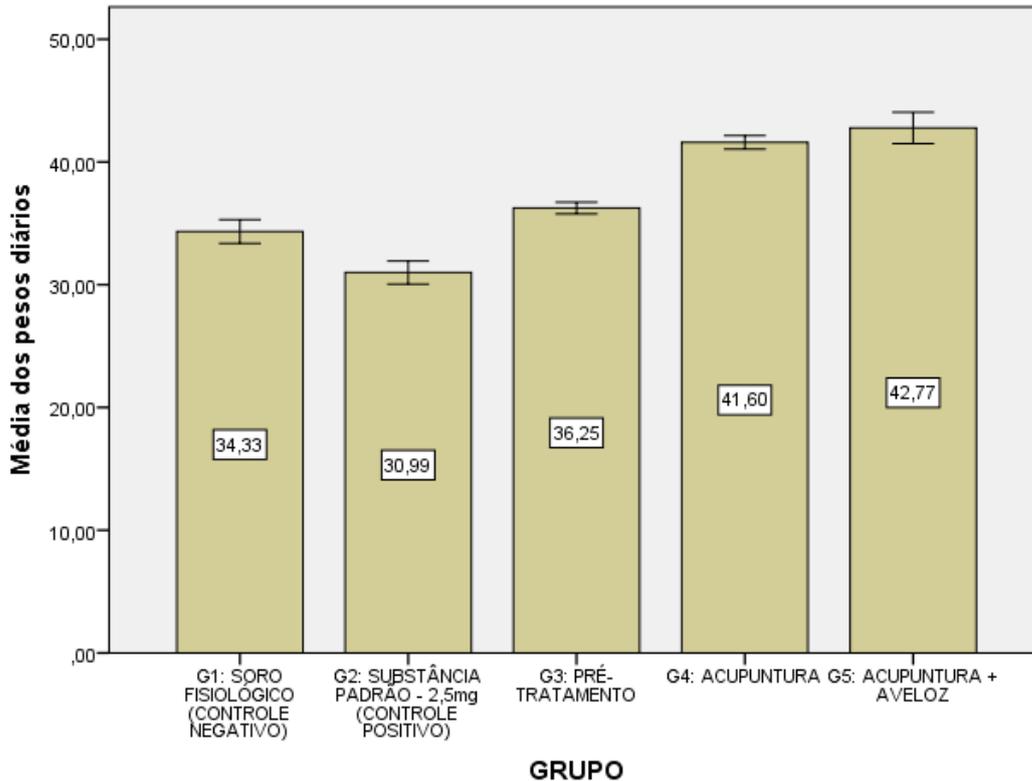
O fato da utilização da cisplatina no experimento ter sido realizado em um menor período de tempo diferente da indicação da bula¹⁸ que sugere a administração do quimioterápico uma vez a cada 3 a 4 semanas, fato este, pode ter causado um aumento no valor da albumina. Contudo, o experimento foi feito em um período de tempo menor considerando os princípios da ciência do bem-estar animal.

A desnutrição é muito prevalente no paciente oncológico e associa-se à diminuição da resposta ao tratamento específico e à qualidade de vida (GARÓFOLO et al., 2002; WAITZBERG, 2004; MIRANDA et al., 2013), é rotineiramente encontrada em pacientes com câncer, com uma incidência que varia de 30 a 90%, sendo frequentemente associada a carcinomas de cabeça, pescoço e trato digestivo superior (ANDRADE et al., 2004). Tem sido observado que humanos portadores de diversos tipos de câncer e tratados com acupuntura se alimentam melhor e apresentam a redução dos efeitos colaterais gastrointestinais, tal como vômito, causados pela quimioterapia (ENBLUM et al., 2017).

Neste experimento observou que os tratamentos utilizados nos animais dos Grupos G3 e G5 demonstraram uma melhor resposta orgânica, relacionado ao estado nutricional, quando comparado ao Grupo controle negativo. Ambos os grupos receberam a acupuntura (diferentes momentos)

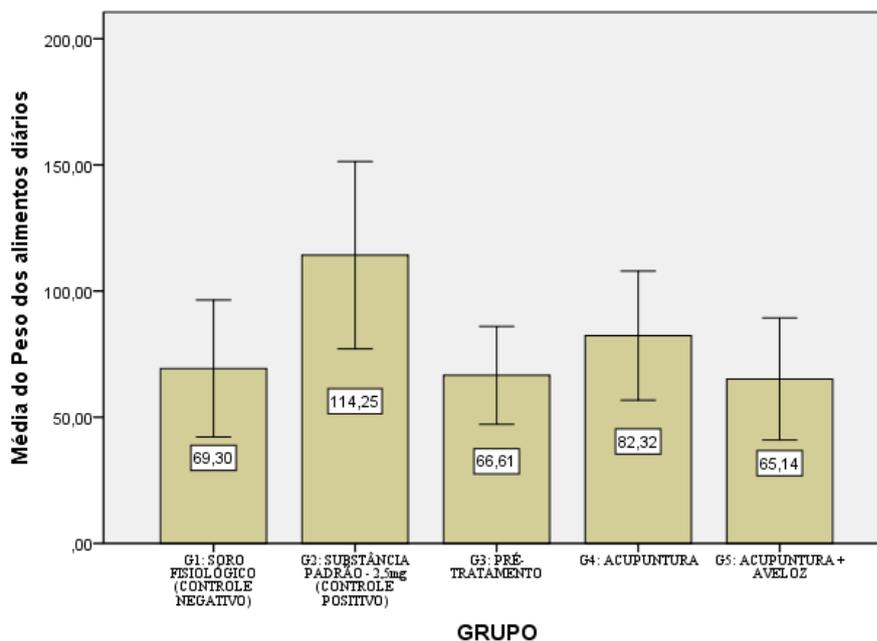
e a *E. tirucalli*. Pesquisas relatam que a *E. tirucalli* é capaz de promover uma diminuição significativa de células tumorais devido à ação da resposta anti-inflamatória (PAZ et al., 2017) antifúngica (SOUZA et al., 2011) e mielomodulatória (VALADARES et al., 2006).

Figura 1 - Média dos pesos diários por Grupo



Barra de Erro: Intervalo de Confiança da Média com 95%

Figura 2 - Média do consumo diário do alimento por Grupo



Barra de Erro: Intervalo de Confiança da Média de 95%

CONCLUSÃO

Conclui-se que a utilização da acupuntura e *Euphorbia tirucalli* em camundongos com carcinoma de Ehrlich, proporcionou, uma estabilização do quadro comportamental e nutricional demonstrando que o melhor tratamento foi o da associação da acupuntura com o fitoterápico. Sugere-se a utilização dessas práticas integrativas como tratamento coadjuvante em pacientes com carcinoma.

REFERÊNCIAS

ANDRADE, R. S. et al. Considerações nutricionais na radioterapia. In: WAITZBERG, D.L. **Dieta, nutrição e câncer**. São Paulo: Atheneu, 2004.

ASTA MEDICA ONCOLOGIA. Cisplatina ®. [Online]. p. 1-4, 2014. São Paulo-SP. Disponível em: < <http://www.astamedica.com.br> >. Acesso em: 4 mar. 2017.

BARBOSA, C. V. Avaliação do potencial antineoplásico de plantas medicinais utilizadas como coadjuvantes no tratamento do câncer pelos pacientes do CACON/UFAL. 2009. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Alagoas, 2009.

BONASSA, E. M. A. **Enfermagem em Terapêutica Oncológica**. 3. ed. São Paulo: Atheneu, 2005.

CASEIRO, B. M. et al. Estudo do potencial de cura de formas de câncer utilizando Avelóz (*Euphorbia tirucalli* L.). In: Mostra de Iniciação Científica e Tecnológica Interdisciplinar (MICTI), Camboriú, p.1-22, 2006.

DIAS, M.B.M.C. Avaliação clínica da aplicação da acupuntura em cães com disfunções locomotoras e/ou neurológicas. 2014. 97 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife 2014.

DIAS, M.B.M.C. et al. Efeito clínico da acupuntura em cães com distúrbios neurológicos. **Rev. Neurociên.**, v. 23, n. 4, p. 562-566, 2015.

ENBLOM, A. et al. Reduced Need for Rescue Antiemetics and Improved Capacity to Eat in Patients Receiving Acupuncture Compared to Patients Receiving Sham Acupuncture or Standard Care during Radiotherapy **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, v. 2017, p.1-11, 2017.

FONSECA, C.S. Avaliação, in vivo e in vitro, dos efeitos dos flavonóides quercetina, naringentina e ipriflavona na prevenção e tratamento do tumor de Ehrlich. 2006. 136 f. Tese (Doutorado em Bioquímica Agrícola) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica Agrícola, Universidade de Minas Gerais, Minas Gerais, 2006.

GARÓFOLO, A. et al. Aceitação da suplementação oral e resposta sobre o estado nutricional em crianças e adolescentes desnutridos com câncer. **Rev. Bras. Nutr. Clin.**, v.17, n.1, p.1-8, 2002.

KIM, S. K.; BAE, H. Acupuncture and immune modulation. **Autonomic Neuroscience: Basic and Clinical**, v.157, n.2, p.38-41, 2010.

LAPCHIK, V. B. V. et al. **Cuidados e Manejo de Animais de Laboratório**. São Paulo: Editora Atheneu, 2010.

LIMA, R.C. Alterações na resposta imunológica pré e pós procedimento de acupuntura. 2014. 37 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Biomedicina) - Universidade Católica de Brasília, Brasília, 2014.

LIPTON, B. H. **A Biologia da Crença**: O poder da consciência sobre a matéria e os milagres. 1 ed. São Paulo: Butterfly, 2007.

MACHADO, S.M; SAWADA, N.O. Avaliação da qualidade de vida de pacientes oncológicos em tratamento quimioterápico adjuvante. **Texto Contexto Enferm**, v.17, n.4, p.750-757, 2008.

MIRANDA, T.V. et al. Estado Nutricional e Qualidade de Vida de Pacientes em Tratamento Quimioterápico. **Rev. Bras. Cancerol.**, v.59, n.1, p. 57-64, 2013.

MURAKAMI, K. **Código Divino da Vida**: Ative seus genes e descubra quem você quer ser. 1 ed. São Paulo: ProLíbera, 2008.

PAZ, D. P. A.; LATORRE, A.O.; DA SILVA, T. C.; AKISUE, G.; DAGLI, M. L. Z. Avaliação dos efeitos da *Euphorbia tirucalli* (aveloz) sobre o crescimento do tumor de Ehrlich em sua forma ascítica. Laboratório de Oncologia Experimental e Comparada, Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, USP-SP, 2006.

RIVERA, E. A. B. Analgesia, anestesia e eutanásia em roedores, logomorfos, cães e suínos. In: Feijó, A.G.S.; Braga, L.M.G.M.; Pitrez, P.M.C. **Animais na pesquisa e no ensino**: aspectos éticos e técnicos. Porto Alegre: EdiPUCRS, 2010.

SAPIÊNCIA JORNAL. **Informativo científico da FAPEPI**. v.23, p.4-9, 2010. Disponível em: <http://www.fapepi.pi.gov.br/media/uploads/jornal/2016/12/sapiencia23.pdf> < > Acesso em: 05 mar. 2017.

SCHOEN, A. M. **Acupuntura veterinária**: da arte antiga à medicina moderna. São Paulo: Roca, 2006.

SILVA, A. C. P. Abordagem da atividade biológica do látex de *Euphorbia tirucalli* L inn. (Euphorbiaceae). 2006. 99 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2006.

SOUZA, D. P. et al. Laticifer proteins play a defensive role against hemibiotrophic and necrotrophic phytopathogens. **Planta**, v. 234, n.1, p.183-193, 2011.

STOCK, C. C. et al. Sarcoma 180 inhibition screening data. **Cancer Resaearch**, v. 2, p. 2-3, 1995.

VALADARES, M.C. et al. *Euphorbia tirucalli* L. modulates myelopoiesis and enhances the resistance of tumour-bearing mice. **Int J Immunopharmacol**. v.6, n.1, p. 294-299, 2006.

WAITZBERG, D.L. et al. Incidência da desnutrição em câncer. *In: Waitzberg DL. Dieta, nutrição e câncer.* São Paulo: Atheneu, 2004.

WANG, L. et al. Euphol arrests breast cancer cells at the G1 phase through the modulation of cyclin D1, p21 and p27 expression. **Molecular Medicine Reports**, v. 8, n. 4, p.1279-1285, 2013.