

ATIVIDADES DE ENZIMAS HEPÁTICAS GAMA-GT, ASPARTATO AMINOTRANSFERASE E ALANINA AMINOTRANSFERASE FORAM MODULADAS EM RATOS PORTADORES DE TUMOR QUANDO SUBMETIDOS A SUPLEMENTAÇÃO NUTRICIONAL COM LEUCINA E/OU ÔMEGA-3 NOS PERÍODOS DE GESTAÇÃO E AMAMENTAÇÃO.

Sarah C. P de Oliveira^{1*}, Natália Miyaguti², Maria C. C. Gomes-Marcondes³

1. Estudante de IC do Instituto de Biologia da UNICAMP

2. IB-UNICAMP - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Co-Orientador

3. IB-UNICAMP - Departamento de Biologia Estrutural e Funcional / Orientador.

Resumo:

O câncer é uma das principais causas de morte no mundo todo, sendo a síndrome câncer-caquexia caracterizada por baixo anabolismo e alto catabolismo de reservas lipídicas e, principalmente, mobilização da massa proteica, sendo responsável por 25% dessas mortes. Assim, é importante que se encontrem alternativas para sua prevenção, como a suplementação nutricional. Neste trabalho, foi avaliada a eficiência da suplementação com leucina e/ou ômega-3 na prevenção ou redução dos danos causados pelo desenvolvimento do carcinoma de Walker-256, em ratos adultos provenientes da prole de ratas submetidas a esses esquemas nutricionais, durante os períodos de gravidez e amamentação. O objetivo deste estudo foi avaliar possíveis efeitos de marcações epigenéticas no fígado, analisando as atividades de enzimas hepáticas – fosfatase alcalina, gama-GT, aspartato aminotransferase e alanina aminotransferase –, que confirmaram que a suplementação proporcionou modulação do desgaste metabólico hepático.

Autorização legal: Comissão de Ética para Experimentação Animal (CEEAA-IB / UNICAMP): nº 3424-1.

Palavras-chave: Câncer-caquexia, suplementação nutricional, enzimas hepáticas.

Apoio financeiro: Fapesp #2015/09371-7; #2010/00209-9; #2014/13334-7.

Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição: UNICAMP.

Introdução:

O câncer, conjunto de mais de 100 doenças distintas, é a segunda maior causa de morte no mundo, promovendo efeitos que sobrecarregam os tecidos do hospedeiro¹, como reduzido anabolismo e processos hipercatabólicos, que caracterizam a caquexia em pacientes e também em modelos experimentais animais, com depleção intensa das reservas de carboidratos e lipídeos e, principalmente, espoliação da massa proteica, acarretando perda involuntária de peso e de tecido estrutural². Muitos estudos têm focado na suplementação nutricional como alternativa co-adjuvante para a preservação ou reversão do estado caquético³. Além disso, tem-se demonstrado que a exposição materna a certos tipos de nutrientes, durante o período recente do desenvolvimento embrionário, pode influenciar o fenótipo do embrião quanto ao risco de desenvolver doenças no decorrer da vida adulta⁴.

Sabendo que a leucina tem propriedade de sinalização celular, levando ao aumento da síntese proteica⁵, e o ácido graxo poli-insaturado ômega-3 melhora a resposta imunológica do hospedeiro⁶, este trabalho avaliou a eficácia da suplementação nutricional durante os períodos gestacional e de amamentação na prevenção ou modulação dos efeitos causados pelo crescimento do carcinoma de Walker-256 em ratos adultos. Para tal foram determinadas as atividades das enzimas hepáticas desses animais, na hipótese de que esses esquemas de suplementação nutricional possam modular a resposta hepática frente aos efeitos deletérios da evolução do tumor. A fosfatase alcalina (FA) é indicadora de atividade celular⁷, a gama-GT preserva a homeostase intracelular contra o estresse oxidativo⁸, a aspartato aminotransferase (AST) está relacionada ao metabolismo intracelular de aminoácidos, mas quando liberada no plasma indica dano hepatocelular severo, assim como a alanina aminotransferase (ALT)⁹.

Metodologia:

Foram confeccionadas quatro tipos diferentes de dietas (Tabela 1), de acordo com a AIN-93¹⁰, para serem administradas desde o momento da cruzada dos animais seguindo o seguinte desenho experimental (Figura 1).

Os grupos são distribuídos de acordo com seu esquema nutricional, sendo eles:

- C = animais controles sem tumor;

Grupos que receberam o mesmo esquema de dieta desde o momento intrauterino até a fase adulta:

- W = grupo com tumor e dieta Controle,
- WL/L = portadores de tumor submetidos à dieta Leucina/Leucina,
- WO/O = portadores de tumor submetidos à dieta Ômega-3/Ômega-3,
- WLO/LO = portadores de tumor submetidos à dieta Leucina e Ômega-3/Leucina e Ômega-3;

Grupos que receberam o mesmo esquema de dieta desde o momento intrauterino até o desmame e, então, foram submetidos à dieta controle até a fase adulta, de forma a constatar a influência da dieta materna (período de gestação/lactação) no futuro de sua prole:

- WL/C = portadores de tumor submetidos à dieta Leucina/Controle,
- WO/C = portadores de tumor submetidos à dieta Ômega-3/Controle,
- WLO/C = portadores de tumor submetidos à dieta Leucina e Ômega-3/Controle

| Componentes para 1Kg de dieta | C | L | O | LO |
|-------------------------------|-------|-------|-------|-------|
| Amido | 397,5 | 387,5 | 397,5 | 387,5 |
| Caseína | 200 | 200 | 200 | 200 |
| Dextrina | 132 | 122 | 132 | 122 |
| Açúcar | 100 | 90 | 100 | 90 |
| Fibra Celulose | 50 | 50 | 50 | 50 |
| Mistura de Sais | 35 | 35 | 35 | 35 |
| Mistura de Vitaminas | 10 | 10 | 10 | 10 |
| Cistina | 3 | 3 | 3 | 3 |
| Colina | 2,5 | 2,5 | 2,5 | 2,5 |
| Óleo de Soja | 70 | 70 | - | - |
| Fígado de bacalhau | - | - | 70 | 70 |
| Leucina | -- | 30 | -- | 30 |

Tabela 1: Composição das dietas semipurificadas: Controle (C), Leucina (L), Ômega-3 (O) e Leucina e Ômega-3 (LO).

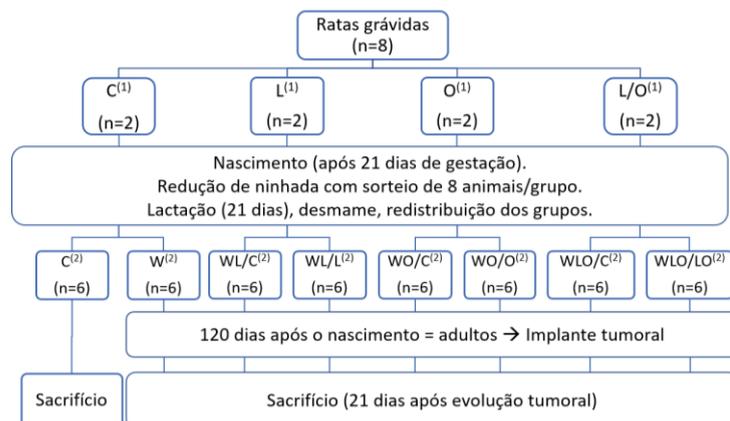


Figura 1: Organograma do procedimento experimental. Descrição da legenda no texto. (1)Número de fêmeas por grupo de cruzamento (para cada duas fêmeas havia um macho para cruzamento). (2)Número total de animais por grupo (n=6 machos).

Resultados e Discussão:

As atividades da fosfatase alcalina nos grupos suplementados foram reduzidas em relação ao grupo controle com tumor, indicando atividade celular reduzida e, portanto, menor sobrecarga do fígado pelo desenvolvimento tumoral. A razão entre as atividades de AST e ALT são indicativas de dano hepatocelular, e é possível observar que houve redução nos grupos suplementados, principalmente naqueles dos períodos de gestação e amamentação. Quanto à atividade da enzima gama-GT, tanto em soro quanto em tecido hepático, observou-se em todos os grupos com tumor redução em relação ao grupo controle (C), o que indica reduzida proteção contra o estresse oxidativo. Entretanto, resultados prévios demonstraram que esses grupos suplementados tiveram seus fígados protegidos frente aos produtos pró-oxidantes comprovado pela elevada atividade de enzimas hepáticas anti-oxidantes.

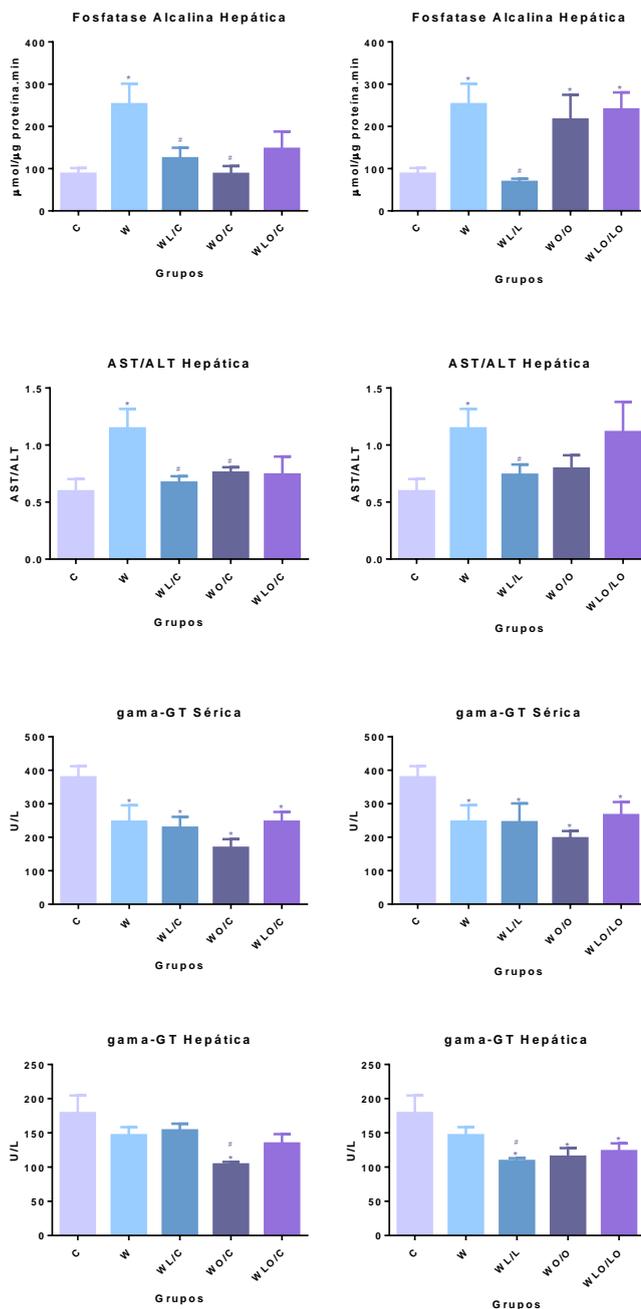


Figura 2: Atividades de enzimas hepáticas. Amostras de soro e tecido hepático foram analisadas utilizando-se kits da InVitro (* $p < 0.05$ diferença estatística em relação a C; # $p < 0.05$ diferença estatística em relação a W).

Conclusões:

Considerando-se todos os resultados apresentados, pode-se concluir que a suplementação com leucina e/ou ômega-3 foi eficiente na redução da sobrecarga e espoliação do fígado, uma vez que as atividades das enzimas hepáticas e a razão entre as atividades de AST/ALT¹¹ foram reduzidas, sugerindo modulação da atividade celular, indicada pela atividade da fosfatase alcalina, mesmo que as atividades da gama-GT sérica e do tecido hepático tenham sido reduzidas. Portanto, essa suplementação,

principalmente durante os primeiros momentos de desenvolvimento, gestação e amamentação, poderia ser uma boa estratégia de prevenção contra o prejuízo metabólico hepático induzido pelo estado de câncer-caquexia.

Referências bibliográficas

1. WHO. Cancer. (2016). Disponível em: <http://www.who.int/cancer/en/>. (Acessado em: 23/02/2017)
2. Tisdale, M. J. Cachexia in cancer patients. *Nat Rev Cancer* **2**, 862–871 (2002).
3. Tisdale, M. J. Pathogenesis of cancer cachexia. *J. Support. Oncol.* **1**, 159–168 (2003).
4. Tamashiro, K. L. K. & Moran, T. H. Perinatal environment and its influences on metabolic programming of offspring. *Physiol. Behav.* **100**, 560–6 (2010).
5. Salomão, E. M., Toneto, A. T., Silva, G. O. & Gomes-Marcondes, M. C. C. Physical exercise and a leucine-rich diet modulate the muscle protein metabolism in Walker tumor-bearing rats. *Nutr. Cancer* **62**, 1095–104 (2010).
6. Iagher, F. *et al.* Chronic supplementation with shark liver oil for reducing tumor growth and cachexia in walker 256 tumor-bearing rats. *Nutr. Cancer* **63**, 1307–15 (2011).
7. bVentrucci, G., Mello, M. A. R. & Gomes-Marcondes, M. C. C. Proteasome activity is altered in skeletal muscle tissue of tumour-bearing rats fed a leucine-rich diet. *Endocr. Relat. Cancer* **11**, 887–895 (2004).
8. Lee, D. Review Is Serum Gamma Glutamyltransferase a Marker of Oxidative Stress? Is Serum Gamma Glutamyltransferase a Marker of Oxidative Stress? (2004). doi:10.1080/10715760410001694026
9. Liu, Z., Que, S., Xu, J. & Peng, T. Alanine Aminotransferase-Old Biomarker and New Concept: A Review. **11**, (2014).
10. Reeves, P. G. Symposium: Animal Diets for Nutritional and Toxicological Research. *Exp. Biol.* 838–841 (1997).
11. KE, S. Alanine aminotransferase in clinical practice: A review. *Arch. Intern. Med.* **151**, 260–265 (1991).