



EFETOS DO ÔMEGA-3 SOBRE DESENVOLVIMENTO CORPORAL DE RATOS WISTAR ADULTOS EXPOSTOS À RADIAÇÃO IONIZANTE

Mirella Claudino Oliveira Silva^{1*}, Raldney Ricardo Costa da Silva¹, Hanna Gracie Inêz de Freitas Lima^{1,2}, Romildo Albuquerque Nogueira¹, Jeine Emanuele Santos da Silva¹

¹Laboratório de Biofísica Teórico Experimental e Computacional - UFRPE; ² Programa de Pós-Graduação em Biociência Animal - UFRPE.

*mirellaclaudino65@gmail.com

INTRODUÇÃO

A radiação nada mais é do que a emissão e propagação de energia de um ponto a outro, seja no vácuo ou num meio material. Isto pode ocorrer através de fenômenos ondulatórios ou por partículas com energia cinética (OKUNO, 2013). Dependendo da quantidade de energia, uma radiação pode ser descrita como não ionizante (possui relativamente baixa energia e promove excitação de elétrons) ou ionizante (possui altos níveis de energia e forma íons na matéria com a qual interagem) (RAMOS, 2003; VELUDO, 2011). Além disso, a exposição dos indivíduos à radiação ionizante (RI) pode causar efeitos diretos e indiretos nas estruturas vivas. Os efeitos indiretos resultam em radicais livres, que são bastante reativos, podendo interferir com o metabolismo de proteínas, dos lipídios e carboidratos, e quanto aos efeitos diretos, eles ocorrem quando a radiação é absorvida diretamente por moléculas importantes no metabolismo celular, como enzimas e o DNA (GARCIA, 2015). A quantidade de células alteradas pode variar, além da sintomatologia, sendo que um número grande de células afetadas pode causar o mal funcionamento do órgão atingido, enquanto que se alcançar um número pequeno de células, tais efeitos poderão ser imperceptíveis (OKUNO, 2013). Os efeitos agudos da radiação são resultado de uma irradiação extremamente alta ao corpo inteiro, que podem provocar modificações nas células mais sensíveis do organismo e podem se manifestar em horas, dias ou semanas após a exposição. Estes efeitos se dividem em síndrome hematopoiética, síndrome gastrointestinal, síndrome pulmonar e síndrome cerebral (VELUDO, 2011).

A taxa de dose absorvida é um fator importante no efeito biológico produzido. Se for depositada uma dose absorvida alta no tecido devido à irradiação de uma fonte com uma taxa de dose baixa, é provável que o tecido possa ser regenerado, compensando, assim, qualquer efeito biológico causado nas células somáticas e nenhum resultado ou efeito poderá ser percebido. No entanto, se a mesma dose absorvida alta for depositada, mas com uma taxa de dose absorvida maior, o efeito demonstrará uma ação seletiva, onde alguns tecidos serão mais danificados do que outros. Esse efeito é um fator de grande importância na radioterapia de tumores (ROSEMBERG, 2011).

De acordo com a Associação de Enfermagem Oncológica Portuguesa (2015), a radiodermite é um dos eventos adversos mais comuns da radioterapia, que se manifesta dentro de alguns dias ou semanas após o seu início e pode persistir até quatro semanas após o fim do tratamento.

Segundo Schneider et al. (2013) 95% dos pacientes tratados com radioterapia desenvolvem alguma forma de reação de pele, sendo a radiodermite um dos efeitos adversos mais comuns, ocorre

devido à exposição extrema à radiação ionizante, definida como uma toxicidade dermatológica que causa lesões cutâneas, que deve ser tratada sintomaticamente, pois geralmente são bem toleradas e reversíveis. Esses efeitos colaterais da radiação aguda na pele ocorrem durante e imediatamente após um ciclo de radioterapia, variando de grau leve a moderado e incluem epilação, eritema, descamação seca e úmida e dermatite (GIEGER; NOLAN, 2017).

A radioterapia da região de cabeça e pescoço é empregada no tratamento de diversos tipos de câncer, incluindo aqueles que envolvem vários sítios, como cavidade oral, laringe, faringe, glândulas salivares, sistema nervoso e demais locais. Os efeitos colaterais mais comumente observados nos pacientes que são expostos a este tipo de intervenção culminam no desenvolvimento de alterações e sequelas de interesse da estomatologia, e ainda agravando o quadro de caquexia frequentemente observado em pacientes oncológicos. Essas alterações podem também interferir na manutenção de uma nutrição adequada pelo paciente, conduzindo a perda de peso, anorexia, caquexia e desidratação, restringindo, ainda mais, a sua dieta (FREITAS et al., 2011).

Algumas substâncias podem diminuir a ação dos radicais livres formados como consequência da exposição dos sistemas biológicos à radiação, sendo denominadas de substâncias radioprotetoras. Os ácidos graxos poli-insaturados ômega 3 (AGPI N-3) necessitam estar no organismo numa proporção adequada para apresentar esses efeitos benéficos, sendo considerados essenciais pelo fato de que não podem ser produzidos pelo organismo, necessitando ser adquiridos por meio da dieta (MARTIN et al., 2006). Estudos a respeito da importância do ômega-3 tem sido realizados ao longo dos anos, com especial interesse sobre os efeitos desses AGPIs em pacientes submetidos ao tratamento de câncer em suas diversas modalidades (HUERTA-YÉPES; TIRADO-RODRIGUEZ; HANKINSON; 2016; LAVRIV; NEVES; RAVASCO, 2018; FEIJÓ et al., 2019; MALTA; ESTADELLA; GONÇALVES, 2019).

Nos últimos anos tem havido grande interesse, por parte da comunidade científica, pelos ácidos graxos poliinsaturados (AGPI) ômega 3, principalmente o ácido eicosapentaenóico (EPA) e o ácido docosahexaenóico (DHA), encontrados em vegetais e óleos de peixe que tem como componente de sua dieta algas ricas nesta família de AGPI. Eles poderão atuar, protegendo os neurônios, e/ou têm propriedades antiamilóide, antioxidantes, antiinflamatória e antiaterogênicas (CRUPI; MARINO; CUZZOCREA, 2013).

Dieta rica em ácidos graxos poli-insaturados pode modular a expressão de proteínas no tecido adiposo por vários mecanismos. Podem causar redução ou aumento da transcrição de genes e modular modificações pós-traducionais de proteínas, de maneira que, suas concentrações são alteradas rapidamente em resposta à

ligação de agonistas específicos a receptores de membrana plasmática (GRIMM, 2002; CLARKE, 2004; BHATTACHARJEE, 2008). Diante dessa perspectiva, esse trabalho se propõe a relatar dados preliminares a respeito dos possíveis efeitos decorrentes da suplementação com óleo de peixe contendo ácido eicosapentaenóico (EPA) e ácido docosahexaenóico (DHA) sobre o desenvolvimento corporal de ratos expostos à radiação ionizante na região de cabeça e pescoço. Adicionalmente, avaliou-se o aparecimento de lesões locais decorrentes da exposição à RI nos animais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos envolvendo animais foram realizados de acordo com as normas da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFRPE) sob a licença n. 97/2018. *Rattus norvegicus*, variedade albinus, linhagem Wistar, machos foram utilizados nos protocolos experimentais. Os mesmos foram mantidos e manipulados no Biotério do Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal (DMFA) da UFRPE em condições ambientais ($25 \pm 1^\circ \text{C}$ e 50% UR) e ciclo claro-escuro (12/ 12 horas) controlados, com água e alimentação (ração comercial Presence®) ad libitum.

Aos 50 dias de idade, os animais ($n=20$) foram divididos em 2 grupos, de acordo com o tratamento ao qual foram submetidos: animais suplementados com óleo de peixe (cápsula contendo 180 mg de EPA e 120 mg de DHA) e irradiados aos 120 dias de idade, pertencentes ao grupo Tratado e o grupo Controle, cujos animais foram submetidos a protocolo semelhante, exceto pelo fato dos mesmos terem recebido solução de NaCl 0,9%. A administração do óleo de peixe e da solução fisiológica foram feitos por meio de gavagem (1ml/ VO/ SID/ 100g PV).

A exposição dos animais (Fig. 1) foram realizadas no Instituto de Radioterapia Waldemir Miranda (IRWAN). A irradiação foi realizada nos animais anestesiados com xilazina (10mg/kg) e cetamina (75mg/kg) aplicadas por via intraperitoneal (MASSONI, 2011). Os animais foram expostos a radiação gama de ^{60}Co numa dose de 9 Gy na parte superior da cabeça e em seguida mais 9 Gy na parte inferior da cabeça, totalizando 18 Gy. A fonte de aplicação da RI é a mesma utilizada nos processos de radioterapia, com meia-vida física de 5,3 anos e radiações gama em cascata de 1,17 e 1,33 MeV. A distância focal adotada foi de 80 cm da fonte de irradiação. A taxa de dose da fonte é de 123,4 cGy por minuto e o tempo de exposição de 15,27 minutos.



Figura 1. Animais posicionados em decúbito dorso-ventral para exposição à radiação ionizante gama (18 Gy) na região da cabeça e pescoço.

Para acompanhamento do desenvolvimento corporal dos animais foi realizada aferição semanal da massa corporal utilizando-se balança eletrônica. Os dados foram registrados em planilha e realizou-se a análise estatística dos mesmos (software Graphpad Prism® 5.01), aplicando-se o teste de Kolmogorov-Smirnov para verificar a normalidade da distribuição dos dados obtidos. Na sequência, os mesmos foram testados por meio do teste t de Student. Adotou-se o valor de $\alpha = 95\%$ para os testes utilizados.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise realizada mostra que a suplementação com ômega-3 promoveu redução na velocidade do ganho de massa corporal nos animais dos grupos Tratados quando comparados ao grupo Controle durante o período de pré-exposição à radiação, como pode ser observado na figura 2, em que os animais suplementados com ômega-3 durante 8 semanas apresentaram menor ganho de massa corporal em relação ao grupo Controle. Uma justificativa provável para os dados obtidos em nosso trabalho pode ser decorrente de que os AGPI N-3 atuam como sinalizadores intracelulares, suprimindo a expressão gênica de genes envolvidos na lipogênese e induzindo a transcrição de genes envolvidos na oxidação lipídica e termogênese (GRIMM, 2002).

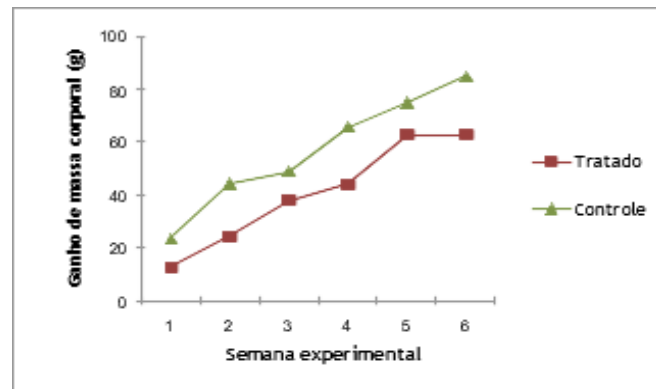


Figura 2. Variação da massa corporal (g) dos animais dos grupos Tratado e Controle ao longo do período experimental

Drouin et al. (2019) observaram que ratos suplementados com ômega-3 DHA ou EPA, em frações correspondentes a 1% do total da dieta, durante 6 semanas apresentaram ganho de peso corporal ao final do período avaliado, quando comparados aos animais do grupo controle (sem suplementação), divergindo dos resultados obtidos no nosso estudo. Um provável motivo para a divergência entre os dados pode ser decorrente de efeitos sinérgicos entre os AGPI utilizados neste trabalho (EPA + DHA), em relação ao seu uso isoladamente.

Os dados obtidos mostraram que a suplementação com ômega-3 antes da exposição dos animais à radiação não foi capaz de interferir na diferença média da massa corporal dos animais irradiados, quando avaliados antes e depois da exposição. Observou-se que a redução de massa corporal em torno de 9,67 g não foi significativa ($p = 0,311$), resultado semelhante aquele observado para os animais do grupo Controle, que apresentaram redução de peso da ordem de 8,01 g ($p = 0,195$) para o mesmo período avaliado.

Pensando na suplementação com ômega-3 como um adjuvante na melhoria da qualidade de vida de pacientes que são submetidos ao procedimento de radioterapia, técnica amplamente adotada no tratamento de tumores, cujos portadores podem apresentar acentuada perda de peso decorrente do processo tumoral, conhecido como caquexia do câncer (MALTA; ESTADELLA; GONÇALVES, 2019), os resultados preliminares aqui obtidos discordam do que tem sido relatado em alguns ensaios experimentais em que verificou-se possíveis efeitos positivos da suplementação com ômega-3 em pacientes com câncer caquético, como ganho ou manutenção de massa corporal e / ou massa magra (WIGMORE et al., 1996; FEARON et al., 2003; YEH et al., 2013). Em estudos realizados por Bruera et al. (2003) e Mantovani et al. (2010), os dados obtidos por estes autores corroboram com os apresentados neste estudo preliminar, em que as diferenças entre as massas de indivíduos suplementados com ômega-3 não foi significativa, o que sugere cautela e não permite o

estabelecimento de correlação positiva entre suplementação e melhora dos parâmetros citados, embora indique benefícios em alguns estudos.

Os animais expostos à radiação apresentaram lesões locais nas regiões do focinho (Fig. 2A) e ventral do pescoço (Fig. 2B), caracterizadas por rarefação pilosa, alteração da coloração e aspecto umedecido, efeito colateral comumente observados em indivíduos submetidos à tratamento radioterápico. Essas alterações tiveram início poucos dias após à exposição, com remissão do quadro nas semanas posteriores (Fig. 2C e 2D).

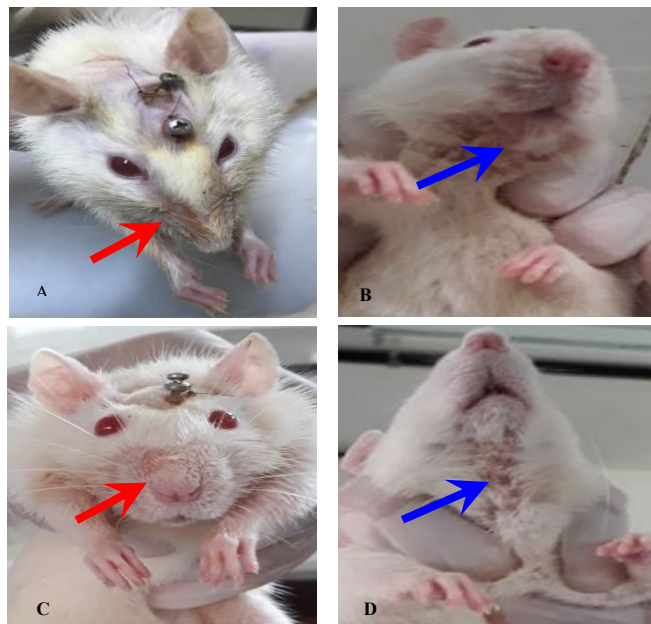


Figura 2. Lesões localizadas nas regiões do focinho (A, C, seta vermelha) e dorsal do pescoço (B, D, seta azul), características da radiodermite nos animais dos grupos Tratado e Controle.

A radiodermatite aguda pode se diferenciar entre eritema leve e intenso, e vários tipos de descamação (seca ou úmida) e, dificilmente, necrose. Enquanto que a radiodermatite crônica pode acontecer após o processo anterior (radiodermatite aguda) ou com profissionais que atuam no setor, caracterizando-se por isquemia, alterações pigmentares, espessamento, telangiectasia, ulceração e fibrose. Frequentemente, 80% a 90% dos pacientes submetidos à radioterapia são acometidos com a radiodermatite, onde a toxicidade varia de leve a moderada, chegando a grave em 25% dos pacientes (FRANCO et al, 2014).

Na primeira semana pós exposição à RI, foi observado nos animais o surgimento de radiodermite. No grupo controle, as lesões tem característica de uma radiodermite de 1º grau, com descamação da pele e exsudação serosa. Um dos animais apresentou ainda opacidade ocular. Já no grupo Tratado, as lesões apresentaram-se mais severas, com reações de 2º grau, incluindo eritema rubro escuro e edema periocular.

A pele tem sido o principal local relatado para a toxicidade recorrente de radiação. A gravidade pode variar de eritema a necrose, ulceração e hemorragia, e a histopatologia consiste em um infiltrado inflamatório inespecífico. A fisiopatologia desse fenômeno não é bem conhecida, mas pode incluir reparo celular prejudicado, mutação genética, inadequação e depleção de células epidérmicas da pele, hipersensibilidade a drogas, dano direto acumulado ao DNA e estresse oxidativo, aumento da expressão de citocinas e dano vascular (GIEGER; NOLAN, 2017).

As lesões apresentaram remissão espontânea em até duas semanas após o surgimento das mesmas nos animais de ambos os grupos experimentais, exceto no que se refere ao animal do grupo

Controle com lesão ocular. Nos pacientes com câncer de cabeça e pescoço, devido à localização do campo de tratamento, é mais comum o desenvolvimento de radiodermite, pois a pele no local é mais sensível e possui dobras, causando umidade e atrito constante, o que a torna mais suscetível. São pacientes que possuem também um estado nutricional desfavorável, tendo pouco tecido adiposo na região irradiada, resultando na maior fragilidade cutânea (MUNIZ; ZAGO; 2008; INCA, 2010).

O planejamento cuidadoso do tratamento com radiação e o manejo dos efeitos colaterais agudos são essenciais para evitar sequelas em curso após a radioterapia (GIEGER; NOLAN, 2017). Apesar dos conhecidos efeitos antioxidantes dos ácidos graxos ômega-3 neste trabalho não foram observados resultados positivos quanto à prevenção ou redução dos danos locais produzidos no tecido epitelial da região irradiada nos animais dos grupos experimentais.

CONCLUSÕES

A suplementação de ratos jovens com ômega-3 durante 8 semanas reduziu o ganho de massa corporal dos animais quando comparado ao grupo Controle. Para o tempo de suplementação adotado, a mesma não foi eficiente para reduzir as perdas de massa corporal ou favorecer a atenuação das lesões epiteliais dos animais submetidos a radiação da região de cabeça e pescoço com dose de 18 Gy, num comportamento semelhante àquele observado no grupo Controle. Embora preliminares, os dados obtidos reforçam a necessidade de mais estudos relativos à eficiência do ômega-3 em promover efeitos benéficos em indivíduos submetidos à radioterapia.

REFERÊNCIAS

- Associação de Enfermagem Oncológica Portuguesa. **Radioterapia. Linhas de Consenso em Enfermagem para uma melhor intervenção**, 2015. Disponível em: https://www.aeop.pt/ficheiros/Consenso_Radiodermite_def.pdf Acessado em 15/04/2019.
- BHATTACHARJEE, A. K. et al. Chronic d-amphetamine depresses an imanic marker of arachidonic acid metabolism in rat brain. **International Journal of Neuropsychopharmacology**, v. 11, n. 7, p. 957 - 969, 2008.
- BRUERA, E. et al. Effect Of Fish Oil On Appetite And Other Symptoms In Patients With Advanced Cancer And Anorexia/Cachexia: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study. **Journal of Clinical Oncology**, v. 21, n. 1, p. 129 - 134, 2003.
- CLARKE, S.D. The multi-dimensional regulation of gene expression by fatty acids: polyunsaturated fats as nutrient sensors. **Current Opinion in Lipidology**, v. 15, n. 1, p. 13-18, 2004.
- CRUPI, R.; MARIO, A.; CUZZOCREA, S. N-3 Fatty Acids: Role in Neurogenesis and Neuroplasticity. **Current Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 24, p. 2953 - 2963, 2013.
- DROUIN, G. et al. Comparative effects of dietary n-3 docosapentaenoic acid (DPA), DHA and EPA on plasma lipid parameters, oxidative status and fatty acid tissue composition. **The Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 63, p. 186 - 196, 2019.
- FEARON, K. et al. Double-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Study Of Eicosapentaenoic Acid Diester In Patients With Cancer Cachexia. **Journal of Clinical Oncology**, v. 24, n. 21, p. 3401-3407, 2006.
- FRANCO, Pierfrancesco et al. Hypericum perforatum and neem oil for the management of acute skin toxicity in head and neck cancer patients undergoing radiation or chemo-radiation: a single-arm prospective observational study. **Radiation Oncology**, v. 9, n. 1, p. 297, 2014.

- FREITAS, J.B.; NAVES, M.M.V. Composição química de nozes e sementes comestíveis e sua relação com a nutrição e saúde. **Revista Nutrição**, v. 23, n. 2, p. 269 - 279, 2010.
- GARCIA, E. A. C. **Biofísica**. São Paulo: Sarvier, 2ª edição, 544p, 2015.
- GIEGER, T.; NOLAN, M. Management of Radiation Side Effects to the Skin, **Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice**, v. 47, n. 6, p. 1165-1180, 2017.
- GONCALVES, D. et al. Conjugated Linoleic Acid: good or bad nutrient. **Diabetology & Metabolic Syndrome**, v. 2, n. 1, p. 62, 2010.
- GRIMM, H.; MAYER, K; MAYSER, P.; EIGENBRODT, E. Regulatory potential of n3 fatty acids in immunological and inflammatory processes. **Brazilian Journal of Nutrition**, v. 87, s1, S59-S67, 2002.
- HILL, N. J. et al. Recording Human Electroencephalographic (EEG) Signals for Neuroscientific Research and Real-time Functional Cortical Mapping. **Journal of Visualized Experiments**, v. 64, e 3993, 2012.
- HUERTA-YÉPEZ, S.; TIRADO-RODRIGUEZ, A. B.; HANKINSON, O. Role of diets rich in omega-3 and omega-6 in the development of cancer. **Boletín Médico Del Hospital Infantil de México (English Edition)**, v. 73, n. 6, p. 446-456, 2016.
- INSTITUTO NACIONAL DO CÂNCER (INCA). **Cartilha Radioterapia**. 2019. Disponível em: <https://www.inca.gov.br/tratamento/radioterapia> Acessado em 16/04/2019.
- LAVRIV, D. S.; NEVES, P. M.; RAVASCO, P. Should omega-3 fatty acids be used for adjuvant treatment of cancer cachexia? **Clinical Nutrition ESPEN**, v. 25, p. 18-25, 2018.
- JUNIOR, F. M. V. et al. Evaluation of genotype on fatty acid profile and sensory of meat of indigenous Pantaneiro sheep and Texel or Santa Inês crossbred finished on feedlot. **Small Ruminant Research**, v. 173, p. 17-22, 2019.
- MALTA, F. A. P. S.; ESTADELLA, D.; GONÇALVES, D. C. The role of omega 3 fatty acids in suppressing muscle protein catabolism: A possible therapeutic strategy to reverse cancer cachexia?. **Journal of Functional Foods**, v. 54, p. 1-12, 2019.
- MANTOVANI G. et al. Randomized Phase III Clinical Trial of Five Different Arms of Treatment in 332 Patients with Cancer Cachexia. **Oncologist**, v. 15, n. 2, p. 200-211, 2010.
- MARTIN, Clayton Antunes et al. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, 2006.
- MASSONI, F. **Anestesiologia Veterinária**. São Paulo: Guanabara Koogan, 2011.
- MUNIZ, R. M.; ZAGO, M. M. F. Para experimentar oncologia de radiação para pacientes: um remendo de veneno. **Revista Latino-Americana de Enfermagem**, v. 16, n. 6, p. 998-1004, 2008.
- OKUNO, E.; YOSHIMURA, E. **Física das radiações**. Editora: Oficina de Textos, São Paulo, 2010.
- OKUNO, E. Efeitos biológicos das radiações ionizantes: acidente radiológico de Goiânia. **Estudos avançados**, v. 27, n. 77, p. 185-200, 2013.
- PESSOA, D.T.; SILVA, E.L.A.; COSTA, E.V.L.; NOGUEIRA, R.A. Effect of diet with omega-3 in basal brain electrical activity and during status epilepticus in rats. **Epilepsy Research**, v. 137, p. 33-38, 2017.
- ROSENBERG, V. Indications and options for radiotherapy and chemoradiotherapy in the treatment of head and neck cancer. **Onkologia (Bratislava)**, v. 6, n. 4, p. 234-236, 2011.
- SCHNEIDER, F. et al. Prevenção e tratamento de radiodermatite: uma revisão integrativa. **Cogitare Enfermagem**, v. 18, n. 3, p. 579 - 586, 2013.
- VELUDO, Patrícia Carvalho. **Efeitos da Radiação X e Níveis de Exposição em Exames Imagiológicos**. Tese de Doutorado. Dissertação de mestrado não publicada, Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011.
- WIGMORE, S. et al. The Effect Of Polyunsaturated Fatty Acids On The Progress Of Cachexia In Patients With Pancreatic Cancer. **Nutrition**, v. 12, n.1, p. 27 - 30, 1996.
- YEH et al., Omega-3 fatty acid-, micronutrient-, and probiotic-enriched nutrition helps body weight stabilization in head and neck cancer cachexia. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 116, n. 1, p. 41-48, 2013.