

O potencial do resveratrol como quimioterápico para o câncer de pele: uma revisão

The potential of resveratrol as a skin cancer chemotherapeutic: a review

Franciéli Maria Horn¹, Lauren Lúcia Zamin^{2*}

¹Licenciada em Ciências Biológicas, UFFS; ²Professora Adjunta da UFFS, Campus Cerro Largo

Resumo

Introdução: o câncer de pele não melanoma é o câncer mais comum no mundo, raramente gera metástases e em geral possui bom prognóstico. No entanto, o câncer de pele tipo melanoma, apesar do desenvolvimento de novos medicamentos, possui alta taxa de mortalidade. O Resveratrol (3, 5, 4'-trihidroxiestilbeno), um composto de origem vegetal, tem surgido como uma molécula antitumoral bastante promissora. **Objetivo:** fazer uma revisão bibliográfica sobre o potencial do Resveratrol como quimioterápico para o câncer de pele. **Metodologia:** foram utilizados artigos científicos disponíveis no site PubMed, Scielo e Scopus com o período de referência compreendido entre os anos 2000 e 2017. As principais palavras chaves utilizadas foram: Resveratrol e câncer de pele; Resveratrol e melanoma. **Resultados:** foram encontrados vários estudos mostrando o potencial quimioterápico do Resveratrol em modelos *in vivo* e *in vitro* de câncer de pele, com efeito em diversos parâmetros celulares, tais como indução de apoptose, necrose e parada no ciclo celular e moleculares, tais como a modulação da via da Akt, MEK/ERK, caspases e p53. O Resveratrol mostrou-se promissor como agente sensibilizador de melanomas radioresistentes. Trabalhos utilizando modelos animais demonstraram que o tratamento com Resveratrol foi capaz de reduzir o crescimento tumoral e aumentar a longevidade. No entanto, alguns estudos comprovaram ausência de efeito ou efeito negativo deste composto. **Conclusão:** embora a revisão tenha mostrado o potencial antitumoral do Resveratrol, alguns estudos mostraram o efeito inverso, indicando que um maior cuidado deve ser tomado ao utilizar este composto em seres humanos.

Palavras-chave: Melanoma. Carcinoma Basocelular. Carcinoma de Células Escamosas. Fitoterapia.

Abstract

Introduction: nonmelanoma skin cancer is the most common cancer in the world rarely generates metastasis and generally has a good prognosis. However, melanoma skin cancer, despite the development of new drugs, has a high mortality rate. Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilbene), a compound of plant origin, has emerged as a promising antitumor molecule. **Objective:** to perform a literature review on the potential of Resveratrol as a chemotherapeutic for skin cancer. **Methodology:** scientific articles available in PubMed, Scielo and Scopus sites were used, with the reference period among 2000 and 2017. The main keywords used were: Resveratrol and skin cancer; Resveratrol and melanoma. **Results:** several studies have been conducted showing the potential chemotherapy of resveratrol in *in vivo* and *in vitro* models of skin cancer with effect in several cellular parameter such as induction of apoptosis, necrosis and cell cycle arrest and molecular parameters, such as modulation of Akt pathway, MEK/ERK, caspase and p53. Resveratrol has shown promise as a sensitizing agent for radio resistant melanoma. Studies using animal models demonstrated that treatment with resveratrol was able to reduce tumor growth and increase longevity. However, some studies have shown no effect or a negative effect of this compound. **Conclusion:** although the review has shown the antitumor potential of Resveratrol, some studies have shown the opposite effect, indicating that greater care should be taken when using this compound in humans. **Keywords:** Melanoma. Basal Cell Carcinoma. Squamous Cell Carcinoma. Phytotherapy.

INTRODUÇÃO

O câncer é uma doença de etiologia multifatorial, resultante, principalmente, de alterações genéticas, fatores ambientais e do estilo de vida (HANAHAN; WEINBERG, 2011). Dentre os diferentes tipos de câncer destaca-se o câncer de pele.

O câncer de pele tem distribuição universal e costuma apresentar-se sob três principais formas: melanoma,

carcinoma basocelular e carcinoma espinocelular (ou epidermoide) (LINARES; ZAKARIA; NIZRAN, 2015). Os carcinomas basocelular e epidermoide são também conhecidos como câncer de pele não melanoma, tipo mais frequente de câncer de pele e câncer mais frequente na população de pele clara (MADAN; LEAR; SZEIMIES, 2010).

O carcinoma basocelular é mais frequente que o carcinoma epidermoide. A incidência dos cânceres de pele não melanoma aumenta com a idade, em especial a incidência do carcinoma epidermoide (MADAN; LEAR; SZEIMIES, 2010).

Correspondente/Corresponding: * Lauren Lúcia Zamin – End: Rua Jacob Reinaldo Haupenthal, 1580, CEP 97900-000, Cerro Largo, RS. Universidade Federal da Fronteira Sul. – Tel: 55(49) 3359-4224 – E-mail: lauren.zamin@uffs.edu.br.

O número de casos novos de câncer de pele não melanoma estimado para o Brasil em 2016 é de 80.850 entre os homens e de 94.910 entre as mulheres. Quanto ao melanoma, sua letalidade é elevada, porém sua incidência é baixa (3.000 casos novos em homens e 2.670 casos novos em mulheres). As maiores taxas estimadas em homens e mulheres encontram-se na região Sul do país (ESTIMATIVA, 2016).

O melanoma origina-se dos melanócitos, células da pele produtoras de um pigmento denominado melanina, que lhe proporciona proteção contra os danos causados pela radiação Ultravioleta (UV) (GANDHI; KAMPP, 2015). O melanoma apresenta-se, em geral, como lesão assimétrica, com bordos irregulares, coloração variada e diâmetro maior que seis milímetros. Para a suspeita clínica, utiliza-se a regra do ABCD, sendo o A referente à assimetria, o B aos bordos irregulares, o C às colorações variadas e o D ao diâmetro maior que seis milímetros. Os locais mais comuns de acometimento são o tronco (25%) no sexo masculino e os membros (28%) no sexo feminino (AMERICAN ACADEMY OF DERMATOLOGY, 2016).

Os fatores de risco para o desenvolvimento do câncer de pele tanto podem ser genéticos quanto ambientais. A causa ambiental mais significativa é a exposição excessiva ao sol, particularmente nos primeiros 20 anos de vida. Pessoas com determinadas características físicas, em especial de pele e olhos claros, apresentam maior risco de desenvolver câncer de pele (QUINN, 1997).

Devido ao crescente aumento da descoberta de compostos de origem vegetal associados a benefícios à saúde humana, muitos investigadores começaram a procurar drogas com potencial antitumoral entre estas moléculas (RASKIN et al., 2002). Um composto que tem chamado a atenção dos pesquisadores é o Resveratrol (Rsv, 3,5,4'-trihidroxiestilbeno), presente em altas concentrações na uva e no vinho tinto, com diversas atividades biológicas descritas (BAUR; SINCLAIR, 2006). O Rsv apresenta dois anéis fenólicos em sua estrutura unidos por uma ligação dupla, podendo assumir as formas *cis* e *trans*, sendo esta última a mais estável, mais biodisponível em modelos animais e a que exerce funções fisiológicas *in vivo* (BAUR; SINCLAIR, 2006; LAMUELA-RAVENTOS et al., 1995).

Diversos estudos têm indicado que o Rsv é um agente químico responsável por atividades anticancerígenas, bloqueando a evolução de processos neoplásicos e atuando nos três estágios do câncer (iniciação, promoção e progressão) (JANG et al., 1997; HAN et al., 2015). A sua capacidade de suprimir a proliferação celular, induzir

apoptose e restringir a metástase e invasão em diversas linhagens celulares tem alavancado o interesse em larga escala por este composto como antitumoral (HAN et al., 2015). Além disso, tem sido demonstrado que o Rsv exibe atividade antioxidante, anti-inflamatória, reversor dos processos de envelhecimento, entre outros (NOVELLE et al., 2015).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi fazer uma revisão bibliográfica sobre o potencial do Rsv como quimioterápico para o câncer de pele.

METODOLOGIA

Foi realizado um estudo descritivo, qualitativo e desenvolvido na forma de revisão bibliográfica relacionada à investigação do efeito antitumoral do Rsv em câncer de pele. Foram usados no processo de pesquisa artigos disponíveis nos bancos de dados PubMed, Scielo e Scopus no período compreendido entre os anos de 2000 e 2017. As principais palavras-chave utilizadas na busca de referências foram: Rsv e câncer de pele; Rsv e melanoma. Foi realizada a leitura do título e do resumo dos artigos encontrados, como pré-seleção, para avaliar se a temática abordada no trabalho coincidia com o objetivo desta revisão, e aqueles que não se enquadravam foram descartados. Os critérios de exclusão dos artigos encontrados foram (1) artigos que evidenciassem ações antitumorais do Rsv, mas não fossem investigados em modelos de câncer de pele, (2) artigos que evidenciassem o efeito fotoprotetor do Rsv (3) artigos de revisão, (4) artigos em línguas que não a portuguesa, inglesa ou espanhola e (4) ano de publicação anterior a 2000.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com base nos critérios iniciais e também nos fatores considerados para exclusão, foram encontrados ao final do processo de busca 18 artigos na literatura que atendiam aos objetivos dessa revisão, dos quais os resultados estão descritos resumidamente no quadro 1.

O primeiro trabalho demonstrando o efeito antitumoral do Rsv em câncer de pele foi realizado por Jang et al. (1997). Neste estudo, camundongos tratados com DMBA (7,12-dimetilbenz (α) antraceno) e TPA (12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate) desenvolveram uma média de dois tumores por camundongo. A aplicação de Rsv reduziu o número de tumores de pele e a porcentagem de camundongos com tumores e nenhum sinal de toxicidade induzida por ele foi observado. Desde então, diversos estudos foram feitos com o objetivo de investigar o efeito antitumoral do Rsv em câncer de pele.

Quadro 1 – Resumo dos artigos mostrando o efeito do Rsv em estudos *in vivo* e *in vitro* de câncer de pele

Modelo	Concentração RSV/Administração	Resultado	Ref.
Linhagem de carcinoma epidermoide A431.	1, 5, 10, 25 e 50 μM de Rsv no meio de cultivo por 24 h.	Positivo Inibição do crescimento celular de maneira dose dependente.	AHMAD et al., 2001
Linhagem de carcinoma epidermoide A431.	1, 5, 10 e 25 μM de Rsv no meio de cultivo por 24 h.	Positivo Inibição do crescimento celular de maneira dose dependente	ADHAMI; AFAQ; AHMAD, 2002
<i>In vitro</i> : Linhagem de melanoma B16 (B16M) <i>In vivo</i> : Linhagem B16M inoculada na almofada da pata de camundongos.	<i>In vitro</i> : Rsv 1, 5, 10 e 20 μM <i>In vivo</i> : Rsv 20 mg/kg duas vezes por dia, ou incluído na água, a 23 mg/L.	<i>In vitro</i> : Positivo. 100% de inibição do crescimento do tumor foi encontrado na presença de 5 μM de Rsv <i>In vivo</i> : Indiferente. Não inibiu o crescimento tumoral, mas diminuiu a invasão metastática hepática de células inoculadas B16M no baço destes animais.	ASENSI et al., 2002
Linhagem de melanoma humano SK-Mel-28.	25, 50, 100 e 200 μM de Rsv no meio de cultivo por 0 a 100 h.	Positivo Inibição do crescimento celular, indução de apoptose e paragem na fase S do ciclo celular.	LARROSA; TOMAS; ESPIN, 2003
Células de melanoma humano A375 e SK-Mel-28.	5, 15, 30, 60 e 100 μM de Rsv no meio de cultivo por 24, 48 e 72 h.	Positivo Reduziu a viabilidade celular de maneira tempo e dose dependente.	NILES et al., 2003
Linhagens M14, PR-Mel, SK-Mel-28 com resistência à TMZ.	Tratamento com Rsv (dose de 5, 10, 20 e 40 μM durante 24, 48 e 72 h).	Positivo Inibição do crescimento celular nas três linhagens. Efeito tempo e dose dependente.	FUGGETT et al., 2004
Injeção s.c. da linhagem de melanoma humano A375 em camundongo <i>nude</i> .	110 $\mu\text{mol/L}$ ou 263 $\mu\text{mol/L}$ de Rsv na água, durante 3 semanas ou adesivos contendo 10-100 mg de Rsv colocados ao lado dos tumores palpáveis na pele.	Indiferente O Rsv, em qualquer concentração testada, não teve um efeito estatisticamente significativo sobre o crescimento do tumor. Negativo Os maiores níveis de Rsv testados tenderam a estimular o crescimento do tumor ($P = 0.08-0.09$).	NILES et al., 2006
Linhagem de melanoma humano LU1205 e WM35 e de camundongo SW1.	IR de 2,5 e 5 Gy (taxa de dose de 0,82 Gy/min) e Rsv (25-100 μM).	Positivo Redução significativa na sobrevivência das células de maneira dose-dependente, sendo o mais eficaz 100 μM de Rsv e 5 Gy de IR.	JOHNSON; IVANOV; HEI, 2008.
<i>In vitro</i> : Linhagem de melanoma B16 resistentes a DOX (B16/DOX). <i>In vivo</i> : Implante s.c. de células B16/DOX em camundongos.	<i>In Vitro</i> : Rsv (0-500 μM) no meio de cultivo. <i>In vivo</i> : 12,5; 25 ou 50 μM de Rsv s.c., a cada 02 dias por 30 dias.	Positivo <i>In vitro</i> : IC50 = 25 μM após 72 h, $P < 0,05$. <i>In vivo</i> : Diminuição no tamanho do tumor e sobrevivência prolongada (32%).	GATOUILLE et al., 2010
Carcinogênese induzida por DMBA e TPA em camundongos machos balb c.	Animais tratados topicamente com Rsv (50 $\mu\text{M}/\text{animal}$) ou 0,2% de BTP na água, 3 vezes por semana, ou a combinação de Rsv (25 μM) mais BTP (0,1%) por 18 ou 26 semanas.	Positivo Tratamento com Rsv ou BTP sozinho diminuiu a incidência de tumores em 67% e de 75%. A combinação de ambos diminuiu sinergicamente a incidência de tumores (89%).	GEORGE et al., 2011
<i>In vitro</i> : Linhagem de células de melanoma B16F10 e B16BL6. <i>In vivo</i> : Implante s.c. de células B16BL6 em camundongos.	<i>In vitro</i> : Rsv 100 μM no meio de cultivo. <i>In vivo</i> : 50 mg/Kg de Rsv via oral por 17 dias.	Positivo <i>In Vitro</i> : Inibiu a migração celular <i>In vivo</i> : Diminuiu o tamanho tumoral em 60% ($p=0,001$).	BHATTACHARYA; ARJATMOKO; POLANS, 2011
Linhagem de melanoma de camundongo B16F10.	Rsv (10, 20 μM) no meio de cultivo.	Positivo Rsv reforçou a apoptose induzida por IR (5 Gy; taxa de dose de 1Gy/ min).	TAK; LEE; PARK, 2012
Linhagem DM738 implantada s.c. em camundongo <i>nude</i> .	250 mg/mL por dia, durante 14 dias, administrado s.c.	Indiferente	OSMOND et al., 2013
Linhagens de melanoma radioresistentes, SK-Mel-5 e HTB-65.	Rsv (2, 10, 50 μM) no meio de cultura.	Positivo Redução do número de colônias e de células, indução de apoptose concentração e dose-dependente.	FANG et al., 2013
Linhagens de melanoma humano A375 e SK-Mel-31.	Rsv (10, 50 e 100 μM) no meio de cultura por 24 h.	Positivo Rsv induziu parada no ciclo celular e inibiu a proliferação destas células: Linhagem A375 – IC50=23 μM após 48 h Linhagem SK-Mel-31: IC50=15 μM após 48 h ($p<0,05$).	WU et al., 2015
Carcinogênese induzida por DMBA e TPA em ratos Wistar machos.	Rsv 1 ou 2 mg/Kg/semana i.p.	Positivo Rsv causou uma redução da ocorrência, do volume e do peso do tumor, induziu a parada no ciclo celular na fase G2/M e induziu apoptose.	HU; WANG; JWU, 2016
<i>In vitro</i> : Linhagem de melanoma B16F10. <i>In vivo</i> : Implante s.c. de células B16F10 em camundongos.	<i>In vitro</i> : Rsv (1, 3, 10, 30, 100, 300 μM) livre ou em nanocápsula no meio de cultivo por 24, 48 ou 72 h. <i>In vivo</i> : Rsv 5 mg/Kg/dia livre ou em nanocápsula i.p. por 10 dias.	Positivo Nanocápsula de Rsv reduziu a viabilidade celular, diminuiu o volume tumoral, aumentou a área de necrose e infiltração inflamatória e diminuiu a metástase pulmonar quando comparado com o tratamento com Rsv livre.	CARLETTO et al., 2016
Linhagens de melanoma humano HT-144 e SKMEL-28.	Rsv 10 – 100 μM no meio de cultivo por 6, 24 e 48 h.	Positivo Rsv reduziu a viabilidade celular.	NIVELLE et al., 2017

Abreviaturas: BTP: Black Tea Polyphenol; DMBA: 7,12-dimetilbenz(α)antraceno; Ref.: Referência; s.c: subcutâneo; TMZ: temozolamida; TPA: 12-Otetradecanoylphorbol 13-acetate. IR – radiação ionizante; i.p. intraperitoneal.

Fonte: Autoria própria

Em um estudo realizado por Ahmad et al. (2001), foi observado que o tratamento com Rsv levou a parada do ciclo celular na fase G1 seguida por apoptose das células de carcinoma epidermoide humano A431. Isto causou uma indução de p21Cip1/WAF1 que inibiu a ciclina D1/D2-Cdk6, os complexos de ciclina D1/D2-Cdk4, e a ciclina E-Cdk2, deste modo impondo um ponto de controle artificial na transição da fase G1 para S do ciclo celular (AHMAD et al., 2001). Este artigo foi o primeiro a demonstrar o envolvimento de cada componente da maquinaria ciclina-cdk durante a parada do ciclo celular e apoptose mediada pelo Rsv.

Foi também demonstrado, na linhagem celular A431, o envolvimento da via da retinoblastoma (Rb)-E2F/DP na indução da parada no ciclo celular e da apoptose mediada por Rsv (ADHAMI; AFAQ; AHMAD, 2002). Neste trabalho, o Rsv causou uma sub-regulação da hiperfosforilação da proteína Rb e um aumento relativo da Rb hipofosforilada que, por sua vez, comprometeu a disponibilidade de E2F livre, resultando na paralisação da progressão do ciclo celular na zona de transição G1/fase S, conduzindo assim a uma parada na fase G0/G1 e morte celular por apoptose subsequente. Estes foram os primeiros resultados demonstrando o efeito do Rsv sobre a via pRb-E2F/DP em células tumorais.

Asensi et al. (2002), estudaram o efeito *in vitro* do Rsv sobre a linhagem de melanoma B16 (B16M). Considerando a proliferação celular e a geração de espécies reativas de oxigênio (ROS), estas foram inibidas por Rsv em uma maneira dose dependente. A adição de H₂O₂ em células B16M cultivadas na presença de Rsv reativou o crescimento celular. A administração oral de Rsv não inibiu o crescimento de B16M inoculadas na almofada da pata de camundongos (crescimento sólido). No entanto, a administração oral de Rsv diminuiu a invasão metastática hepática de células B16M inoculadas no baço destes animais. O mecanismo de inibição metastática envolveu a inibição da expressão da molécula de adesão vascular 1 induzida por Rsv no endotélio hepático sinusoidal, o que conseqüentemente diminuiu a adesão celular *in vitro* de B16M ao endotélio via antígeno de ativação tardio 4. Estes resultados ressaltam o papel promissor do Rsv como antitumoral e antioxidante, no entanto demonstram um potencial limitante que é a baixa biodisponibilidade quando administrado via oral, conforme evidenciado pela ausência de efeito sobre o crescimento do tumor.

Foi demonstrado também que o Rsv e a molécula 4-hidroxiestilbeno (molécula relacionada) induziu a inibição do crescimento, a apoptose, a paragem na fase S e a regulação positiva de ciclinas A, E e B1 em células do melanoma humano SK-Mel-28 (LARROSA; TOMAS; ESPIN, 2003). Em outro estudo, o Rsv inibiu o crescimento e induziu apoptose em linhagens de células de melanoma humano A375 e SK-Mel-28, sendo a linhagem amelanótica (A375) mais sensível à indução de apoptose pelo Rsv do que a linhagem melanótica SK-Mel-28 (NILES et al., 2003). O Rsv não alterou a fosforilação da MAPK (*mitogen-activa-*

ted protein kinase) p38 ou c-Jun N-terminal quinase (JNK) em ambas as linhagens, porém induziu a fosforilação da quinase do receptor extracelular (ERK)1/2 em A375, mas não em células SK-Mel-28. Estes resultados sugerem que o Rsv pode ter efeito tanto terapêutico quanto preventivo para melanoma.

O potencial terapêutico do Rsv no tratamento de melanoma foi avaliado em três linhagens celulares de melanoma humano (M14, PR-Mel, SK-Mel-28) com diferentes níveis de resistência à temozolomida (TMZ – um composto antitumoral triazeno). Foi verificado que o Rsv diminuiu a proliferação celular, induziu apoptose, necrose e parada no ciclo celular tanto da linhagem sensível a TMZ (M14) quanto das linhagens resistentes (SK-Mel-28 e PR-Mel). A sensibilidade dos queratinócitos humanos normais ao Rsv verificou ser significativamente mais elevada do que a de células M14 e SK-Mel-28 e semelhante à da linhagem celular PR-Mel (FUGGETTA et al., 2004). Dessa forma, fica evidente que o Rsv é um candidato potencial para o tratamento de melanoma avançado.

Em um estudo realizado com xenoinxerto de melanoma humano em camundongos, observou-se ausência de efeito sobre o crescimento do tumor. Os maiores níveis de Rsv testados tenderam a estimular o crescimento do tumor. O Rsv e seus principais metabólitos foram encontrados no soro, fígado, pele, e tecido do tumor (NILES et al., 2006). Neste estudo, o Picetanol, principal metabólito do Rsv, não afetou o crescimento *in vitro* de uma linhagem de células de melanoma de roedor, mas estimulou significativamente o número de metástases pulmonares de melanoma quando estas células foram diretamente injetadas na veia caudal do camundongo. Estes resultados sugerem que o Rsv precisa ser visto com cautela para o tratamento de melanoma e que os efeitos sobre as culturas celulares podem não traduzir a todo o sistema animal (NILES et al., 2006).

Uma característica do melanoma é ser relativamente resistente à radioterapia e à quimioterapia convencional. A avaliação do papel do Rsv para aumentar a radiosensibilidade das células de melanoma foi realizada em linhagens celulares de melanoma humano (LU1205 e WM35), e linhagens de melanoma de camundongo (SW1). O ensaio clonogênico de sobrevivência dessas linhagens celulares, dias após a radiação ionizante (IR) revelou que SW1 foi a mais radorresistente enquanto as células WM35 e LU1205 foram menos resistentes a IR. No entanto, efeitos sinérgicos do tratamento sequencial de células de melanoma por IR e Rsv exibiram reforçada radiosensibilidade (JOHNSON; IVANOV; HEI, 2008).

Foi encontrado a partir do ensaio clonogênico das linhagens de células de melanoma SW1, após a exposição à IR e Rsv, redução significativa na sobrevivência das células de maneira dose-dependente. Os ensaios também mostraram que a sobrevivência das células WM35 diminuíram substancialmente após tratamento combinado com IR e Rsv (JOHNSON; IVANOV; HEI, 2008). Também foi mostrado que o Rsv induziu os níveis mais elevados de

apoptose após o tratamento em células WM35, SW1 e LU1205. A IR resultou num aumento do fator de necrose tumoral indutor de apoptose (TRAIL – *R tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand*). Também foi relatado que o tratamento sequencial das células SW1, primeiro por IR, para aumentar a expressão de TRAIL-R, e, em seguida, com Rsv, para induzir a translocação endógena de TRAIL para a superfície celular, e para suprimir as proteínas anti-apoptóticas cFLIP e Bcl-xL, resultou em forte regulação da apoptose induzida por Rsv e baixa regulação da sobrevivência clonogênica nestas células (JOHNSON; IVANOV; HEI, 2008). Juntos, estes resultados demonstraram a efetividade do tratamento combinado de TRAIL e IR e do tratamento prévio com Rsv, em melanoma radioresistente, para sensibilizar as células a IR.

O Rsv inibiu o crescimento de uma linhagem de células de melanoma B16 resistentes a doxorubicina (B16/DOX). Este efeito foi acompanhado pela imposição de um ponto de verificação artificial na transição de fase G1-S, tal como demonstrado pela análise do ciclo celular e sub-regulação de ciclina D1/cdk4 e aumento do nível de expressão da p53. A paragem na fase G1 do ciclo celular em células B16/DOX tratadas com Rsv foi seguida da indução de apoptose, o que foi revelado pela observação de núcleos picnóticos e DNA fragmentado. O Rsv também potencializou, em dose sub-tóxicas, a citotoxicidade da doxorubicina (DOX) em melanoma B16 quimiorresistente. Quando administrado em camundongos, o Rsv reduziu o crescimento de um melanoma B16/DOX estabelecido e prolongou a sobrevivência destes animais. Estes dados apoiam um potencial uso do Rsv isoladamente ou em combinação com outros agentes quimioterapêuticos no tratamento de tumores quimiorresistentes (GATOUILLAT et al., 2010).

Os efeitos quimiopreventivos combinatórios de Rsv e de polifenóis do chá preto (BTP) em suprimir dois estágios da carcinogênese de pele induzida por DMBA e TPA foram investigados em camundongos. O tratamento com Rsv ou BTP sozinho diminuiu a incidência de tumores em 67% e 75%, enquanto que a combinação de ambos em doses baixas diminuiu sinergicamente a incidência de tumores (89%). Esta combinação também regrediu significativamente o volume e o número de tumores. Estudos mecanísticos revelaram que esta inibição combinatória foi associada a diminuição da expressão das MAPKs: (JNK ½) e p38; e aumento na quantidade total de p53 e fosfo-p53 (Ser 15) no tecido da pele/tumor (GEORGE et al., 2011). O tratamento com combinações de Rsv e BTP também diminuíram a expressão de PNCA na pele e no tumor dos camundongos, mais intensamente do que os tratamentos isolados. Além disso, a análise histológica e da morte celular também confirmou que o tratamento em conjunto de Rsv e BTP inibiram a proliferação celular e induziram a apoptose acentuadamente (GEORGE et al., 2011). Este trabalho foi o primeiro a demonstrar que a combinação de Rsv e BTP é mais eficaz no combate a este tipo de tumor do que o uso individual desses, indicando

que esta combinação é promissora para ensaios clínicos.

Em outro trabalho, o Rsv diminuiu a expressão e inativou a Akt (proteína chave em rotas de proliferação celular) em células de melanoma B16F10 e B16BL6. O Rsv também inibiu as propriedades migratórias e invasivas destas células altamente malignas (BHATTACHARYA; ARJATMOKO; POLANS, 2011). A redução da migração e invasão celular, no entanto, foi revertida em linhagens celulares com superexpressão de Akt ou com o co-tratamento com inibidores farmacológicos que bloqueavam a degradação Akt. Células Akt dominante negativas foram mais sensíveis ao Rsv e tiveram as propriedades migratórias diminuídas. O tratamento oral com Rsv reduziu o volume do tumor primário, a expressão da Akt, e a propensão para metástase em modelos de melanoma em camundongos. Estes resultados sugerem que o Rsv pode reduzir as propriedades malignas e altamente invasivas do melanoma por inativar a Akt, indicando um potencial de tratamento.

Os efeitos radiosensibilizadores do Rsv na apoptose foram apoiados por outro estudo em células de melanoma de camundongos B16F10 (TAK; LEE; PARK, 2012). Verificou-se neste estudo que o Rsv reforçou a apoptose induzida por IR. Foi também mostrado que a viabilidade celular após 48 h de exposição a IR, foi significativamente reduzida por Rsv nestas células cancerosas em comparação com o grupo IR ou Rsv sozinho. Este trabalho reforça o papel do Rsv como molécula promissora para sensibilizar células tumorais a IR.

A atividade citotóxica do Rsv foi testada utilizando um modelo de xenoinxerto, onde a linhagem celular de melanoma (Duke melanoma 738 [DM738]) foi implantada subcutaneamente em camundongos. Nenhuma diferença no crescimento tumoral ou no peso do tumor *post-mortem* foi detectada nos animais tratados com Rsv. Embora os dados *in vitro* fossem promissores, o Rsv mostrou potencial limitado como agente único no tratamento do melanoma (OSMOND et al., 2013).

O efeito da radioterapia (XRT) em combinação com Rsv em linhagens de melanoma radioresistentes, SK-Mel-5 e HTB-65, foi estudado através da avaliação da proliferação celular e apoptose (FANG et al., 2013). Neste estudo, o ensaio clonogênico destas células com dosagem variável de radiação, na presença ou ausência de Rsv revelou uma redução do número de colônias de SK-MEL-5 e células HTB-65 concentração e dose-dependente. Foi demonstrado que o efeito combinado de Rsv/XRT resultou em 70-90% de inibição de crescimento após IR em células pré-tratadas com Rsv em comparação com os controles (sem XRT ou Rsv). Estes dados novamente reforçam o papel do Rsv como radiosensibilizador para o tratamento de melanomas.

Em um trabalho utilizando as linhagens de melanoma humano A375 e SK-Mel-31, o tratamento com Rsv induziu parada no ciclo celular e inibiu a proliferação destas células. Além disso, observou-se que o Rsv induziu apoptose em ambas as linhagens e regulou positivamente

a expressão das proteínas Bax e Bcl-2, possivelmente via ativação da p53 e das caspases-9 e 3 (WU et al., 2015), evidenciando o papel do Rsv na indução da apoptose de células tumorais.

Em um estudo de carcinogênese de pele induzido pela aplicação tópica de DMBA e TPA em ratos Wistar macho, o Rsv causou uma redução da ocorrência, do volume e do peso do tumor, induziu a parada no ciclo celular na fase G2/M e induziu apoptose por modular genes como p53, p21, caspase-3, bax, survivina, ciclina-B e cdc-2. Estes resultados indicam o efeito antitumoral do Rsv associado ao efeito regulador da apoptose e do ciclo celular (HU et al., 2016).

O efeito da aplicação do Rsv em nanocápsula foi avaliado em um modelo de melanoma em camundongo e em linhagem celular. O tratamento com as nanocápsulas contendo Rsv reduziu a viabilidade celular, diminuiu o volume tumoral e aumentou a área de necrose e infiltração inflamatória quando comparado com o tratamento com Rsv livre. Além disso, o tratamento com as nanocápsulas diminuiu a metástase pulmonar (CARLETTO et al., 2016). Em outro trabalho, utilizando duas linhagens de melanoma humano (HT-144 e SKMEL-28), o Rsv reduziu a viabilidade celular (NIVELLE et al., 2017), reforçando o papel antitumoral deste composto.

CONCLUSÃO

O presente estudo mostrou diversos trabalhos realizados *in vivo* e *in vitro* indicando que o Rsv é uma molécula promissora para o tratamento do câncer de pele. Estes estudos apresentados indicaram que o Rsv pode causar diminuição do tamanho do tumor de pele, induzir apoptose, parada no ciclo celular, modulação de vias de sinalização indutoras de proliferação celular, entre outros efeitos.

No entanto, há uma necessidade de reforçar estudos mais consistentes em modelos de animais, pois, alguns dos estudos analisados indicaram que o Rsv pode promover crescimento e formação do melanoma dependendo do tipo de célula e de outros fatores. Atualmente, diversos estudos clínicos em seres humanos estão sendo realizados para verificar o efeito do tratamento do Rsv para diversas doenças, entre elas o câncer (www.clinicaltrials.gov). Contudo, até o presente momento, os resultados obtidos ainda são inconclusivos.

REFERÊNCIAS

ADHAMI, V. M.; AFAQ, F.; AHMAD, N. Involvement of the retinoblastoma (pRb)-E2F/DP pathway during antiproliferative effects of resveratrol in human epidermoid carcinoma (A431) cells. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, New York, v. 288, n. 3, p. 579-585, 2002.

AHMAD, N. et al. Resveratrol causes WAF-1/p21-mediated G (1)-phase arrest of cell cycle and induction of apoptosis in human epidermoid carcinoma A431 cells. **Clin. Cancer Res.**, Philadelphia, v. 7, n. 5, p. 1466-1473, 2001.

AMERICAN ACADEMY OF DERMATOLOGY. **What to look for:** the ABCDEs of melanoma. Disponível em: <<http://www.aad.org>>. Acesso em: 6 jan. 2016.

ASENSI, M. et al. Inhibition of cancer growth by resveratrol is related to its low bioavailability. **Free Radic. Biol. Med.**, New York, v. 33, n. 3, p. 387-398, 2002.

BAUR, J. A.; SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the *in vivo* evidence. **Nat. Rev. Drug Discov.**, London, v. 5, n. 6, p. 493-506, 2006.

BHATTACHARYA, S.; ARJATMOKO, S. R.; POLANS, A. S. Resveratrol modulates the malignant properties of cutaneous melanoma through changes in the activation and attenuation of the antiapoptotic proto-oncogenic protein Akt/PKB. **Melanoma Res.**, London, v. 21, n. 3, p. 180-187, 2011.

CARLETTO, B. et al. Resveratrol-loaded nanocapsules inhibit murine melanoma tumor growth. **Colloids surf B.**, Amsterdam, v. 144, p. 65-72, 2016.

ESTIMATIVA. **Incidência de câncer no Brasil.** 2016. Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/wcm/dncc/2015/dados-apresentados.pdf>>. Acesso em: 15 dez. 2015.

FANG, Y. et al. A potential role for resveratrol as a radiation sensitizer for melanoma treatment. **J. Surg. Res.**, New York, v. 183, n.2, p. 645-53, 2013.

FUGGETTA, M. P. et al. *In vitro* antitumour activity of resveratrol in human melanoma cells sensitive or resistant to temozolomide. **Melanoma Res.**, London, v. 14, n. 3, p. 189-196, 2004.

GANDHI, S. A.; KAMPP, J. Skin cancer epidemiology, detection, and management. **Med. Clin. North Am.**, Philadelphia, v. 99, n. 6, p. 1323-1335, 2015.

GATOUILLAT, G. et al. Resveratrol Induces Cell-Cycle Disruption and Apoptosis in Chemoresistant B16 Melanoma. **J. Cell. Biochem.**, New York, v. 110, n. 4, p. 893-902, 2010.

GEORGE, J. et al. Resveratrol and black tea polyphenol combination synergistically suppress mouse skin tumors growth by inhibition of activated MAPKs and p53. **Plos One**, San Francisco, v. 6, n. 8, p. 01-12, 2011.

HAN, G. et al. Anti-tumor effects and cellular mechanisms of resveratrol. **Drug discov. today Ther. strateg.**, Oxford, v. 9, n. 1, p. 1-12, 2015.

HANAHAH, D.; WEINBERG, R. A. Hallmarks of cancer: the next generation. **Cell.**, Philadelphia, v. 144, n. 5, p. 646-674, 2011.

HU, Y.Q.; WANG, J.; WU, J. H. Administration of resveratrol enhances cell-cycle arrest followed by apoptosis in DMBA-induced skin carcinogenesis in male Wistar rats. **Eur. rev. med. pharmacol. sci.**, Roma, v. 20, n. 13, p. 2935-2946, 2016.

JANG, M. et al. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Science**, Washington DC, v. 275, n. 5297, p. 218-220, 1997.

JOHNSON, G. E.; IVANOV, V. N.; HEI, T. K. Radiosensitization of melanoma cells through combined inhibition of protein regulators of cell survival. **Apoptosis**, London, v. 13, n. 6, p. 790-802, 2008.

LAMUELA-RAVENTOS, R. M. et al. Direct HPLC analysis of cis – and trans-resveratrol and piceid isomers in Spanish red *Vitis vinifera* wines. **J. Agric. Food Chem.**, v. 43, n. 2, p. 281-283, 1995.

LARROSA, M.; TOMAS, B. F.; ESPIN, J. C. Grape polyphenol resveratrol and the related molecule 4 – hydroxystilbene induce growth inhibition, apoptosis, S-phase arrest, and upregulation of cyclins A, E, and B1 in human SK – Mel-28 melanoma cells. **J. Agric. Food Chem.**, Washington, v. 51, n. 16, p. 4576-4584, 2003.

LINARES, M. A.; ZAKARIA, A.; NIZRAN, P. Skin cancer. **Prim. Care.**, Philadelphia, v. 42, n. 4, p. 645-659, 2015.

- MADAN, V.; LEAR, J. T.; SZEIMIES, R. M. Non-melanoma skin cancer. **Lancet**, London, v. 375, n. 9715, p. 673-685, 2010.
- NILES, R.M. et al. Resveratrol is a potent inducer of apoptosis in human melanoma cells. **Cancer Lett.**, Virginia, v. 190, n. 2, p. 157-163, 2003.
- NILES, R. M. et al., Resveratrol is rapidly metabolized in athymic (Nu/Nu) mice and does not inhibit human melanoma xenograft tumor growth. **J. Nutr.**, Philadelphia, v. 136, n. 10, p. 1-13, 2006.
- NIVELLE, L. et al. Anti-Cancer activity of resveratrol and derivatives produced by grapevine cell suspensions in a 14 l stirred bioreactor. **Molecules**, Basel, v. 22, n. 3, p. E474, 2017.
- NOVELLE, M. G. et al., Resveratrol supplementation: where are we now and where should we go? **Ageing Res. Rev.**, Oxford, v. 21, p. 1-15, 2015.
- OSMOND, G. W. et al. *In vitro* and *in vivo* evaluation of resveratrol and 3,5-dihydroxy-4'-acetoxy-*trans*-stilbene in the treatment of human prostate carcinoma and melanoma. **J. Surg. Res.**, New York, v. 179, n. 1, p. e141-148, 2013.
- QUINN, A. G. Ultraviolet radiation and skin carcinogenesis. **Br. J. Hosp. Med.**, London, v. 58, n. 6, p. 261-264, 1997.
- RASKIN, I. et al. Plants and human health in the twenty-first century. **Trends Biotechnol.**, Amsterdam, v. 20, n. 12, p. 522-531, 2002.
- TAK, J. K., LEE, J. H., PARK, J. W. Resveratrol and piperine enhance radio-sensitivity of tumor cells. **BMB Rep.**, Coréia, v. 45, n. 4, p. 242-246, 2012.
- WU, Z. et al. Resveratrol inhibits the proliferation of human melanoma cells by inducing G1/S cell cycle arrest and apoptosis. **Mol. Med. Rep.**, Atenas, London, v. 11, n.1, p. 400-404, 2015.

Submetido em: 14/01/2016

Aceito em: 03/07/2017