

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
PROGRAMA DE POS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS**

PAULO ROBERTO COSTA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA EM CAMUNDONGOS (C57BL/6) COM
MELANOMA (B16F10)**

PONTA GROSSA

2024

PAULO ROBERTO COSTA DE ALMEIDA

**AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA EM CAMUNDONGOS (C57BL/6) COM
MELANOMA (B16F10)**

Dissertação apresentada para obtenção do título de Mestre no programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas pela Universidade Estadual de Ponta Grossa em associação Ampla com Universidade do Centro-Oeste.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Marino Favero

Coorientador: Prof. Dr. Eurico Cleto Ribeiro de Campos

PONTA GROSSA

2024

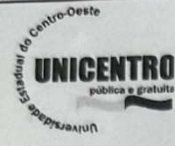
A447 Almeida, Paulo Roberto Costa
Avaliação eletrocardiográfica em camundongos (C57BL/6) com melanoma (B16F10) / Paulo Roberto Costa Almeida. Ponta Grossa, 2024.
65 f.

Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas - Área de Concentração: Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia), Universidade Estadual de Ponta Grossa.

Orientador: Prof. Dr. Giovani Marino Favero.
Coorientador: Prof. Dr. Eurico Cleto Riberto de Campos.

1. Melanoma. 2. Eletrocardiografia. 3. Camundongos. 4. C57bl/6. 5. Sistema cardiovascular. I. Favero, Giovani Marino. II. Campos, Eurico Cleto Riberto de. III. Universidade Estadual de Ponta Grossa. Fármacos, Medicamentos e Biociências Aplicadas à Farmácia. IV.T.

CDD: 615

	PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS Associação Ampla entre a Universidade Estadual do Centro-Oeste e a Universidade Estadual de Ponta Grossa	
---	---	---

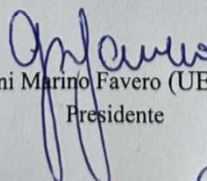
ATA DE EXAME DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO EM CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS - ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: FÁRMACOS, MEDICAMENTOS E BIOCÊNCIAS APLICADAS À FARMÁCIA NÚMERO 07/2024 DO MESTRANDO **PAULO ROBERTO COSTA DE ALMEIDA**, REALIZADA NO DIA 24 DE OUTUBRO DE 2024, NA UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA.

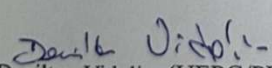
Aos vinte e quatro dias do mês de outubro de dois mil e vinte e quatro, às 14h, no Laboratório de Anatomia, Sala 31, Bloco M, na Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), em sessão aberta, sob a presidência do Professor Doutor Giovani Marino Favero, reuniu-se a Banca Examinadora de exame de defesa de dissertação de Mestrado em Ciências Farmacêuticas do mestrando **PAULO ROBERTO COSTA DE ALMEIDA**, na linha de pesquisa: Avaliação Clínico/Laboratorial de Processos Fisiopatológicos, constituída pelo Professor Doutor Giovani Marino Favero (UEPG/PR), demais Doutores: (membros titulares): Denilton Vidolin (UEPG/PR) e Erika Zanon Fagundes Cunha (UFPR/PR); (membros suplentes): José Fabiano Costa Justus (UEPG/PR) e Lizandra Lucy Catelli (UNESP/SP). Iniciados os trabalhos, a presidência deu conhecimento aos membros da banca e ao candidato das normas que regem o exame de defesa de dissertação de mestrado e definiu-se a ordem a ser seguida pelos examinadores para arguição. O título do trabalho foi: **"AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA EM CAMUNDONGOS (C57BL/6) COM MELANOMA (B16F10)"**. Encerrado o exame de defesa procedeu-se o julgamento, tendo sido o candidato APROVADO. Nada mais havendo a tratar, lavrou-se a presente ata que vai assinada pelos membros da Banca Examinadora e por mim, Paulo Maury Redkva, Secretário Setorial dos Programas de Pós-Graduação na Área da Saúde.

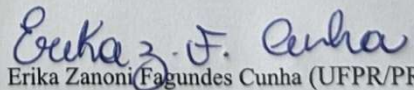
Observações (se necessário): _____

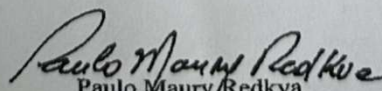
Alteração de título: SIM ☐ NÃO ☒

Novo título: _____


Giovani Marino Favero (UEPG/PR)
Presidente


Denilton Vidolin (UEPG/PR)
Titular


Erika Zanon Fagundes Cunha (UFPR/PR)
Titular


Paulo Maury Redkva
Secretário Setorial

Pró-Reitoria de Pesquisa e Pós-Graduação
Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas
Fone (42) 2102-8937 Email - ppgcf@uepg.br
Av. Carlos Cavalcanti, 4748, Bloco M
Ponta Grossa - Paraná - Brasil

Dedico esta dissertação aos meus pais, Antonio Bufon de Almeida e Selma Aparecida Costa de almeida, a minha esposa, Luane Bosetto que sempre me apoiaram e estiveram ao meu lado nessa caminhada desafiadora, a minha avó Maria (*in memoriam*), essa que foi atingida pelo melanoma e em sua memória estudei essa doença.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de expressar meus sinceros agradecimentos à CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa que foi fundamental para o desenvolvimento dos meus estudos. Este apoio financeiro permitiu me dedicar integralmente ao meu projeto acadêmico, ampliando meus horizontes e contribuindo significativamente para a minha formação profissional, pessoal e desenvolvimento de resultados para sociedade.

Prezado Prof. Dr. Giovani Marino Favero, gostaria de expressar minha sincera gratidão pela oportunidade concedida e pelo imenso apoio que recebi ao longo de toda minha trajetória. Sua crença no meu trabalho foi fundamental para meu crescimento acadêmico e profissional. Sou imensamente grato por sua orientação e incentivo.

Caro Prof. Dr. Eurico Cleto Ribeiro de Campos, é com grande apreço que dirijo estas palavras para expressar minha profunda gratidão pelo imenso apoio que você me ofereceu. Sua orientação e incentivo foram de inestimável valor para mim. Sou muito grato pela sua generosidade e dedicação em me auxiliar em minha jornada acadêmica.

Prezada Professora Dra. Katia Sabrina Paludo, gostaria de expressar minha mais sincera gratidão por sua assistência no cultivo de células. Seu conhecimento e orientação foram fundamentais para o desenvolvimento do meu trabalho. Estou verdadeiramente grato pela sua disponibilidade e dedicação em me auxiliar em minha pesquisa.

Aos técnicos do biotério, gostaria de expressar minha sincera gratidão pelo apoio e assistência que vocês têm prestado no cuidado e bem-estar dos animais. Seu profissionalismo e dedicação foram essenciais para o sucesso do meu trabalho. Estou verdadeiramente grato pela sua colaboração e comprometimento.

Se um dia tiver que escolher entre o mundo e o amor, lembre-se: se escolher o mundo, ficará sem o amor. Mas se escolher o amor, com ele você conquistará o mundo.

(Albert Einstein)

RESUMO

O melanoma é um tipo de câncer com alta capacidade metastática e resistência a muitos tratamentos. Estudos indicam que o câncer pode causar alterações significativas no sistema cardiovascular, seja pela progressão da doença ou pelo tratamento aplicado. Considerando a importância do eletrocardiograma (ECG) na detecção de arritmias e outras anormalidades cardíacas, este trabalho buscou compreender como o melanoma pode impactar na função cardíaca através de análises eletrocardiográficas. Foram utilizados camundongos da linhagem C57BL/6, divididos em grupos controle e com melanoma. O melanoma foi induzido por injeção de células B16F10, e os camundongos foram monitorados ao longo de 21 dias, com intervalos de aferições eletrocardiográficas de sete dias. Para a avaliação eletrocardiográfica, foram utilizados eletrodos não invasivos e um eletrocardiógrafo computadorizado veterinário, permitindo a análise dos parâmetros como frequência cardíaca, amplitude e duração da onda P, QRS, assim como intervalo PR e RR. Os resultados mostraram que camundongos com melanoma apresentaram alterações significativas nos parâmetros eletrocardiográficos em comparação ao grupo controle. Observou-se uma alteração na frequência cardíaca, assim como alterações nos intervalos PR e RR e na amplitude e duração das ondas P e R, indicando possíveis disfunções na condução cardíaca associadas ao melanoma. Essas alterações sugerem que o melanoma pode ter um impacto direto no sistema de condução elétrica do coração, possivelmente devido à liberação de citocinas inflamatórias ou ao efeito do tumor sobre o metabolismo cardíaco. A presença de alterações eletrocardiográficas em camundongos com melanoma reforça a hipótese de que o câncer pode afetar a função cardíaca. Esses resultados podem contribuir para uma melhor compreensão da relação entre a fisiopatologia do câncer e doenças cardiovasculares, além de fornecer uma base para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas que visem proteger o coração durante o tratamento do melanoma.

Palavras-chave: Melanoma, eletrocardiografia, camundongos C57BL/6, sistema cardiovascular.

ABSTRACT

Melanoma is a type of cancer with a high metastatic capacity and resistance to many treatments. Studies indicate that cancer can cause significant changes in the cardiovascular system, either due to disease progression or the treatment applied. Considering the importance of the electrocardiogram (ECG) in detecting arrhythmias and other cardiac abnormalities, this study aimed to understand how melanoma can impact cardiac function through electrocardiographic analyses. C57BL/6 mice were used, divided into control and melanoma groups. Melanoma was induced by injection of B16F10 cells, and the mice were monitored over 21 days, with electrocardiographic measurements taken every seven days. Non-invasive electrodes and a computerized veterinary electrocardiograph were used for the electrocardiographic evaluation, allowing for the analysis of parameters such as heart rate, amplitude, and duration of the P wave, QRS complex, as well as PR and RR intervals. The results showed that mice with melanoma exhibited significant changes in electrocardiographic parameters compared to the control group. Changes in heart rate, as well as in PR and RR intervals, and in the amplitude and duration of the P and R waves, were observed, indicating possible conduction dysfunctions associated with melanoma. These changes suggest that melanoma may have a direct impact on the heart's electrical conduction system, possibly due to the release of inflammatory cytokines or the effect of the tumor on cardiac metabolism. The presence of electrocardiographic changes in mice with melanoma reinforces the hypothesis that cancer can affect cardiac function. These results may contribute to a better understanding of the relationship between cancer pathophysiology and cardiovascular diseases, as well as provide a basis for the development of new therapeutic strategies aimed at protecting the heart during melanoma treatment.

Keywords: Melanoma, electrocardiography, C57BL/6 mice, cardiovascular system.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Representação da circulação sistêmica (Grande circulação) e pulmonar (Pequena circulação).	20
Figura 2 - Diagrama esquemático do ritmo sinusal normal para um coração visto no ECG.	25
Figura 3 - Morfologia eletrocardiográfica da onda P, sendo possível visualizar a despolarização de átrio direito (amplitude) e despolarização e átrio esquerdo (duração).	26
Figura 4 – A) Células B16F10 desprendidas. B) Células B16F10 em expansão.	31
Figura 5 - Condições de armazenamento em estufa, das células de B16F10.	31
Figura 6 - Camundongos C57BL/6 armazenados em caixas com livre acesso a alimentos e água.	33
Figura 7 – A) Eletrocardiógrafo computadorizado Veterinário. B) Eletrodos tipo jacaré.	34
Figura 8 - Posicionamento de eletrodos não-invasivos em camundongo C57BL/6...	35
Figura 9 - Software de Eletrocardiograma (InCardioDuo v. 3.1.5).....	36
Figura 10 - Exemplo de aquisição utilizando mini holter.	36
Figura 11 - Traçado eletrocardiográfico de camundongo C57BL/6.	38
Figura 12 - Gráficos representativos dos valores do peso dos camundongos do grupo controle (A) e com melanoma (B).....	39
Figura 13 - Gráfico demonstrativo de valores de peso de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.....	40
Figura 14 - Gráficos representativos dos valores de Frequência Cardíaca (FC) em camundongos do grupo controle (A) e com melanoma (B).	41
Figura 15 - Gráfico demonstrativo de valores de frequência cardíaca de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.	42
Figura 16 - Gráficos representativos dos valores de P (ms) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).	44

Figura 17 - Gráfico demonstrativo de valores de duração da onda P (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.	45
Figura 18 - Gráficos representativos dos valores de P (mV) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).	46
Figura 19 - Gráfico demonstrativo de valores de amplitude da onda P (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.	47
Figura 20 - Gráficos representativos dos valores do intervalo PR (ms) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).	48
Figura 21 - Gráfico demonstrativo de valores de intervalo PR (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.	49
Figura 22 - Gráficos representativos dos valores do complexo QRS em camundongos controle (A) e com melanoma (B).....	51
Figura 23 - Gráfico demonstrativo do complexo QRS (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.....	52
Figura 24 - Gráficos representativos dos valores da onda R (mv) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).....	53
Figura 25 - Gráfico demonstrativo do complexo QRS (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.....	54
Figura 26 - Gráficos representativos dos valores do intervalo R-R em camundongos controle (A) e com melanoma (B).....	56
Figura 27 - Gráfico demonstrativo do intervalo RR de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.	57

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BCRJ	Banco de células do Rio de Janeiro
BPM	Batimentos por minuto
CO ₂	Dióxido de carbono
FC	Frequência cardíaca
INCA	Instituto Nacional de Câncer
ms	milissegundos
mV	Milivolts
NAEVI	Núcleo avançado de estudos da vida
NMDA	N-metil-D-aspartato
O ₂	Oxigênio
RPM	rotações por minuto
SA	Sinoatrial
SFB	Soro fetal bovino
SNA	Sistema Nervoso autônomo
UEPG	Universidade Estadual de Ponta Grossa
VFC	Variabilidade da Frequência cardíaca

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVO GERAL	15
2.2	OBJETIVOS ESPECIFICOS.....	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	MELANOMA	16
3.2	CATECOLAMINAS E O SISTEMA CARDIOVASCULAR	17
3.3	SISTEMA CARDIOVASCULAR.....	18
3.4	ELETROCARDIOGRAMA	21
3.5	SISTEMA DE CONDUÇÃO ELÉTRICA DO CORAÇÃO	22
3.5.1	Nó Sinusal	22
3.5.2	Nó Atrioventricular	23
3.5.3	Condução Atrioventricular.....	24
3.6	INTERPRETAÇÃO DAS ONDAS ELETROCARDIOGRÁFICAS	24
3.6.1	Onda P.....	25
3.6.2	Intervalo PR	26
3.6.3	Complexo QRS.....	27
3.6.4	Intervalo RR.....	27
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
4.1	CULTURA CELULAR DA LINHAGEM B16F10	29
4.2	EXPERIMENTAÇÃO IN VIVO	32
4.2.1	Camundongos C57BL/6.....	32
4.2.2	Modelo e Manutenção dos Animais	32
4.2.3	Inoculação das Células Tumerais.....	33
4.3	MÉTODOS ELETROCARDIOGRÁFICOS.....	34

4.4	EUTANÁSIA	37
4.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	37
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	38
5.1	PESO.....	39
5.2	FREQUÊNCIA CARDÍACA.....	41
5.3	ONDA P (ms).....	43
5.4	ONDA P (mV)	46
5.5	INTERVALO PR	48
5.6	COMPLEXO QRS.....	50
5.7	ONDA R (mV).....	53
5.8	INTERVALO RR	55
6	CONCLUSÃO.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59
	ANEXO A – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS ..	64

1 INTRODUÇÃO

O melanoma é caracterizado como o tipo de câncer de pele mais perigoso e sendo um dos mais incidentes atualmente no Brasil e no mundo (Campos, 2019), o melanoma se caracteriza por uma malignidade que ocorre nos melanócitos, com um aumento exponencial de células responsáveis pela produção de melanina, de forma incontrolável. Quando acontece uma reprodução desenfreada de células, pode atingir um nível de malignidade ainda maior, capazes de se deslocarem de um local fixo, e se espalharem por outras regiões do corpo do indivíduo, classificando como um câncer que se tornou metastático (Mendonça, 2022).

Atualmente estudos relatam que a carcinogênese depende de diversos fatores, sendo eles extrínsecos, ou seja, onde o ambiente proporciona ao indivíduo, e fatores intrínsecos, relacionados com predisposições genéticas. Analisando os vários processos neoplásicos existentes, observa-se que alguns órgãos são mais acometidos que outras estruturas quando esse processo neoplásico se torna metastático. Dessa forma alterações elétricas do coração não são bem elucidadas ou estudadas, sendo que tumores que acometem o músculo cardíaco são extremamente raros devido ao intenso fluxo sanguíneo dificultando a fixação das células na parede cardíaca, assim como também a presença de barreira imunológica devido a presença de macrófagos cardíacos, e quando ocorre a adesão das células cancerígenas podem apresentar alterações significativas ao coração, como, alterações do ritmo cardíaco, disfunção no sistema de condução Hiss-Purkinje, e demais síndromes, como, isquêmicas (Lima, Crotti, 2004).

Avaliando dessa forma, estudos referentes as alterações que o melanoma pode ocasionar ao organismo de forma eletrocardiográfica são importantes para o desenvolvimento e entendimento do câncer. O sistema cardiovascular apresenta distintas funções, entretanto a mais importante, está relacionada principalmente com o transporte. A corrente sanguínea bombeada pelo coração transporta substâncias essenciais para a sobrevivência e para a saúde do organismo, entretanto além de transportar substâncias benéficas, também pode ser responsável pelo transporte de substâncias não benéficas ao organismo.

Para que esse sistema funcione de forma adequada e para que ocorra contração do coração ocorrendo transporte de substâncias através do sangue, a atividade elétrica é responsável pelas contrações dos átrios e ventrículos, que

definimos e caracterizamos como atividade elétrica do coração. As contrações ocorrem por potenciais de ação que surgem de maneira espontânea em células marca-passo, que despolarizam rapidamente em um local denominado como nó sinoatrial (SA), localizado na parede atrial direita, sendo assim, iniciando toda contração do coração (Stephenson, 2021).

A principal função do eletrocardiograma é registrar as variações dos potenciais elétricos que ocorrem em um organismo gerado pelas contrações do coração. Nessas variações podem ocorrer alterações que podem ser detectadas através de um aparelho denominado, eletrocardiógrafo, nas quais são utilizados eletrodos capazes de registrar todo o estímulo elétrico que é desempenhado pelo coração. Para que todo esse estímulo elétrico seja captado, um circuito elétrico deve ser realizado, na qual eletrodos são posicionados em localizações estratégicas, onde ocorre um atrito entre o eletrodo e o paciente localizados em regiões corpóreas. Os posicionamentos dos eletrodos já são padronizados e definem os diferentes sistemas de derivações presentes no eletrocardiograma (Santilli *et al*, 2020).

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar e comparar o traçado eletrocardiográfico em 43 camundongos, utilizando método de eletrocardiografia computadorizada não-invasiva em camundongos C57BL/6 saudáveis e com melanoma.

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- Avaliar alterações elétricas em camundongos controle e com melanoma.
- Avaliar o ritmo cardíaco dos camundongos controle e com melanoma.
- Avaliar a frequência cardíaca (FC) dos camundongos controle e com melanoma.
- Análise morfológica da amplitude (mV) e duração (ms) da onda P, duração do intervalo PR, duração do complexo QRS, amplitude da onda R e duração do intervalo R-R dos camundongos controle e com melanoma.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MELANOMA

O câncer é uma doença potencialmente fatal ao paciente, considerado estatisticamente como a doença que mais acomete a saúde pública de maneira mundial. O câncer é caracterizado, como um aglomerado de células anormais, capazes de se multiplicar e de se disseminar para todo o organismo (Ahmed; Qadir; Ghafoor, 2020). O melanoma é definido como um câncer de pele, com um processo que ocorre na junção dermoepidérmica e a multiplicação desenfreada dos melanócitos em melanócitos atípicos, causando essa malignidade (Almeida; Belfort, 2018).

Diferente de uma infecção, que ocorre devido a um agente externo que causa uma injúria no organismo, o câncer basicamente está no interior de todo um organismo vivo, ou seja, aquilo que pode ocasionar um processo cancerígeno provem do próprio indivíduo, sendo células que são transformadas em organismos patológicos capazes de disseminar processos neoplásicos. De modo geral, as células que originalmente deveriam contribuir para o bem-estar do hospedeiro perdem a capacidade de identificar corretamente os sinais reguladores, e começam a se multiplicar de forma descontrolada. Esse comportamento patológico as torna agressivas, permitindo que se tornem metastáticas e invadam diferentes sistemas do organismo, comprometendo suas funções normais. (Rastrelli *et al.*, 2014).

A metástase é considerada como um processo evolutivo do câncer, com novos estudos relacionados, descrevemos a metástase como um processo evolutivo referente as células que se multiplicam e se tornam metastáticas, com o sucesso, essas células apresentam novos fenótipos devido ao novo posicionamento que ela assume no organismo, tendo em vista que a metástase se define como, migração de células cancerígenas de um ponto inicial, para demais localidades no organismo vivo, que podem ocorrer através de transporte sanguíneo ou linfático (Suhail *et al.*, 2019).

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), em 2023 os casos de melanoma no estado do Paraná alcançaram um percentual de 3,97% para cada 100 mil homens e 3,13% para cada 100 mil mulheres. No período de 2010 a 2020 em pacientes com faixa etária entre 1 a 69 anos, foram registrados 175.039 casos de melanoma de pele, em média, anualmente relata-se um número aproximado de 16 mil casos de melanoma em todo o Brasil. Com a implementação de terapias sistêmicas com utilização de quimioterápicos e imunoterapia, houve-se um considerável

prognóstico favorável para o tratamento do melanoma, a utilização de técnicas cirúrgicas são amplamente realizadas, onde é feita a ressecção da lesão caracterizada como melanoma, e também a remoção do linfonodo como maneira profilática, evitando a disseminação ou remissão completa do processo tumoral. Entretanto estudos revelam que apesar da evolução da terapia medicamentosa para pacientes com melanoma, a terapia com utilização de quimioterápicos pode ser prejudicial devido sua cardiotoxicidade, sendo necessário uma abordagem cirúrgica mais agressiva com objetivo de ressecção do tumor. Outro fator complementar é que a decisão pelo método utilizado para o tratamento do melanoma, segue inúmeros fatores, sendo avaliada a extensão do tumor, se esse tumor se tornou metastático e se disseminou para outras regiões do organismo, assim como a reserva fisiológica desse paciente (Gamboa *et al.*, 2020).

3.2 CATECOLAMINAS E O SISTEMA CARDIOVASCULAR

As catecolaminas são hormônios liberados principalmente pelas glândulas suprarrenais, no contexto melanoma e sistema cardiovascular, ativa o sistema nervoso simpático e desempenham papel crucial na regulação de várias funções fisiológicas, como o aumento da frequência cardíaca, a dilatação dos brônquios e a mobilização de glicose, preparando o corpo para a resposta de "luta ou fuga". No entanto, há evidências crescentes de que as catecolaminas também podem influenciar a progressão do câncer e alterações no sistema cardiovascular (Satendra *et al.*, 2014).

Estudos têm demonstrado que o microambiente tumoral do melanoma pode ser afetado pelas catecolaminas, que atuam através de receptores adrenérgicos expressos nas células tumorais. A ativação desses receptores pode promover várias vias de sinalização intracelular que resultam na proliferação celular, na angiogênese (formação de novos vasos sanguíneos) e na inibição da apoptose (morte celular programada). Além disso, a noradrenalina e a adrenalina podem aumentar a expressão de moléculas pró-inflamatórias e fatores de crescimento, como o fator de crescimento endotelial vascular, que favorecem a invasão e a metástase das células de melanoma, assim como na atuação no sistema cardiovascular, impactando frequência cardíaca, pressão arterial e no tônus vascular (Calvani *et al.*, 2015; Bernabé, 2021).

A interação entre o melanoma e o sistema cardiovascular é parcialmente modulada pela liberação de catecolaminas. Pacientes com melanoma metastático frequentemente apresentam níveis elevados de estresse, resultando em um aumento sustentado na liberação dessas substâncias. Este aumento pode ter efeitos prejudiciais diretos no sistema cardiovascular, agravando condições como hipertensão, arritmias e doenças cardíacas (Ozyuncu *et al.*, 2006; Chang *et al.*, 2023).

3.3 SISTEMA CARDIOVASCULAR

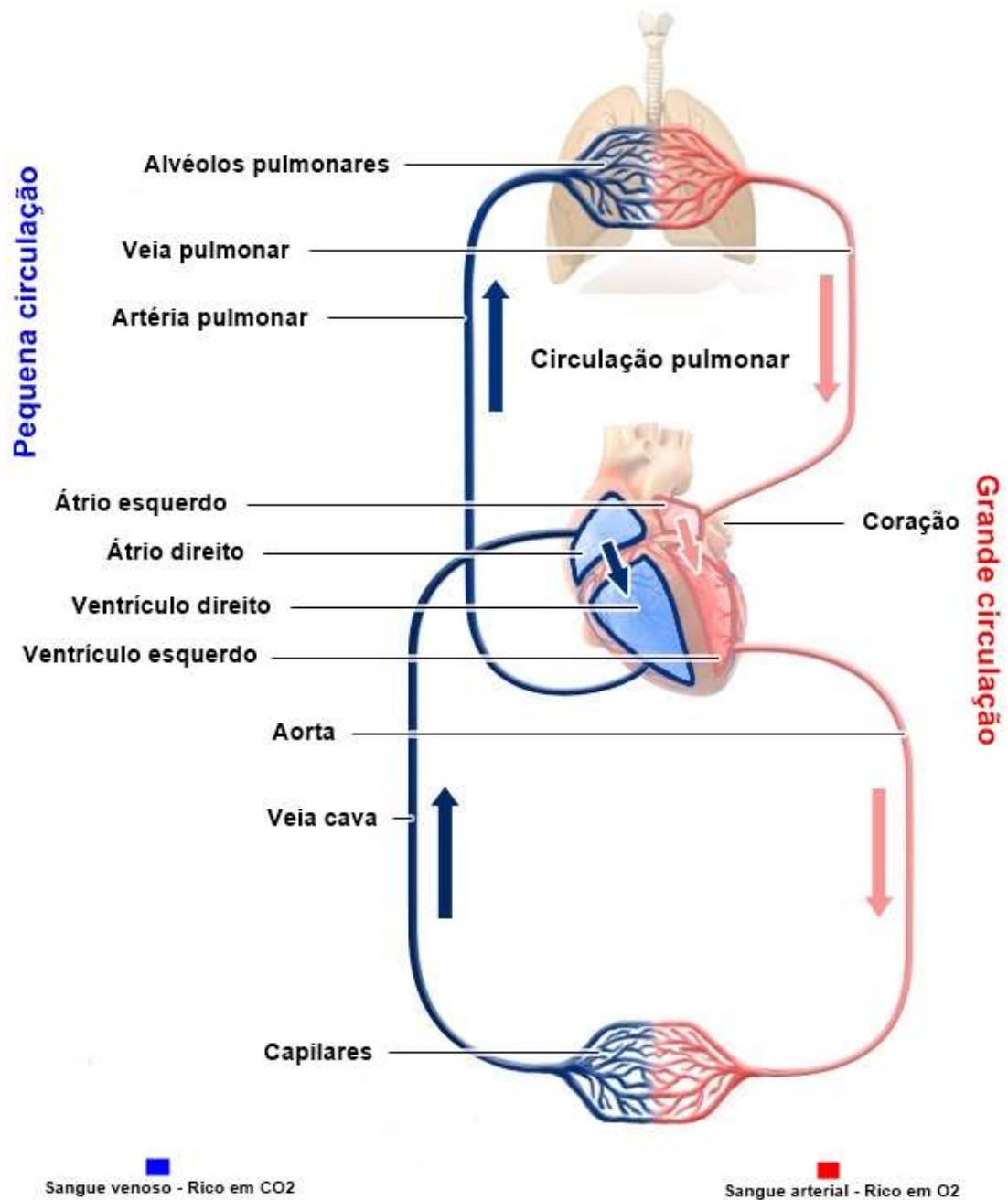
Para que todo o sistema fisiológico e orgânico do ser vivo funcione, é necessário um suprimento diário de água, nutrientes e oxigênio, e para que ocorra essa distribuição para todo o organismo é essencial o funcionamento de algumas estruturas e meios para que esses suprimentos diários cheguem em todo o tecido. O sistema cardiovascular é constituído por uma rede imensa de vasos de diferentes calibres, sendo as mais calibrosas denominadas, artérias e veias, e de menor calibre definidas como arteríolas, vênulas e capilares. Os vasos sanguíneos são responsáveis pelo transporte de sangue, rico em nutrientes essenciais para o organismo, e para que isso ocorra, é necessário que ele seja bombeado, função essa, executada pelo coração (Stephenson, 2020).

O coração é um órgão oco, posicionado anatomicamente no interior da cavidade torácica, definido como mediastino médio, deslocando o ápice para a esquerda. Esse órgão é capaz de impulsionar sangue para os vasos, ou seja, ele é um órgão muscular que apresenta função semelhante a uma bomba, que irá realizar contrações suficientes para ejeção de sangue para os vasos sanguíneos. Anatomicamente o coração dos mamíferos é constituído por quatro principais câmaras cardíacas, sendo, dois átrios e dois ventrículos (Mulai, 2019). Todo sangue que é impulsionado para o organismo retorna ao coração, e esse retorno acaba sendo desembocado nos átrios e consequentemente direcionados aos ventrículos. O átrio direito recebe sangue venoso através das veias cavas caudal e cranial sendo transportado através de contrações ao ventrículo direito (Neto; Ribeiro, 2020).

As contrações são realizadas através de mecanismos fisiológicos denominados de sístole e diástole. A sístole caracteriza-se pela contração muscular das câmaras cardíacas, ou seja, ocorre uma contração, sendo ela atrial e ventricular, entretanto a diástole se resulta no enchimento das câmaras cardíacas, onde ocorre um

relaxamento de toda a musculatura, consequentemente preenchendo todas as câmaras de sangue. Quando ocorre a sístole, o sangue é impulsionado do átrio direito, para o ventrículo direito e consequentemente bombeia sangue para os alvéolos pulmonares através da artéria pulmonar, no pulmão irá ocorrer um fenômeno descrito como hematose (troca gasosa). Após a hematose, o sangue rico em oxigênio (O_2) retorna através das veias pulmonares desembocando no átrio esquerdo, e após novas contrações o sangue parte para o ventrículo esquerdo e impulsionado até a artéria aorta, responsável por transportar sangue e distribuir para os demais vasos sanguíneos que têm como objetivo alcançar todos os tecidos do organismo vivo. Tais eventos são denominados como, pequena e grande circulação, conforme ilustrado na Figura 1 (Neto; Ribeiro, 2020).

Figura 1 - Representação da circulação sistêmica (Grande circulação) e pulmonar (Pequena circulação).



Fonte: Adaptado de Institute for Quality and Efficiency in Health Care.

3.4 ELETROCARDIOGRAMA

O Eletrocardiograma tem como objetivo registrar as variações dos potenciais elétricos que ocorrem durante fases do ciclo cardíaco. Essas variações podem ser detectadas por aparelhos denominados, eletrocardiógrafos, utilizando eletrodos conectados a uma superfície corporal capazes de captarem os impulsos elétricos gerados (Martin, 2015).

Os estudos para o desenvolvimento desse exame tiveram início em 1856 com Rudolph Von Koelliker e Heinrich Muller, que verificaram que as contrações realizadas pelo coração eram iniciadas através de correntes elétricas. Em suas experiências, perceberam que a atividade elétrica ocorria no ventrículo antes da sístole, e outra logo após, ou seja, ocorria uma sístole e uma diástole. Anos após foi identificado que esse fenômeno através da visualização no eletrocardiograma era correspondente ao complexo QRS e onda T. Dezesesseis anos depois, Gabriel Lippmann construiu um aparelho denominado como eletrômetro capilar, esse dispositivo era capaz de detectar alterações nos potenciais elétricos do coração através de uma superfície corpórea (Santilli *et al*, 2020).

O eletrocardiograma foi introduzido na medicina humana em 1902, pelo médico neerlandês Wilen Einthoven ferramenta essa utilizada até os momentos atuais, auxiliando amplamente na clínica médica, sendo técnica não invasiva mais utilizada na clínica cardiológica, por ser considerada de fácil manuseio, acessível, não invasiva e por apresentar baixo custo operacional (Cirenza; Hernandez, 2013).

Com a utilização do eletrocardiograma é possível avaliar diferentes anomalias do sistema cardiovascular quando evidenciadas através do exame, entre elas, bradicardia sinusal, taquicardia sinusal, arritmias supraventriculares, ventriculares ou de condução e alterações eletrolíticas (Bezerra; Secati; Melo, 2021). A eletrocardiografia é essencial para o diagnóstico de arritmias. Estima-se que no Brasil ocorre anualmente cerca de 300 a 400 mil casos de infarto do miocárdio progredindo para óbito a cada 7 casos, 5 entram em óbito. Sendo assim, o exame eletrocardiográfico é padrão ouro para diagnóstico de arritmias cardíacas e isquemia coronariana mais utilizado (Ribeiro; Barros, 2020).

3.5 SISTEMA DE CONDUÇÃO ELÉTRICA DO CORAÇÃO

O sistema de condução do coração consiste em dois principais tecidos que apresentam determinadas características anatômicas e eletrofisiológicas. Como não é possível sua visualização e análise de maneira macroscópica, se faz necessário em conjunto de componentes histológicos detalhados, assim como técnicas moleculares que revelam diferenças necessárias para a propagação de impulsos elétricos entre os miócitos, gerando as contrações cardíacas (Santilli *et al*, 2020).

Os tecidos presentes são classificados como, tecido nodal, contendo células capazes de se despolarizar de forma espontânea e executar funções denominadas como, marca-passo. Os tecidos de condução por sua vez, são constituídos por feixes que se apresentam de maneira separadas do miocárdio funcional, esse classificado como maior parte do coração e com propriedades de contração, esses feixes são separados por um conjunto de bainha revestida por tecido conjuntivo. As células presentes no tecido de condução apresentam rápida propagação de impulsos que se dissipa para todo miocárdio atrial e ventricular, esse sistema de condução apresentam três principais divisões, sendo denominados como, nó sinusal, junção atrioventricular e sistema de condução intraventricular (Park; Fishman, 2017).

3.5.1 Nó Sinusal

O nó sinusal, amplamente descrito como nodo sinoatrial (SA), é descrito como um aglomerado de células cardíacas denominadas como, miócitos, que apresentam como objetivo primordial, o recebimento de impulsos elétricos e atuando como marca-passo, ditando ritmo adequado dos impulsos elétricos provenientes do sistema nervoso. A atividade elétrica gerada pelo nó sinusal pode ser detectada por métodos como o eletrocardiograma e holter, permitindo análise dos impulsos elétricos do coração. Quando esse impulso chega ao nó sinusal, ele gera um impulso elétrico denominado como onda P através do eletrocardiograma, essa onda é responsável pela despolarização dos átrios, esquerdo e direito (Kashou; Basit; Chhabra, 2022).

Seu posicionamento anatômico pode ser descrito como presente na junção da crista terminal, posicionado no átrio direito em sua parede superior (Cloudhury; Boyett; Morris, 2015). O principal objetivo dessas células é atuar no ritmo cardíaco, tendo um potencial elétrico responsável por propagar para outras regiões do coração, estímulo elétrico, responsável por promover contração cardíaca. Seu principal mecanismo de

ação está relacionado com fatores ambientais e fisiológicos. Quando as células do nodo sinusal estão em repouso, se despolarizam gerando o que é denominado, ritmo cardíaco. O ritmo cardíaco apresenta diferenças que variam entre espécies (Wallace *et al*, 2021).

O sistema nervoso autônomo é responsável pelo controle da entrada dos impulsos elétricos nesse nodo. A partir disso as fibras autônomas têm como objetivo regular e controlar os impulsos de disparo recebidos pelo nodo sinusal, gerando e dando início aos ciclos de contração cardiovascular. Como existe múltiplos miócitos, o estímulo elétrico pode não apresentar o mesmo ritmo, fenômeno conhecido como alteração de marcapasso. Isso ocorre devido a produção de um estímulo elétrico mais rápido do que o miócito anterior produzido, gerando um aumento na frequência cardíaca ou também descrito como taquicardia. Entretanto da mesma forma que esse estímulo pode ser rápido, ele também pode ser produzido de uma forma mais lenta, diminuindo a frequência cardíaca, denominado como bradicardia. O controle desses estímulos mais rápidos ou lentos, e feito pelo sistema nervoso autônomo e irá depender da ativação do sistema nervoso autônomo simpático ou parassimpático (Kashou; Basit; Chhabra, 2022).

3.5.2 Nó Atrioventricular

O nó atrioventricular, ou também descrito como nodo atrioventricular, é uma estrutura presente no coração com objetivo de retardar a transmissão do estímulo elétrico proveniente dos átrios através do nó sinusal. Está posicionado anatomicamente na região denominada como triângulo de Koch, adjacente ao seio coronariano no septo interatrial (Heaton; Goyal, 2023).

Sua principal função está relacionada com o retardo do estímulo elétrico entre átrios e ventrículos, possibilitando o enchimento de maior quantidade de sangue em ambos os ventrículos e posteriormente recebendo estímulo elétrico para que ocorra sua contração. Com sua atividade as câmaras cardíacas conseguem trabalhar de maneira mais efetiva, recebendo sangue e ejetando sangue para o organismo (George *et al.*, 2023).

3.5.3 Condução Atrioventricular

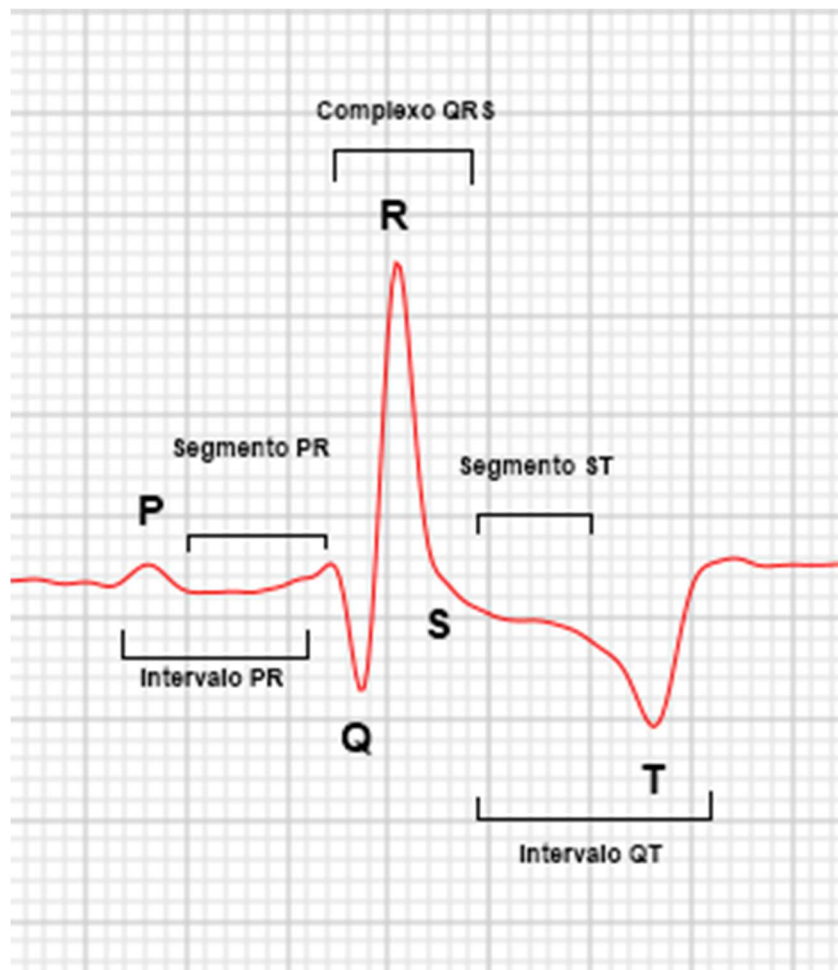
O estímulo elétrico se inicia no nó sinusal, progredindo para o nó atrioventricular e para que ocorra a contração de átrios e ventrículos a condução progride em duas principais direções, sendo, anterógrada, ocorrendo condução atrioventricular e condução ventriculoatrial. Essa condução ocorre de maneira semelhante em diversas espécies mamíferas, através de vias com potencial elétrico mais rápido e outra mais lenta. A via lenta se inicia no átrio direito em uma região denominada, posteroinferior, localizado no óstio do seio coronariano. A via rápida está presente no átrio direito, em contrapartida, localizada em região anterossuperior (Patil *et al.*, 2017).

O impulso necessita de uma propagação, ocorrendo atrás do eixo de condução atrioventricular, esse evento tem duração de 0,11s (110ms), ele ocorre através de um potencial elétrico que se desloca através de um impulso através do segmento atrionodal, essa propagação tem duração de 0,03s (30ms), posteriormente esse impulso é captado através do nó compacto, finalizando em 0,02s (20ms) no segmento nó hisiano. O potencial de ação gerado para que ocorra o impulso elétrico ocorre de maneira mais rápida e posteriormente reduzindo seu tempo. Distúrbios do sistema de condução atrioventricular podem ocorrer quando esses potenciais se apresentam alterados, e a duração se modifica, sendo presentes distúrbios de condução como, bloqueios atrioventriculares (Hossri, 2020).

3.6 INTERPRETAÇÃO DAS ONDAS ELETROCARDIOGRÁFICAS

O eletrocardiograma é composto em seu resultado por diversas ondas elétricas provenientes do sistema de condução elétrica do sistema cardiovascular. As ondas visualizadas em papel milimetrado representam ações específicas do coração, gerando impulsos necessários para o desempenho e sua função total para que o sangue seja bombeado e encaminhado para seus respectivos destinos. São compostas principalmente por cinco principais ondas, sendo elas: P, QRS, T, assim como a presença de intervalo PR e intervalo R-R (figura 2), e em casos distintos a presença de uma onda denominada como, onda U (Moreira, 2018).

Figura 2 - Diagrama esquemático do ritmo sinusal normal para um coração visto no ECG.



Fonte: O autor.

3.6.1 Onda P

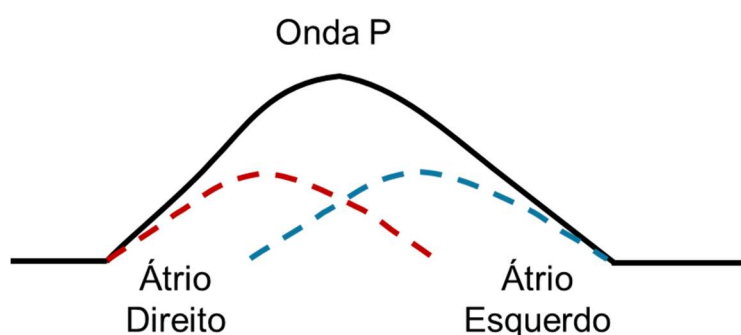
A onda P é essencial no mecanismo e funcionamento do sistema de condução elétrica do coração. O primeiro impulso elétrico se inicia no nó sinusal localizado no teto do átrio direito. A contração proveniente do nó sinusal, faz com que ocorra a despolarização elétrica de ambos os átrios do coração, ou seja, o átrio direito é a primeira câmara cardíaca a ser contraída, seguindo imediatamente da despolarização do átrio esquerdo (Douedi; Douedi, 2023).

A distância existente entre a onda P e complexo QRS é denominada como segmento PR, que se define como uma pausa controlada para que ocorra despolarização atrial completa e posteriormente de maneira contínua e rítmica, ocorre a despolarização ventricular visualizada através do complexo QRS no

eletrocardiograma. Essa pausa ocorre para que não exista ejeção de sangue de átrios e ventrículos de maneira imediata (Martinez; Dias, 2020).

A onda P é visualmente presente no traçado eletrocardiográfico, sua morfologia é avaliada através de sua duração e amplitude, onde as contrações de átrio e ventrículos são visualizadas e avaliadas, inicialmente a amplitude da onda P representando a despolarização do átrio direito e sua duração referente a despolarização do átrio esquerdo, seguindo de um intervalo PR com objetivo de retardar o estímulo elétrico de maneira rápida para os ventrículos (Figura 3).

Figura 3 - Morfologia eletrocardiográfica da onda P, sendo possível visualizar a despolarização de átrio direito (amplitude) e despolarização e átrio esquerdo (duração).



Fonte: O autor.

3.6.2 Intervalo PR

O intervalo PR é uma medida utilizada na eletrocardiografia para avaliar o tempo decorrido entre o início da despolarização atrial e o início da despolarização ventricular. Ele consiste em duas etapas principais, a onda P, que representa a despolarização atrial, e o segmento PR, que é o período entre o final da onda P e o início do complexo QRS, indicando o tempo necessário para a propagação do impulso elétrico dos átrios para os ventrículos (Chun *et al.*, 2016).

O intervalo PR é significativo na detecção de distúrbios de condução elétrica do coração. Um intervalo PR prolongado pode sugerir bloqueio atrioventricular, enquanto um intervalo PR encurtado pode estar associado à síndrome de Wolff-Parkinson-White ou outras condições de condução elétrica do coração (Silva; Maciel, 2021; Sattar, Chhabra, 2023).

3.6.3 Complexo QRS

O complexo QRS é composto por três ondas, onda Q, R, S. Seu principal objetivo é promover a despolarização ventricular, ou seja, através do impulso elétrico, ele é capaz de promover contração muscular dos ventrículos e ejetar sangue para os vasos sanguíneos (Mulai, 2019). A repolarização atrial, apesar de não visível no traçado eletrocardiográfico, se posiciona unificado ao complexo QRS (Moraes, 2023).

A primeira fase de contração e liberação de estímulo elétrico para contração ventricular se inicia com a onda Q. A onda Q apresenta pequena voltagem entre membros torácico esquerdo e direito gerando uma onda Q de baixa voltagem e negativa. Para que ocorra a contração ventricular, estímulos elétricos estão presentes nessa etapa, quando ocorre a despolarização ventricular existe um aumento grande e positiva de voltagem (onda R) no membro torácico esquerdo se comparado ao membro pélvico direito. Esse evento ocorre devido aos ramos de feixes direito e esquerdo, conduzindo potencial de ação até a região do ápice cardíaco. Quando esse estímulo se propaga até a região de ápice, as fibras de Purkinje transportam o estímulo elétrico de maneira rápida através das paredes de ambos os ventrículos. Esse estímulo elétrico é muito forte, gerando força de contração necessária para ejetar sangue do ventrículo direito e do ventrículo esquerdo. Por sua vez, a onda S apresenta menor estímulo elétrico, retornando a zero e se tornando levemente negativa por poucos segundos. Esse fator está pouco elucidado, mas pode estar relacionado com a diminuição de voltagem no membro torácico esquerdo, se comparado ao membro torácico direito. A uniformidade no platô está relacionada com as células ao longo dos ventrículos, não existindo dipolo (Stephenson, 2020).

3.6.4 Intervalo RR

O intervalo RR é definido como o intervalo de tempo entre dois complexos R consecutivos em um traçado eletrocardiográfico. Essencialmente, ele representa o período entre duas batidas cardíacas sucessivas. Este parâmetro é de importância fundamental na avaliação da frequência cardíaca e na análise da variabilidade da frequência cardíaca (VFC), que é uma medida quantitativa da variação temporal entre os intervalos RR. A análise do intervalo RR proporciona resultados importantes sobre a função cardíaca e o equilíbrio autonômico do sistema nervoso. Uma variabilidade saudável do intervalo RR geralmente reflete um sistema nervoso autônomo

equilibrado e uma boa saúde cardiovascular. Por outro lado, uma diminuição na variabilidade do intervalo RR está associada a uma série de condições patológicas, incluindo distúrbios cardiovasculares, estresse crônico e outras doenças de natureza fisiológica (Kleiger, Stein, Jr, 2005; Shaffer; Ginsberg, 2017).

4 MATERIAIS E MÉTODOS

A pesquisa utilizou 43 camundongos C57BL/6, providos do biotério de roedores da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), denominado Núcleo Avançado de Estudos da Vida, que foram submetidos ao procedimento de eletrocardiografia pré-melanoma e após inoculação das células da linhagem B16F10. As células tumorais foram cultivadas no laboratório de Biologia Celular e Protozoologia, do departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), localizada na cidade de Ponta Grossa – PR.

Os animais foram divididos em dois grupos, sendo realizado no Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI – UEPG) da Universidade Estadual de Ponta Grossa, sendo divididos em dois grupos, grupo camundongos com melanoma e grupo controle. No grupo camundongos com melanoma foram implantadas células tumorais B16F10, sendo posteriormente avaliados em diferentes dias com objetivo de verificar a progressão da doença, avaliando o peso com utilização de uma balança digital centesimal (BEL Engineering®, Itália) e a correlação do melanoma com o sistema de condução elétrica do coração através de um eletrocardiógrafo veterinário (InPulse®, Brasil). As avaliações ocorreram no dia zero, onde nenhum camundongo possuía melanoma, 23 animais foram selecionados para participarem do grupo melanoma e 20 animais para grupo controle. Posteriores avaliações ocorreram em intervalos de 7 dias, onde o grupo melanoma e o grupo controle foram avaliados, sete dias após inoculação, quatorze dias após inoculação e vinte e um dias após inoculação, comparando dados coletados de grupo melanoma com grupo controle.

4.1 CULTURA CELULAR DA LINHAGEM B16F10

Foi utilizada a linhagem do melanoma murino B16F10, BCRJ® cod. 0046, por meio de amostras adquiridas pelo Banco de células do Rio de Janeiro (BCRJ), Brasil (BR). As células tumorais de melanoma murino B16F10, foram cultivadas no Laboratório de Biologia Celular e Protozoologia do Departamento de Ciências Biológicas da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG).

Para realização do experimento, foi seguido protocolo envolvendo a amostra B16F10 da linhagem do melanoma murino, sendo realizadas em condições assépticas, utilizando a capela de fluxo laminar com lâmpada ultravioleta e utilização de materiais estéreis com objetivo de minimizar os riscos de contaminação cruzada,

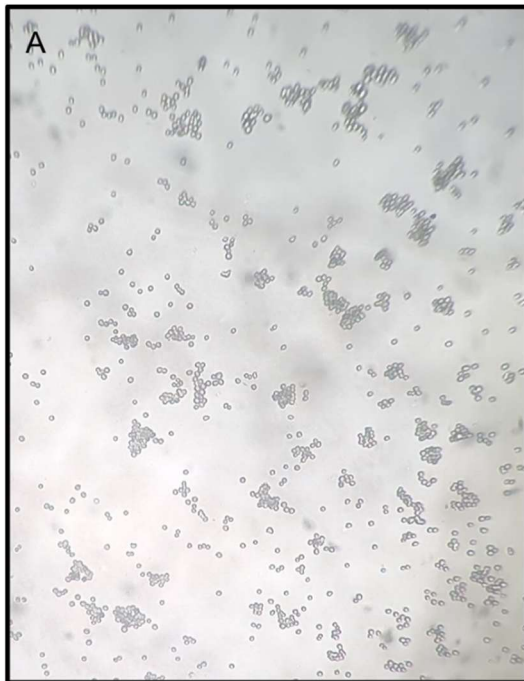
obtendo de maneira controlada a linhagem a ser pesquisada. As células foram cultivadas em meio RPMI - 1640 adquirido pela Vitrocell®, Campinas - SP, acrescido de 10% de Soro Fetal Bovino (SFB) adquirido pela NovaBiotecnologia®, Cotia – SP. As células de melanoma B16F10 foram armazenadas e congeladas em freezer em temperatura de - 80° C, em alíquotas dentro de frascos criogênicos de 2 mL. Para utilização das células de melanoma B16F10 foi necessário descongelá-las utilizando banho-maria a 37° C. Com o frasco de células de melanoma B16F10 descongeladas, foi borrifado álcool etílico 70% na superfície externa do frasco e transferido para um tubo falcon de 50 mL para posterior centrifugação, acrescido de 10 mL de meio completo (RPMI – 1640 e Soro Fetal Bovino). A centrifugação foi realizada durante um minuto a 1.000 rotações por minuto (rpm). Posterior a centrifugação, foi desprezado o sobrenadante com auxílio de uma pipeta automática (KASVI®, BR).

As células de melanoma B16F10 foram, então, desprendidas suavemente e transferidas para uma garrafa para cultivo celular. O conteúdo foi homogeneizado e observado posteriormente em microscópio invertido (Carl Zeiss®) para avaliação da qualidade das células (Figura 4).

O conteúdo foi avaliado em microscópio invertido diariamente e seu meio de cultura substituído a cada 3 dias e avaliado posteriormente. As garrafas eram armazenadas em estufa (Heal Force®) em temperatura padrão de 37° C, com atmosfera de 5% de dióxido de carbono (CO₂) (Figura 5).

As células foram mantidas e expandidas de maneira contínua para realização posterior do experimento *in vivo* em camundongos C57BL/6.

Figura 4 – A) Células B16F10 desprendidas. B) Células B16F10 em expansão.



Fonte: O autor

Figura 5 - Condições de armazenamento em estufa, das células de B16F10.



Fonte: O autor.

4.2 EXPERIMENTAÇÃO IN VIVO

4.2.1 Camundongos C57BL/6

A linhagem de camundongos C57BL/6 é amplamente utilizada em estudos científicos devido à sua genética bem mapeada, homogeneidade reprodutiva, vasta documentação sobre seus aspectos fisiológicos e comportamentais, além de sua fácil disponibilidade comercial. Esses camundongos apresentam alta compatibilidade com diversos modelos de doenças humanas, sendo uma escolha frequente para investigações pré-clínicas. A confiabilidade dessa linhagem facilita a indução de patologias variadas, permitindo a avaliação de intervenções terapêuticas e estratégias de tratamento em condições que se assemelham às encontradas em humanos, o que contribui significativamente para o desenvolvimento de novas abordagens clínicas (Almeida *et al.*, 2024).

A linhagem C57BL/6 são utilizados para a inoculação de células B16F10, uma linhagem celular de melanoma murino, devido a diversas características que os tornam ideais para pesquisas sobre câncer. A compatibilidade genética entre a linhagem e as células tumorais minimiza o risco de rejeição, permitindo a progressão natural do melanoma. Além disso, a consistência no crescimento tumoral das células B16F10 em camundongos C57BL/6 proporciona resultados reprodutíveis e comparáveis tornando a linhagem essencial para estudos envolvendo células B16F10 (Fu *et al.*, 2016).

4.2.2 Modelo e Manutenção dos Animais

No estudo, foram utilizados camundongos C57BL/6 adultos, obtidos no Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI – UEPG). As técnicas empregadas seguiram as normas de conduta com pesquisa animal e foram realizados após a autorização do comitê de ética de experimentação animal da UEPG. O manuseio dos camundongos e a inoculação do melanoma, foi realizado no Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI – UEPG). Todos os animais participantes da pesquisa receberam ração e água *ad libitum*, sendo mantidos durante período experimental em sala climatizada com temperatura ambiente ($23\pm 2^{\circ}\text{C}$), com iluminação artificial em período de 12/12 horas. Cada camundongo foi acomodado em caixas de polipropileno (30cm x 20cm x 13cm), todas as caixas são gradeadas e foi definido número máximo de 4 animais por

caixa, com objetos que proporcionam enriquecimento ambiental para redução do estresse (Figura 6).

Figura 6 - Camundongos C57BL/6 armazenados em caixas com livre acesso a alimentos e água.



Fonte: O Autor.

4.2.3 Inoculação das Células Tumorais

A implantação das células tumorais da linhagem B16F10 foi realizada no Laboratório de Técnicas Operatórias, no Setor de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Estadual de Ponta Grossa. Os animais foram submetidos a administração via subcutânea (SC) de células da linhagem B16F10, na região dorsal direita, utilizando-se seringa de 1 mL e agulha hipodérmica (13 x 0,3 mm). Foi inoculado em cada camundongo o volume de 0,1 mL (5×10^4) de células tumorais, sendo acompanhados diariamente e consequentemente submetidos a avaliação eletrocardiográfica em períodos pré-determinados, sendo: Grupo A (camundongo sem melanoma), grupo B (Camundongo com melanoma sete dias após administração de células tumorais), grupo C (com melanoma quatorze dias após administração de células tumorais) e grupo D (com melanoma vinte e um dias após administração de células tumorais).

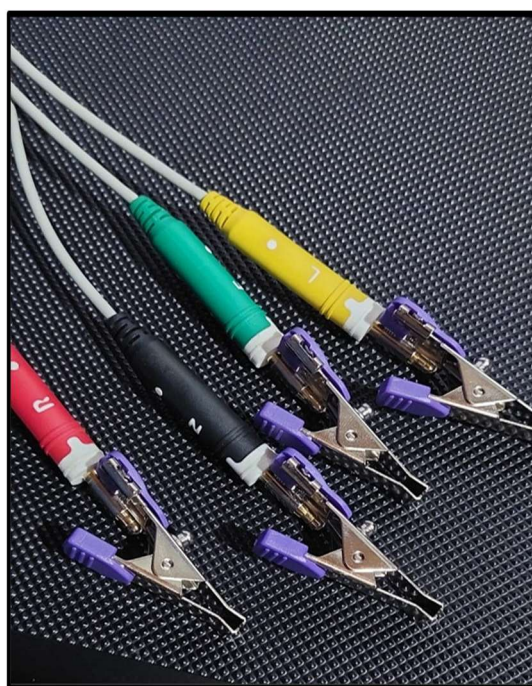
As células tumorais B16F10 apresentam características importantes para pesquisa, possuindo fácil cultivo *in vitro*, fácil inoculação tumoral em camundongos, sendo possível observar tumor palpável 10 dias após inoculação (FAVERO, 2019).

4.3 MÉTODOS ELETROCARDIOGRÁFICOS

Os animais foram sedados com Midazolam com concentração de 1 mg/mL e na dose de 5 mg/kg (Farias *et al.*, 2023), com objetivo de diminuir o estresse dos camundongos durante a aquisição do exame eletrocardiográfico. O midazolam é um fármaco amplamente utilizado em modelos *in vivo* para estudos do sistema cardiovascular por não causar alterações elétricas (Tomsits *et al.*, 2023).

Em ambos os grupos foram efetuados registros eletrocardiográficos em derivação DII, com emprego de eletrocardiógrafo digital veterinário InCardio de 12 derivações da In Pulse® (Figura 7), calibrado para a velocidade do traçado de 50 mm/s e sensibilidade de 10mm/mV (N). O registro eletrocardiográfico foi realizado no Núcleo Avançado de Estudos da Vida (NAEVI) da Universidade Estadual de Ponta Grossa, em sala silenciosa e temperatura de (23±2°C) para redução de estresse e conforto dos animais.

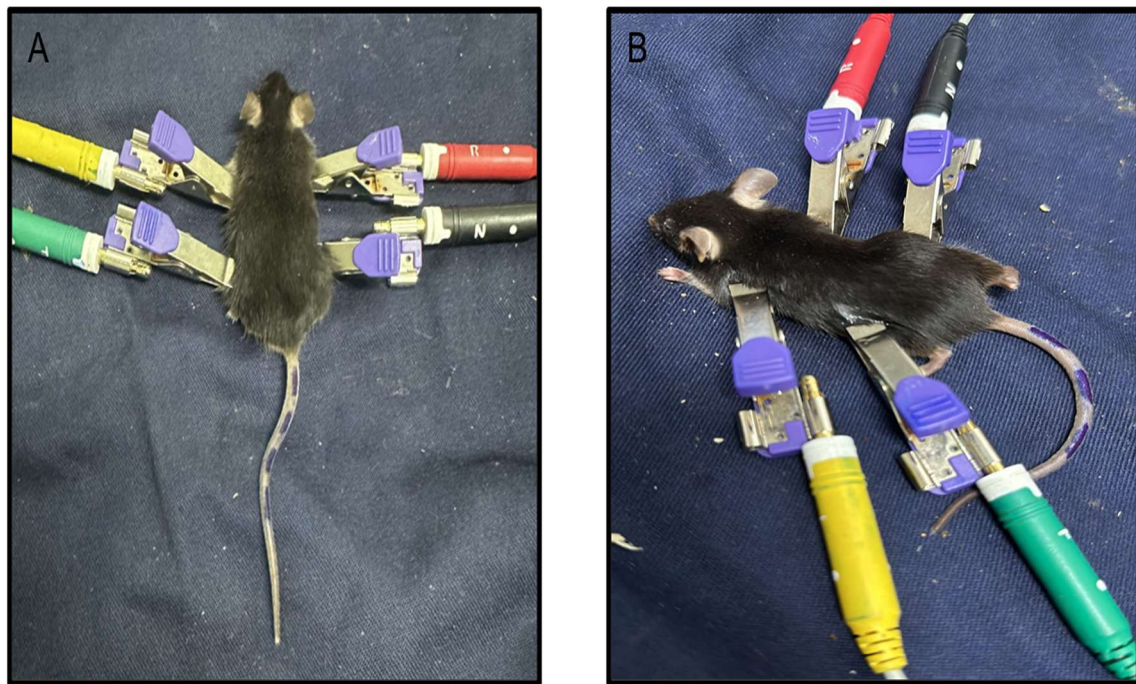
Figura 7 – A) Eletrocardiógrafo computadorizado Veterinário. B) Eletrodos tipo jacaré.



Fonte: O autor.

A coleta de dados eletrocardiográficos foi realizada com os animais posicionados em decúbito ventral com a utilização de eletrodos tipo jacaré posicionados próximos às articulações úmero-radial acima do olecrano, sendo eletrodo L (amarelo) no membro torácico esquerdo e, eletrodo R (vermelho) no membro torácico direito, e às articulações femorotibiais sendo eletrodo F (verde) em membro pélvico esquerdo, e eletrodo N (preto) em membro pélvico direito, para captação simultânea de seis derivações (DI, DII, DIII, aVL, aVr e aVF) (Kim, Lim, Oh, 2015; Botelho *et al.*, 2019; Fitzsimons *et al.*, 2020), conforme ilustrado na Figura 8.

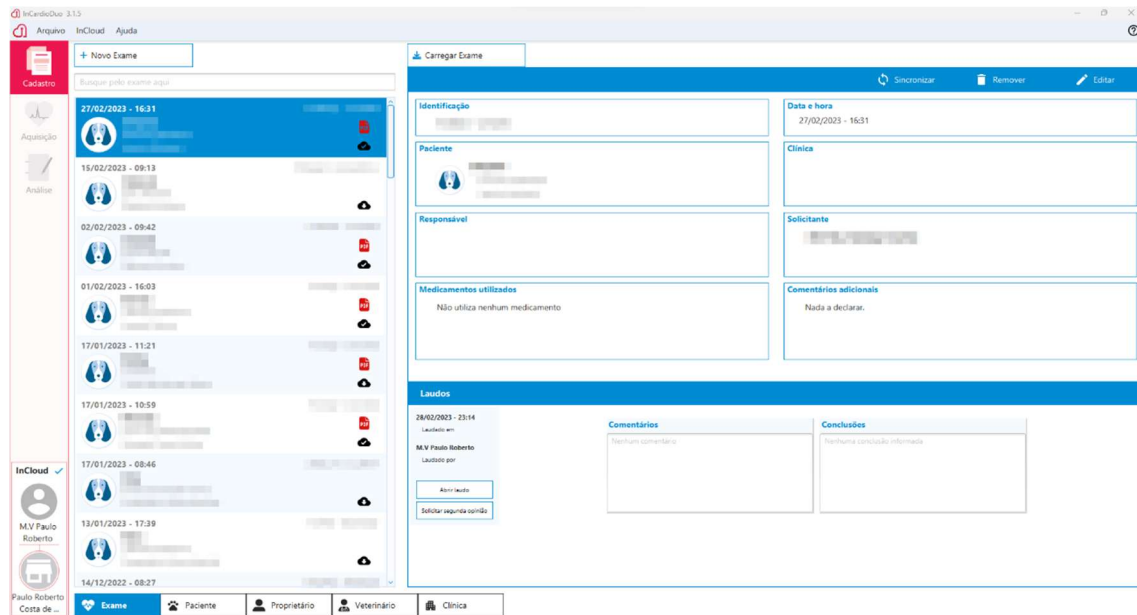
Figura 8 - Posicionamento de eletrodos não-invasivos em camundongo C57BL/6.



Fonte: O autor.

O exame eletrocardiográfico foi realizado por um período de três minutos consecutivos em cada animal, com os camundongos posicionados em decúbito ventral. Os animais foram identificados e cadastrados em uma base de dados do software do equipamento eletrocardiográfico como demonstrando na Figura 9. Contendo identificação do camundongo, espécie, data e horário da execução do traçado eletrocardiográfico.

Figura 9 - Software de Eletrocardiograma (InCardioDuo v. 3.1.5).



Fonte: O autor.

Após a aquisição do registro eletrocardiográfico foi utilizado o software da Inpulse, denominado InCardioDuo (versão 3.1.5). O ritmo cardíaco e demais alterações que possam ser significativas em pacientes portadores de melanoma foram avaliadas através do mini holter (Figura 10).

Figura 10 - Exemplo de aquisição utilizando mini holter.



Fonte: O autor.

4.4 EUTANÁSIA

Os camundongos foram eutanasiados posteriormente ao exame eletrocardiográfico no vigésimo dia no laboratório de técnicas operatórias do setor de saúde da Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG). Para isso, foi realizada utilização de fármacos anestésicos para promover hipnose e analgesia, cessando qualquer estímulo de estresse ou dor.

Foi utilizado o cloridrato de cetamina na dose de 300 mg/kg (concentração de 100 mg/mL), fármaco pertencente ao grupo dos fármacos dissociativos, com ação no sistema nervoso central (SNC) através do antagonismo no receptor N-metil-D-aspartato (NMDA), promovendo sedação, alívio da dor e perda da memória. A utilização do cloridrato de xilazina na dose de 30 mg/kg, concentração de 20 mg/mL, foi realizada com objetivo de proporcionar, relaxamento muscular, potencializar ação analgésica e promover intensa sedação, sendo a xilazina pertencente a classe dos fármacos alfa 2 agonistas (Favoretto; Seabra; Olivato, 2019). Todo o procedimento seguiu as normas de bem-estar animal previstos pelo CONCEA, proporcionando diminuição do estresse, sedação, e alívio da dor, para posteriormente realizar técnicas de eutanásia.

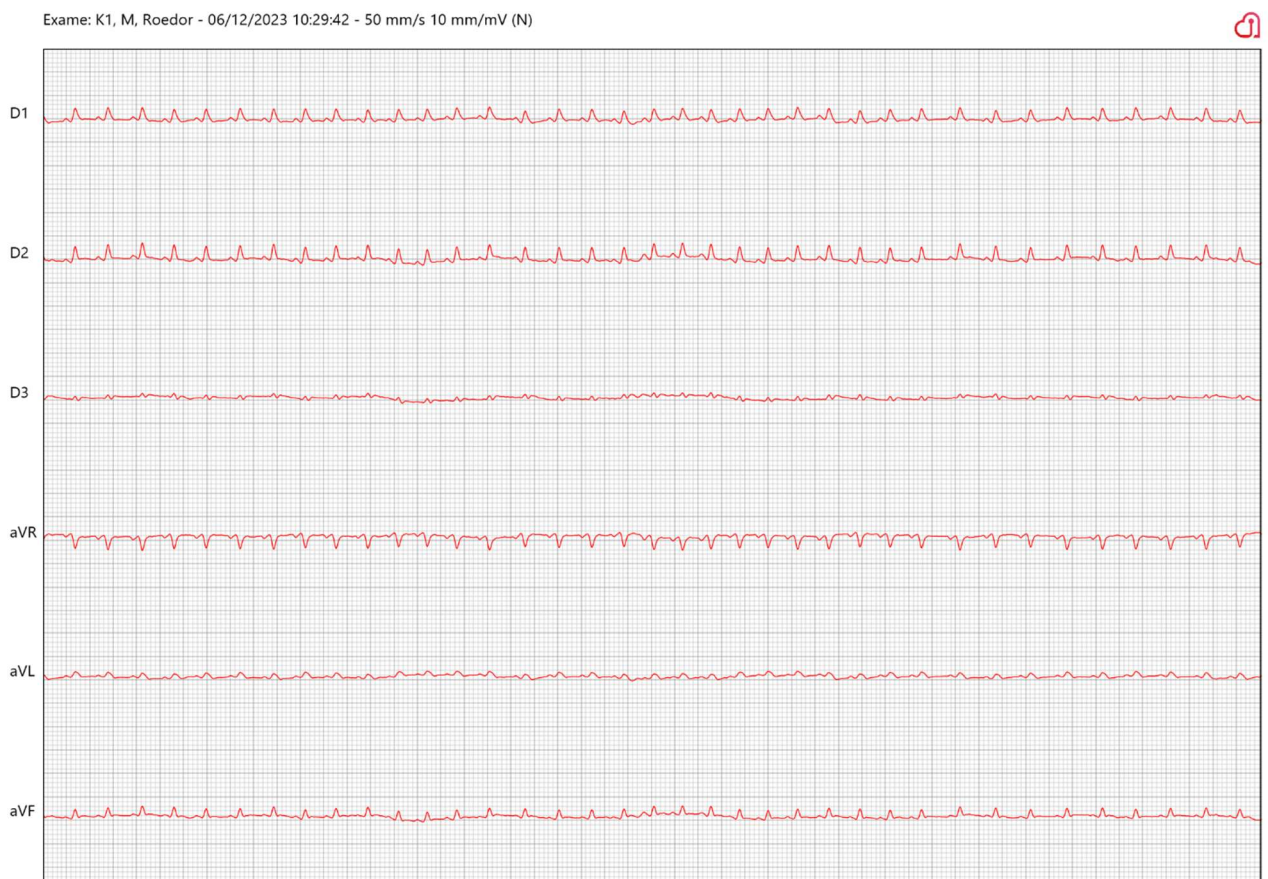
4.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o software Gpower (versão 3.1.9.7) para determinar o número sugerido de animais, correspondendo uma experimentação com quatro períodos de avaliação. A Análise de Variância (ANOVA), teste t de student e os gráficos, foram feitos no software GraphPad Prism (versão 8.0.1), sendo analisados quanto a diferença estatisticamente significativa os intervalos de confiança de 95,0% ($p < 0,05$), 99,0% ($p < 0,01$) e 99,9% ($p < 0,001$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A avaliação eletrocardiográfica (ECG) é amplamente reconhecida como uma ferramenta indispensável para o monitoramento da função elétrica do coração, sendo crucial tanto em estudos clínicos quanto em experimentação animal. No presente estudo, foi realizada a análise eletrocardiográfica nas derivações DI, DII, DIII, aVR, aVL e aVF, proporcionando uma caracterização detalhada da atividade elétrica cardíaca em camundongos dos grupos controle e melanoma. Os resultados revelaram uma linha de base eletrocardiográfica estável, sem a presença de artefatos, o que reforça a confiabilidade dos dados obtidos através da metodologia de eletrocardiografia não-invasiva. Além disso, observou-se que todos os camundongos apresentaram ritmo cardíaco de origem sinusal, sem evidências de bloqueios atrioventriculares ou outras anomalias de condução (Figura 11).

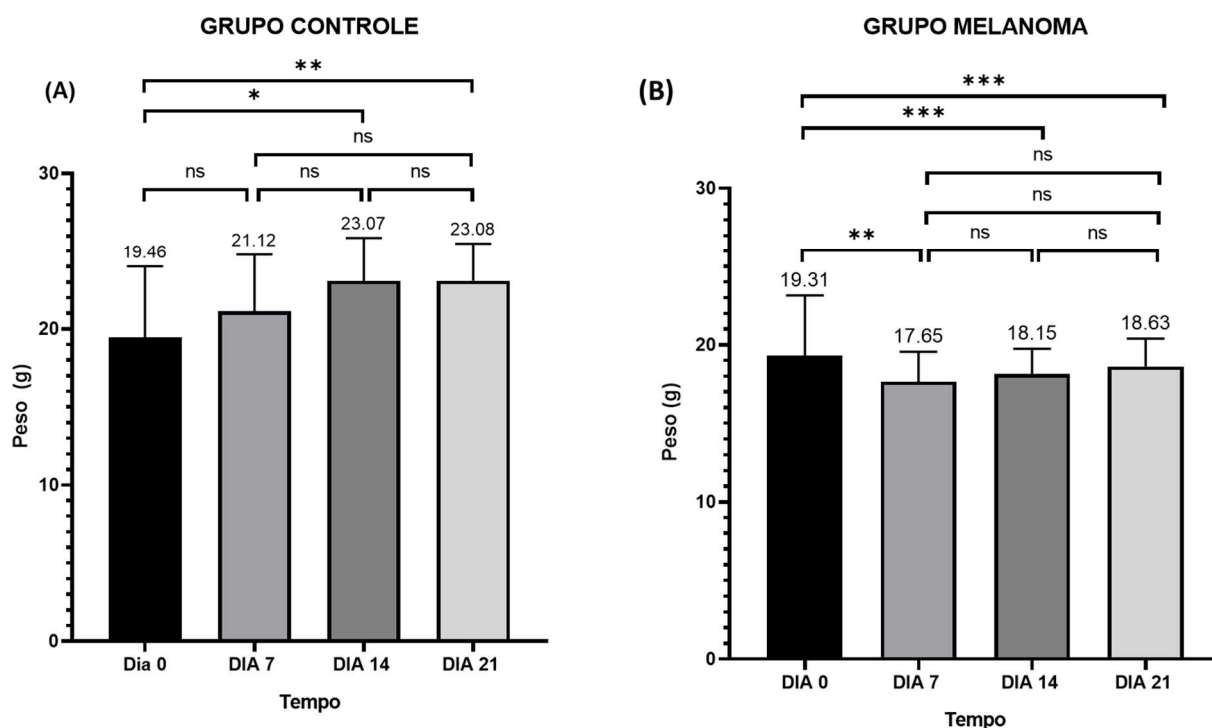
Figura 11 - Traçado eletrocardiográfico de camundongo C57BL/6.



Fonte: O Autor.

5.1 PESO

Inicialmente foram pesados todos os animais sem inoculação das células de melanoma B16F10 e posteriormente acompanhados semanalmente nos intervalos de 7, 14 e 21 dias. Essa avaliação foi realizada com objetivo de identificar se a caquexia está presente em determinados grupos com B16F10 e está especificada na figura 12. Figura 12 - Gráficos representativos dos valores do peso dos camundongos do grupo controle (A) e com melanoma (B).

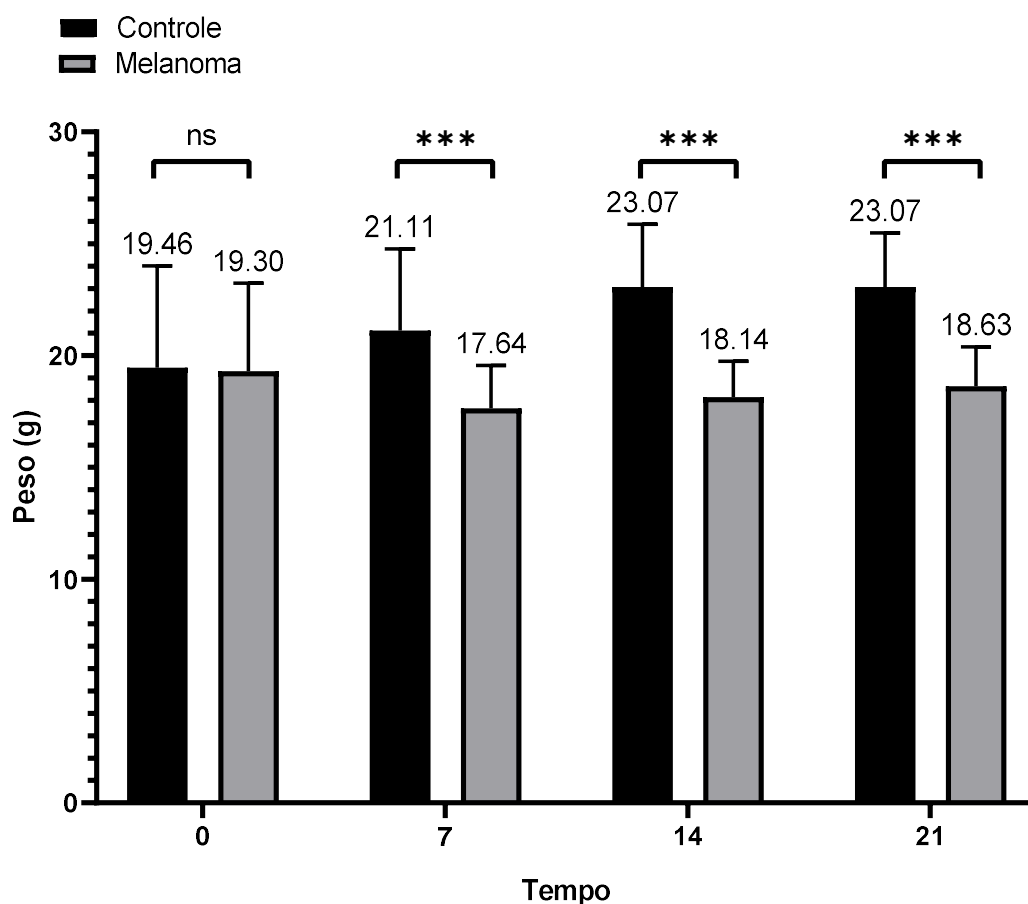


Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e "ns" para não significativo.

No grupo controle observamos o peso dos camundongos, com valor médio de $21,68 \pm 3,71$ g, apresentando diferença estatisticamente significativas entre o mesmo grupo de camundongos do grupo controle ($p > 0,05$). O grupo melanoma apresentou média de $18,43 \pm 2,48$ g, não apresentando diferenças significativas entre os mesmos indivíduos com B16F10 ($p > 0,05$).

Em relação ao peso, foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupo controle e grupo melanoma em relação aos períodos analisados de acordo com a análise de variância (ANOVA) realizada com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) (Figura 13).

Figura 13 - Gráfico demonstrativo de valores de peso de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

A atrofia muscular é reconhecida como um fenômeno significativo na síndrome da caquexia associada ao câncer, caracterizada por uma perda progressiva de massa muscular esquelética que contribui substancialmente para a debilitação funcional dos pacientes. Embora os melanomas em estágios iniciais frequentemente não estejam associados à perda de peso significativa, a disseminação metastática ou o crescimento tumoral sólido em melanoma podem desencadear um estado de caquexia (VOLTARELLI *et al.*, 2017).

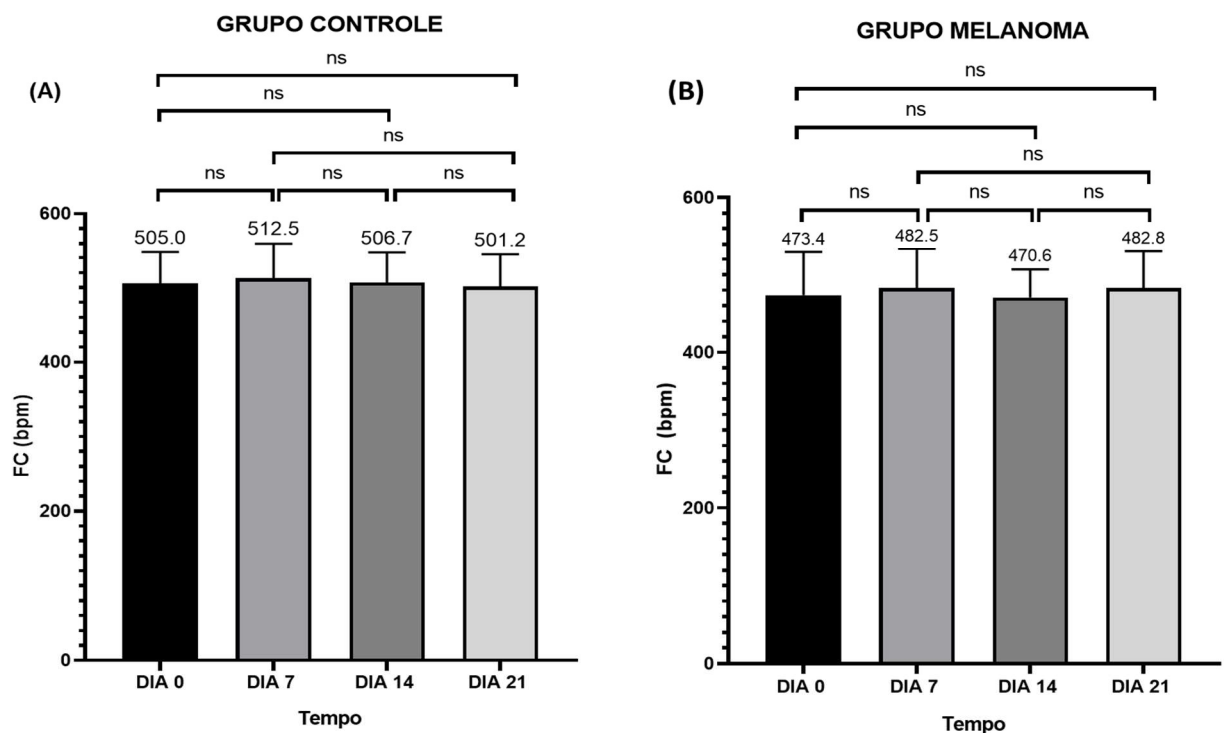
No presente estudo houve diferença estatisticamente relevante a partir do sétimo dia de inoculação do B16F10, demonstrando que em estágios iniciais do melanoma é possível visualizar uma perda de peso, entretanto ao chegar ao 21º dia, os animais não chegaram em estado de caquexia, estabilizando seu peso. Esse

emagrecimento precoce pode estar relacionado com a resposta pro-inflamatória e consequente liberação de interleucinas infamatórias de forma elevada, fazendo com que os momentos iniciais da doença progredissem com a diminuição do peso dos animais. Ou seja, essas citocinas podem desencadear uma cascata de eventos inflamatórios sistêmicos que contribuem para a degradação muscular, supressão do apetite e desregulação do metabolismo energético, resultando em perda de peso (Malla *et al.*, 2022).

5.2 FREQUÊNCIA CARDÍACA

Os resultados obtidos das mensurações da frequência cardíaca (FC) dos camundongos saudáveis e portadores do melanoma estão especificados na figura 14. Os camundongos foram avaliados em quatro períodos diferentes, com tempo de duração de 3 minutos, sendo no primeiro dia (dia 0), sete dias após a primeira aquisição (dia 7), posteriormente quatorze dias (dia 14) e finalizando no vigésimo primeiro dia (dia 21).

Figura 14 - Gráficos representativos dos valores de Frequência Cardíaca (FC) em camundongos do grupo controle (A) e com melanoma (B).

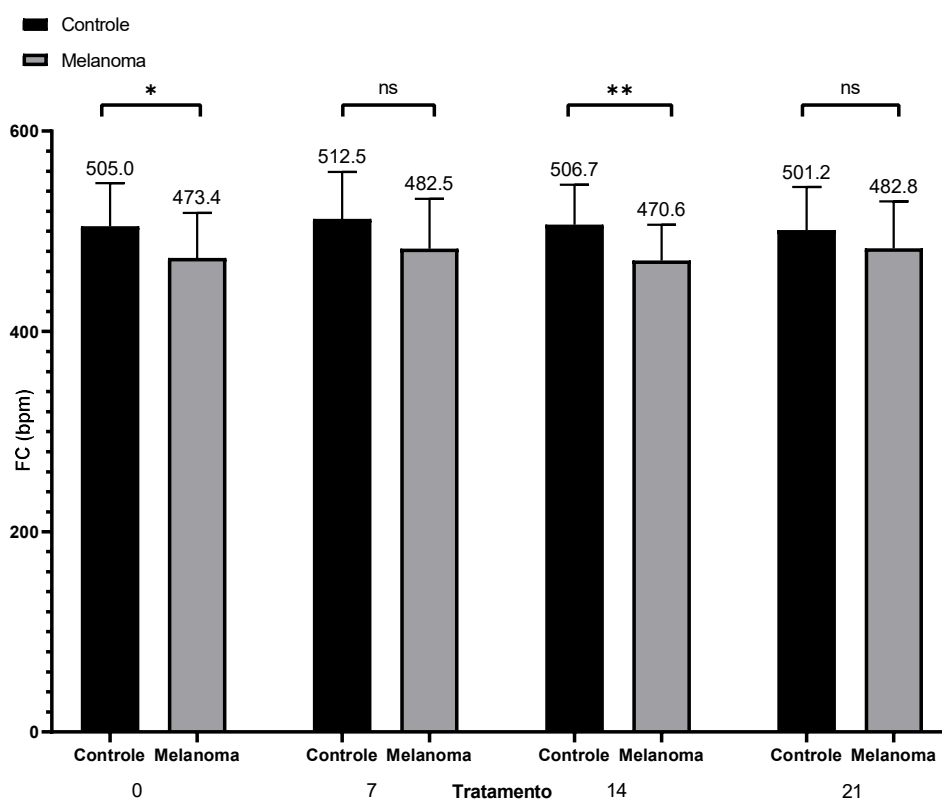


Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e "ns" para não significativo.

No grupo controle observamos a FC com valores superiores se comparado ao grupo melanoma, com valores médios de $506 \pm 4,57$ batimentos por minuto (bpm) e $479 \pm 6,95$ bpm, respectivamente. Observamos que os camundongos do grupo melanoma apresentaram frequência cardíaca distintas, entretanto próximas nos quatro períodos, não apresentando diferenças significativas ($p > 0,05$), estando dentro dos valores fisiológicos de referência para frequência cardíaca em camundongos.

Dentro de cada tratamento não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de 0, 7, 14 e 21 dias nos valores de FC e de acordo com a análise de variância houve diferença entre os valores do grupo controle quando comparado com grupo melanoma, ao nível de $p < 0,05$ de significância (Figura 15).

Figura 15 - Gráfico demonstrativo de valores de frequência cardíaca de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

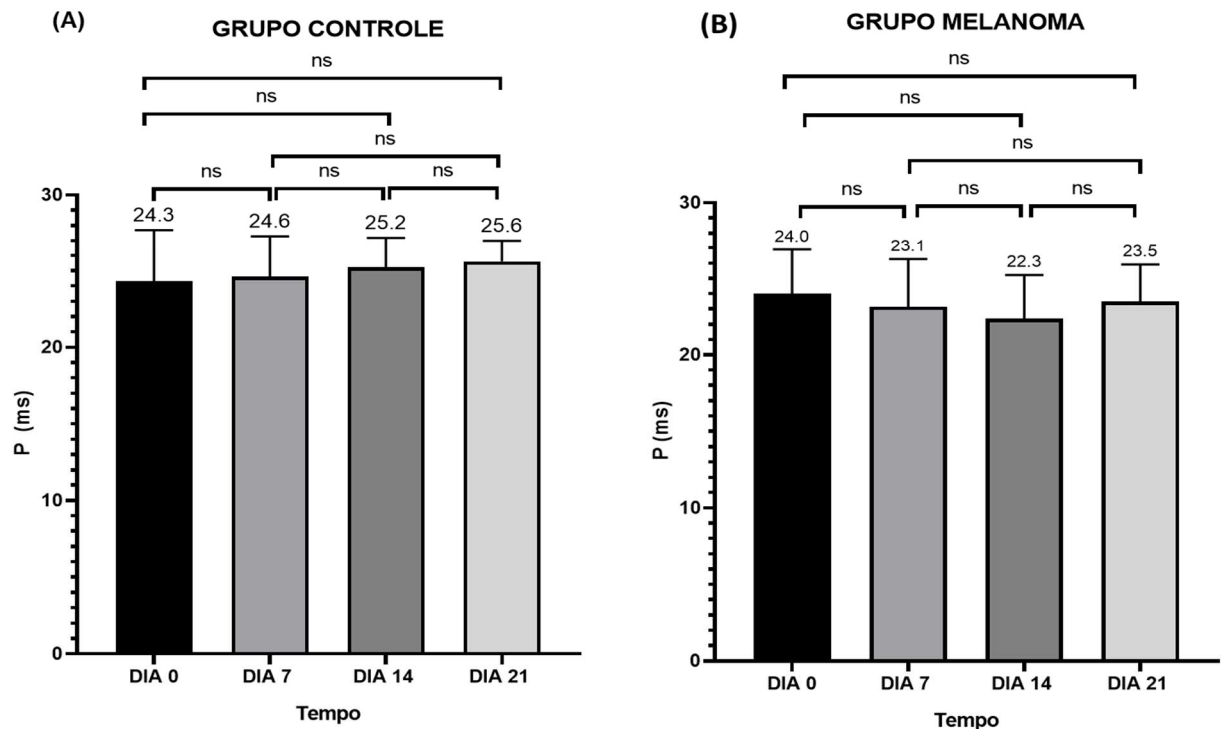
A presença de diferença estatisticamente significativa entre o grupo controle e o grupo melanoma sugere que os animais portadores de B16F10 apresentam alterações que comprometam a frequência cardíaca, demonstrando que a diferença

ocorre desde o dia zero e se mantem constante. O grupo de camundongos portadores do melanoma murino B16F10 apresentaram valores de FC inferiores se comparado ao grupo controle, essa diminuição da frequência cardíaca pode estar relacionada com fatores relacionados com estresse físico e emocional com a progressão da doença. Pesquisas indicam que o aumento da frequência cardíaca não só aumenta o risco de doenças cardiovasculares, mas também desempenha um papel significativo no prognóstico de pacientes com câncer (Schubert *et al.*, 2009; Ho *et al.*, 2014). Por outro lado, a redução da frequência cardíaca tem sido identificada como um fator protetor, aumentando a sobrevida (Carrascosa *et al.*, 2021). O melanoma pode desencadear síndromes paraneoplásicas, que são efeitos indiretos do câncer devido à liberação de citocinas como, interleucinas (IL-1 e IL-6), assim como liberação de catecolaminas ou uma resposta imunológica anormal. Essas síndromes podem afetar o sistema nervoso autônomo, levando a uma predominância do tônus vagal (parassimpático), reduzindo a frequência cardíaca (Martí *et al.*, 2004).

5.3 ONDA P (ms)

Os resultados obtidos da duração da onda P (ms) dos camundongos controle e portadores do melanoma estão especificados na figura 16. Demonstrados valores resultantes dos camundongos do grupo controle e grupo melanoma em sete determinados momentos, sendo registrados os valores provenientes do dia 1, e repetindo as análises em 7 dias (1,7,14 e 21).

Figura 16 - Gráficos representativos dos valores de P (ms) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).

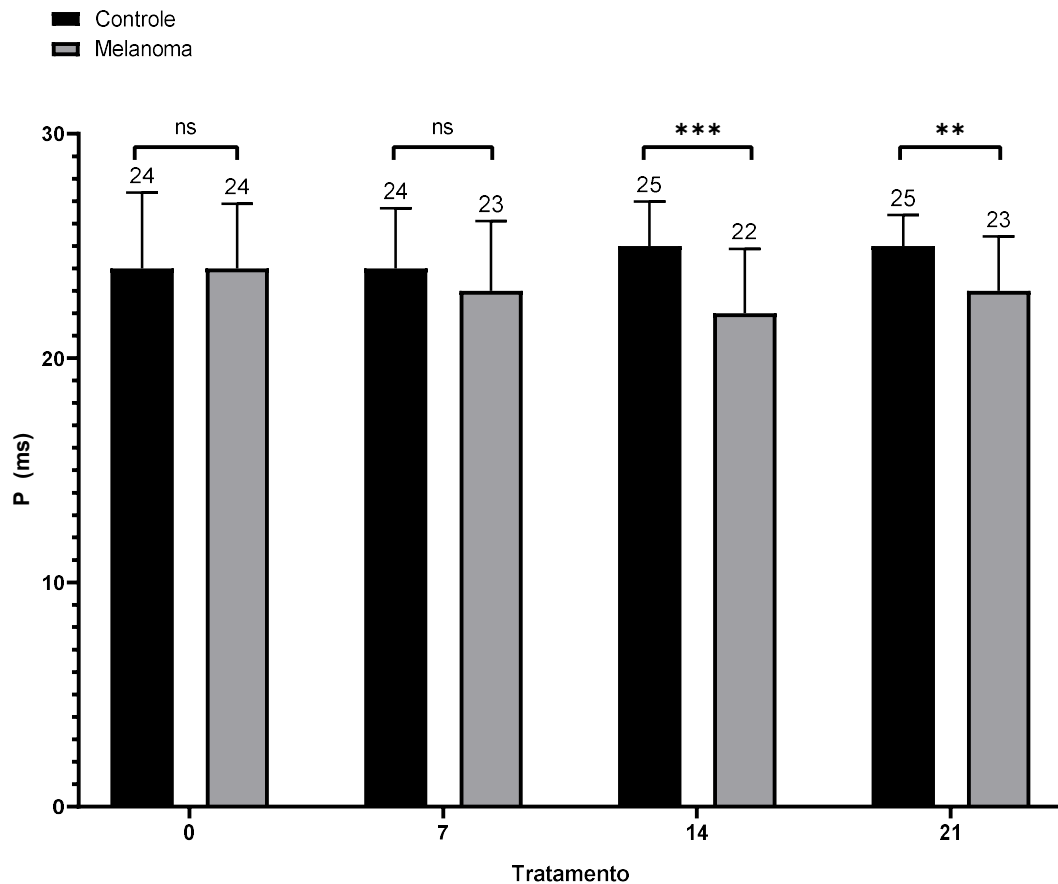


Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

No grupo controle observamos duração da onda P (ms) com valor médio de $25 \pm 2,48$ ms, não apresentando diferença estatisticamente relevante entre o mesmo grupo de camundongos ($p > 0,05$). O grupo melanoma apresentou média de $23,24 \pm 2,86$ ms, não apresentando diferenças significativas entre os mesmos indivíduos com B16F10 ($p > 0,05$) (Figura 16).

Houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos nos diferentes momentos de tempo, 0, 7, 14 e 21 dias do grupo controle comparado ao grupo melanoma (figura 14), conforme análise ANOVA com nível de significância de 5% ($p > 0,05$) (Figura 17).

Figura 17 - Gráfico demonstrativo de valores de duração da onda P (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



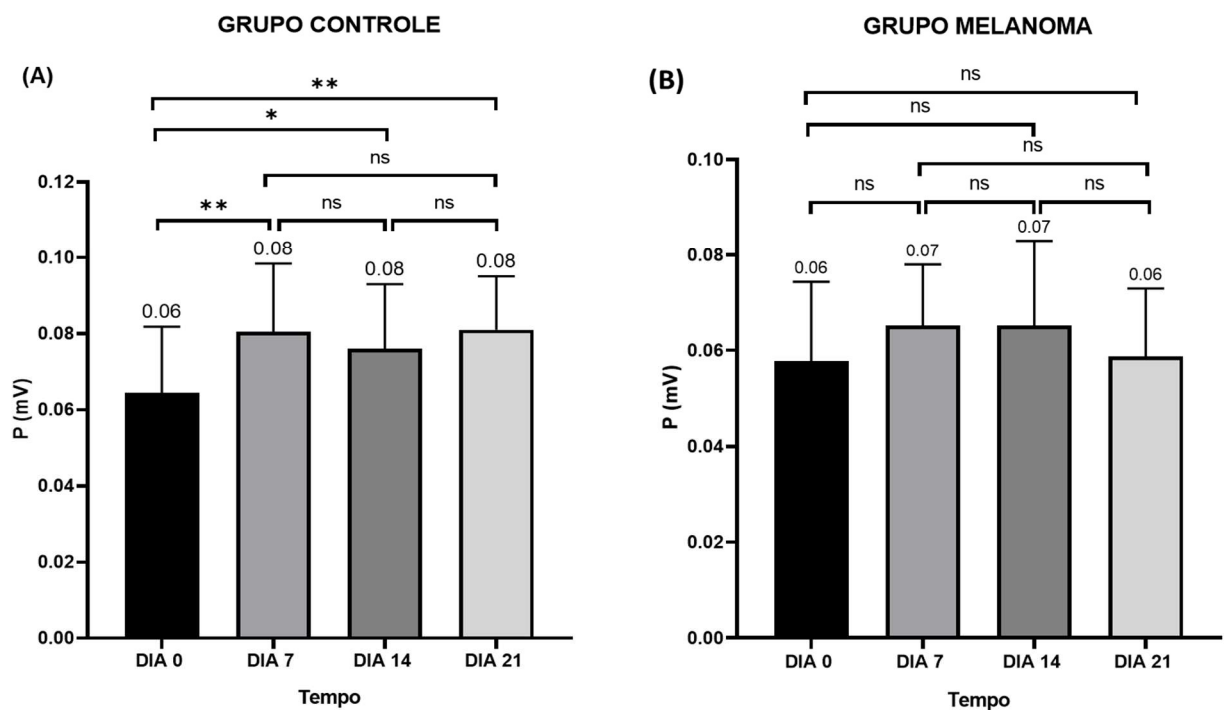
Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

A despolarização atrial é iniciada mediante a propagação de impulsos elétricos provenientes do nó sinusal, gerando potencial elétrico que induz à contração de seus átrios. Em camundongos saudáveis a despolarização ocorre de maneira fisiológica, enquanto camundongos acometidos com B16F10 apresentam alterações no sistema de condução elétrica do átrio esquerdo, gerando impulsos que comprometem a contração e ejeção do sangue a partir do átrio. Nenhum estudo apresenta informações acerca da duração da onda P em pacientes acometidos por câncer de pele. Estudos são fornecidos e evidenciam que pacientes com psoríase vulgar apresentam alterações de condução dos impulsos elétricos referente ao nó sinusal, correlacionando com maior fator de risco de fibrilação atrial em pacientes graves, esse fator está relacionado com o processo de inflamação crônica promovendo anomalias na condução elétrica (Bacaksiz *et al.*, 2013; Duman *et al.*, 2019).

5.4 ONDA P (mV)

Na figura 18, encontram-se detalhados os dados referentes à amplitude da onda P (mV) observada em camundongos saudáveis e em camundongos com melanoma. Os valores correspondentes aos grupos controle e melanoma foram registrados em quatro momentos distintos, começando no primeiro dia da observação e repetindo-se as análises após 7, 14 e 21 dias.

Figura 18 - Gráficos representativos dos valores de P (mV) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).

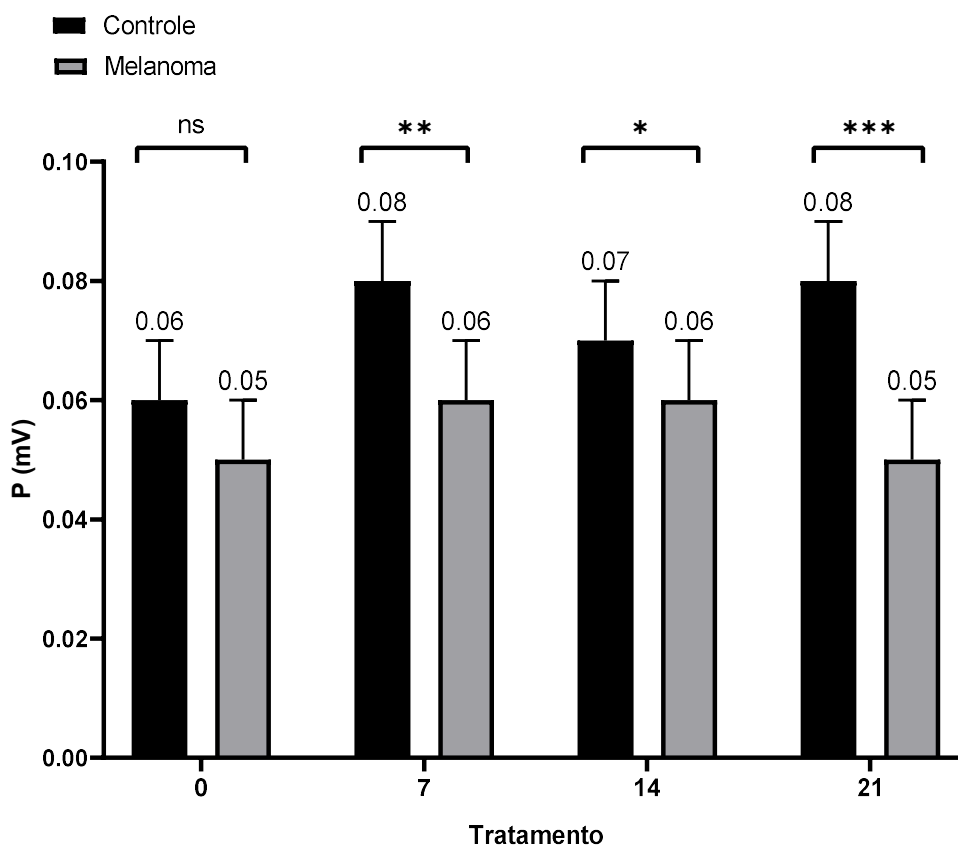


Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e "ns" para não significativo.

No grupo controle observamos duração da onda P (ms) com valor médio de $0,08 \pm 0,02$ ms, apresentando diferença estatisticamente relevante entre o mesmo grupo de camundongos ($p < 0,05$). O grupo melanoma apresentou média de $0,06 \pm 0,02$ ms, não apresentando diferenças significativas entre os mesmos indivíduos com B16F10 ($p > 0,05$) (Figura 18).

Em relação a amplitude de onda P (mv), foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupo controle e grupo melanoma em relação aos períodos analisados de acordo com variância (ANOVA) realizada com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) (Figura 19).

Figura 19 - Gráfico demonstrativo de valores de amplitude da onda P (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

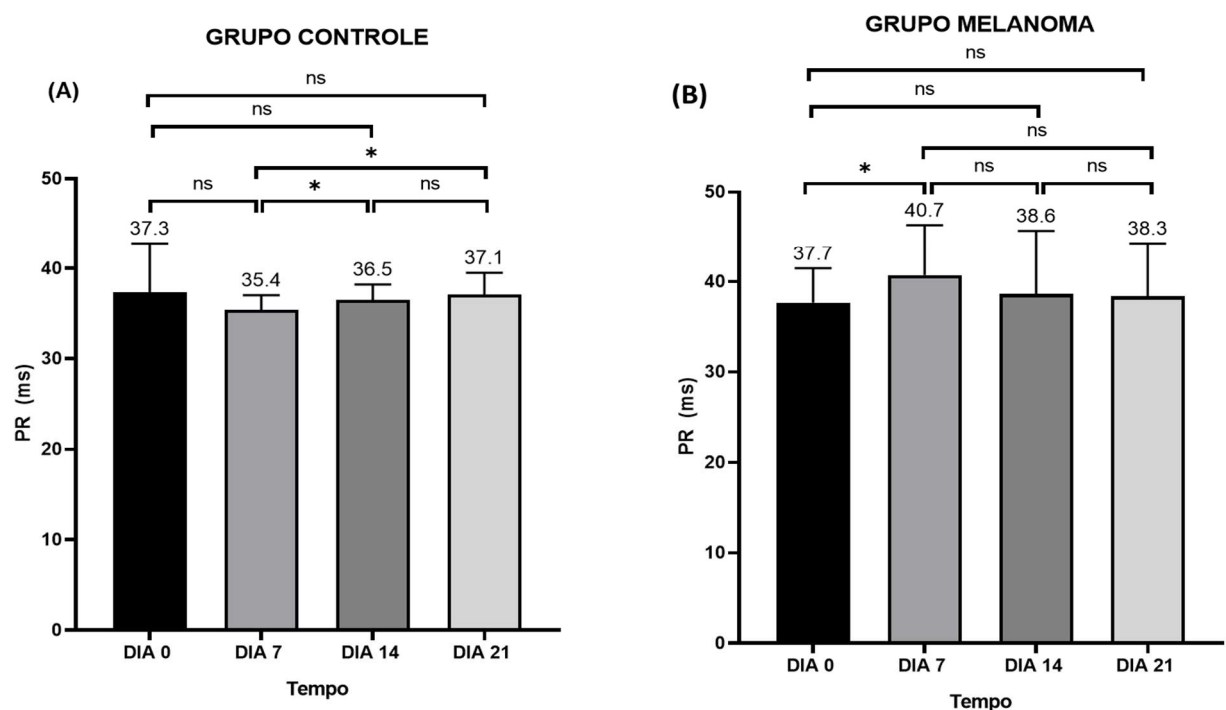
A despolarização atrial é um evento extremamente importante para o ciclo cardíaco, sendo ele responsável pela ejeção do sangue dos átrios para os ventrículos e de maneira continua prossegue para todo o organismo. A amplitude da onda P está intrinsicamente relacionado com a contração do átrio direito. Há poucos estudos demonstrando que o melanoma apresente repercussão elétrica, entretanto acredita-se que existem fatores que podem desencadear alterações no sistema de condução elétrica do coração. Essas alterações podem estar relacionadas as metástases de melanomas, apresentando características clínicas importantes, afetando o nó sinusal e gerando alterações elétricas que podem provocar desde bradiarritmias a taquicardias, esse fator elétrico pode ser associado com a invasão de células cancerígenas no átrio direito provocando sobrecarga e fornecendo aumento da amplitude da mesma onda (Martí *et al.*, 2004).

Outros fatores podem alterar esse parâmetro, como, hipertrofia atrial, alterações na condução elétrica recorrentes a bloqueio atrioventriculares, taquicardia e fibrilação atrial aumentando a amplitude dessa onda como mecanismo compensatório, entretanto no presente estudo não foram evidenciados bloqueios atrioventriculares, fibrilação ou taquicardia em camundongos do grupo controle e grupo com melanoma em seus diferentes estágios.

5.5 INTERVALO PR

Os resultados obtidos do intervalo PR (ms) dos camundongos saudáveis e portadores do melanoma estão especificados na figura 20. São demonstrados valores resultantes dos camundongos do grupo controle e grupo melanoma em quatro determinados momentos, sendo registrados os valores provenientes do dia zero, e repetindo as análises em 7, 14 e 21 dias.

Figura 20 - Gráficos representativos dos valores do intervalo PR (ms) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).



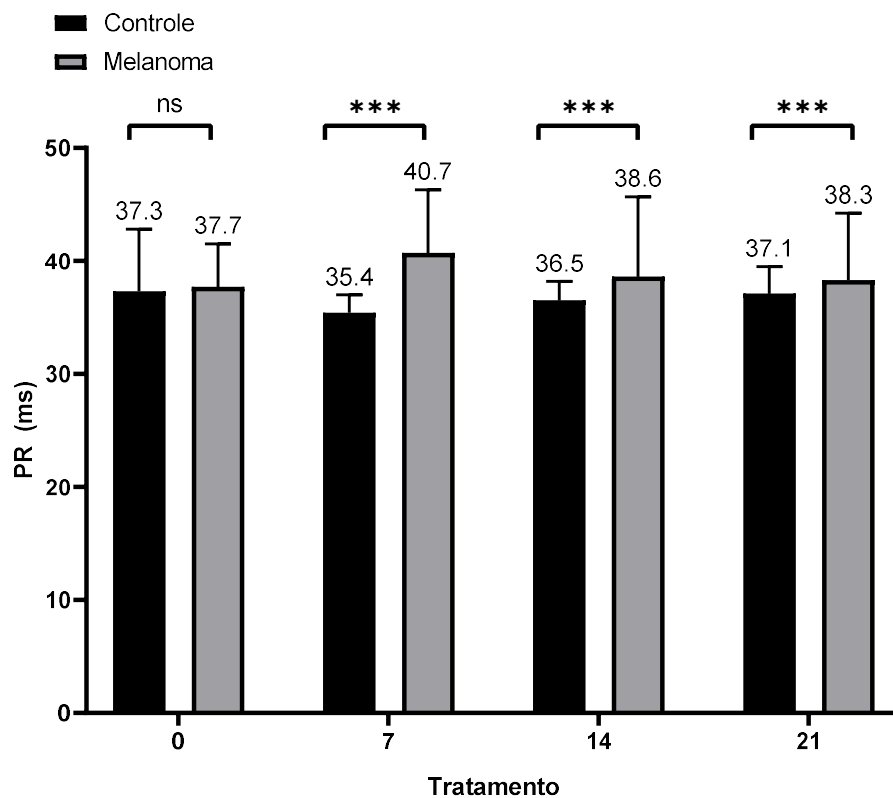
Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * p<0,05; ** p<0,01; *** p<0,001; e “ns” para não significativo.

No grupo controle observamos duração da onda P (ms) com valor médio de $36.58 \pm 3,25$ ms, não apresentando diferença estatisticamente relevante entre o

mesmo grupo de camundongos ($p>0,05$). O grupo melanoma apresentou média de 38 ± 6 ms, não apresentando diferenças significativas entre os mesmos indivíduos com B16F10 ($p>0,05$) (Figura 20).

Em relação a duração do intervalo PR (ms), foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupo controle e grupo melanoma em relação aos períodos analisados de acordo com variância (ANOVA) realizada com nível de significância de 5% ($p<0,05$) (Figura 21).

Figura 21 - Gráfico demonstrativo de valores de intervalo PR (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p<0,05$; ** $p<0,01$; *** $p<0,001$; e "ns" para não significativo.

O intervalo PR está associado com o tempo entre a despolarização atrial e a despolarização ventricular. Alterações no tempo de duração no intervalo PR representam alterações na condução elétrica do coração, essas alterações ocorrem devido a falha de comunicação entre o nó atrioventricular em relação a captação e liberação do estímulo elétrico, retardando o tempo de interpretação do estímulo elétrico promovido pelo átrio através do nó sinusal e consequentemente alterando o tempo de contração ventricular (Douedi; Douedi, 2023).

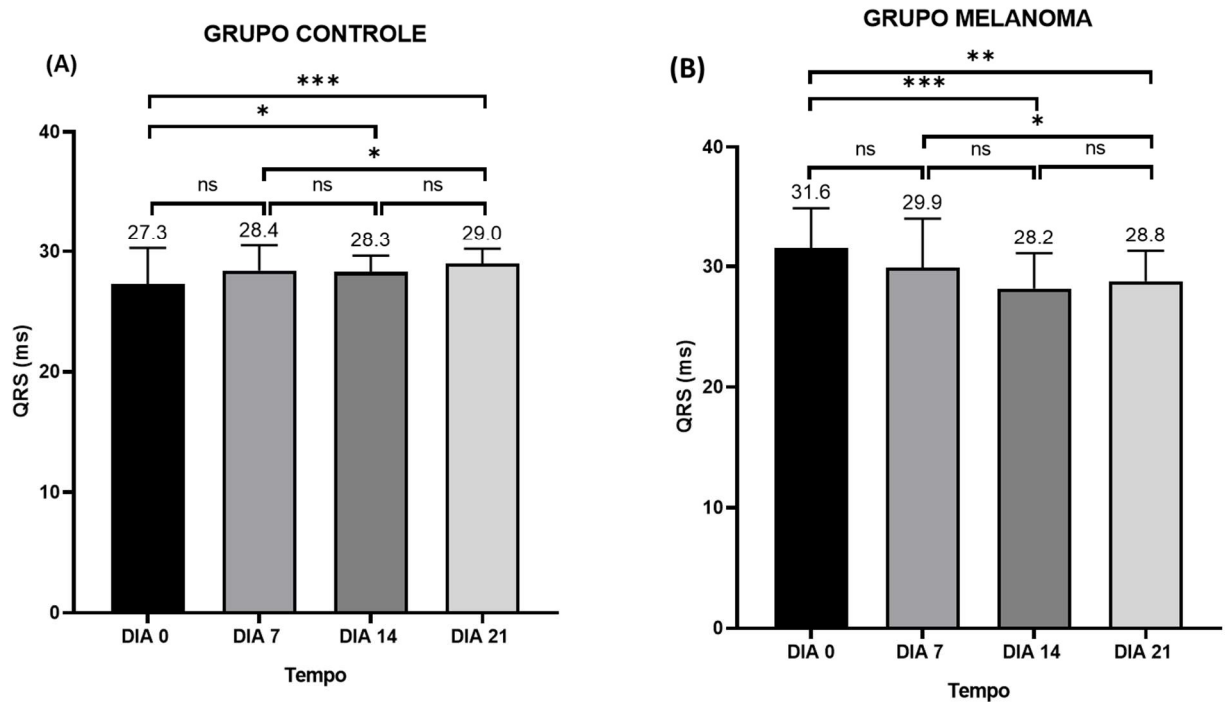
No presente estudo houve alterações no intervalo PR, estudos relatam que alterações no intervalo PR estão associadas com problemas de condução elétricas graves, como bloqueio atrioventriculares e fibrilação atrial. Em pacientes com doença pericárdica maligna em humanos foi observado alterações em relação ao intervalo PR, essa alteração é descrita como uma possível invasão direta do pericárdio através de uma disseminação hematogênica ou linfangítica, na qual apresenta características que afetam o sistema de repolarização atrial. Fatores ainda descritos em relação as alterações do mesmo segmento, estas associadas com a terapêutica, sendo utilização de quimioterápicos e métodos com utilização de radiação que podem alterar o sistema de condução (Ahluwalia *et al.*, 2016).

Estudos que correlacionaram grupo com melanoma em relação à grupo com utilização de terapias medicamentosas contra o melanoma, não observou alterações entre os indivíduos (Pohl *et al.*, 2020). Em pacientes com câncer de mama tratadas com quimioterápicos o intervalo PR não apresentou resultados significativos entre o início do estudo e durante o acompanhamento durante a quimioterapia (Liang *et al.*, 2020). Apesar de pouco utilizada, essa metodologia de verificar o intervalo PR, podendo favorecer em diagnósticos em pacientes com câncer que apresentem derrame pericárdico (Ahluwalia *et al.*, 2016), o que não foi evidenciado no presente estudo com animais com melanoma B16F10.

5.6 COMPLEXO QRS

Os resultados obtidos da duração do complexo QRS (ms) dos camundongos controle e portadores do melanoma estão especificados na figura 22. Demonstrados um comparativo entre camundongos do grupo controle e grupo melanoma demonstrando a progressão em sete principais momentos, sendo registrados os valores provenientes do dia zero, e repetindo as análises em 7, 14 e 21 dias.

Figura 22 - Gráficos representativos dos valores do complexo QRS em camundongos controle (A) e com melanoma (B).

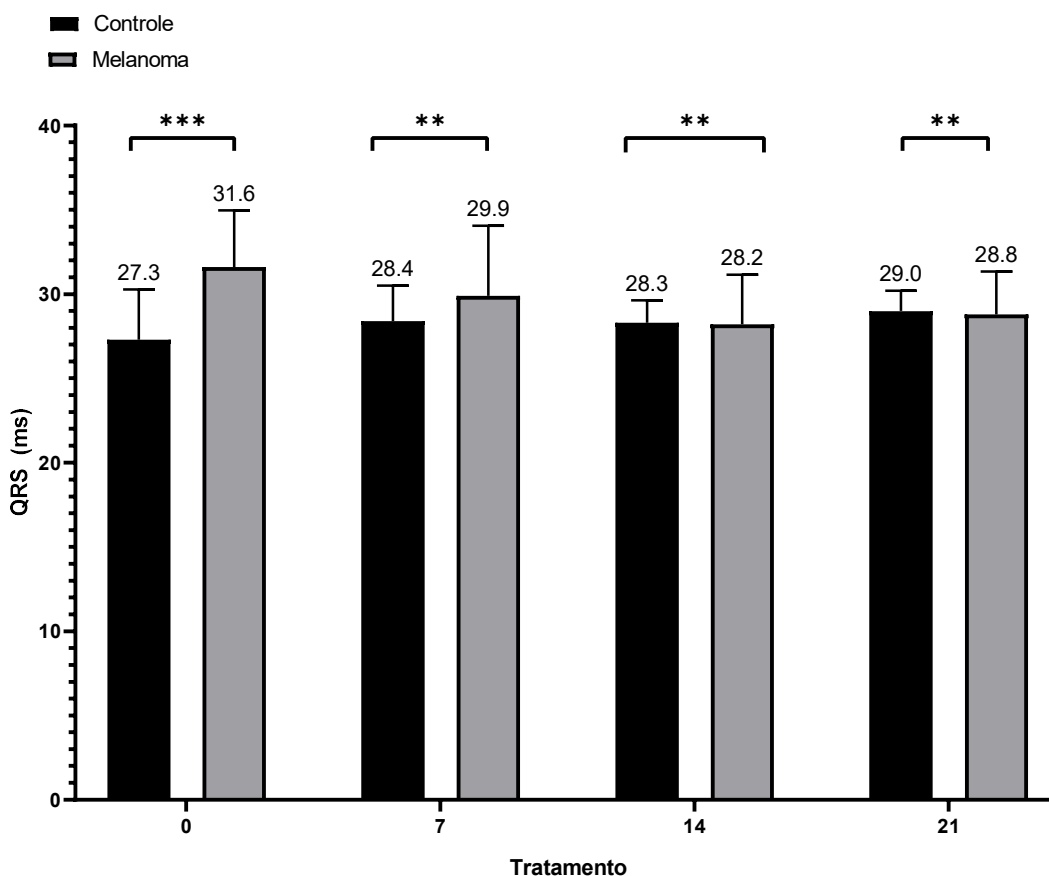


Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

No grupo controle observamos duração do complexo QRS (ms) com valor médio de 28 ± 2 ms, não apresentando diferença estatisticamente relevante entre o mesmo grupo de camundongos ($p < 0,05$). O grupo melanoma apresentou média de $29,6 \pm 3$ ms, apresentando diferenças significativas entre os mesmos indivíduos durante a progressão do B16F10 ($p > 0,05$) (Figura 22).

Com relação a duração do complexo QRS (ms), não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupo controle e grupo melanoma em relação aos períodos analisados de acordo com variância (ANOVA) realizada com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) (Figura 23).

Figura 23 - Gráfico demonstrativo do complexo QRS (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e "ns" para não significativo.

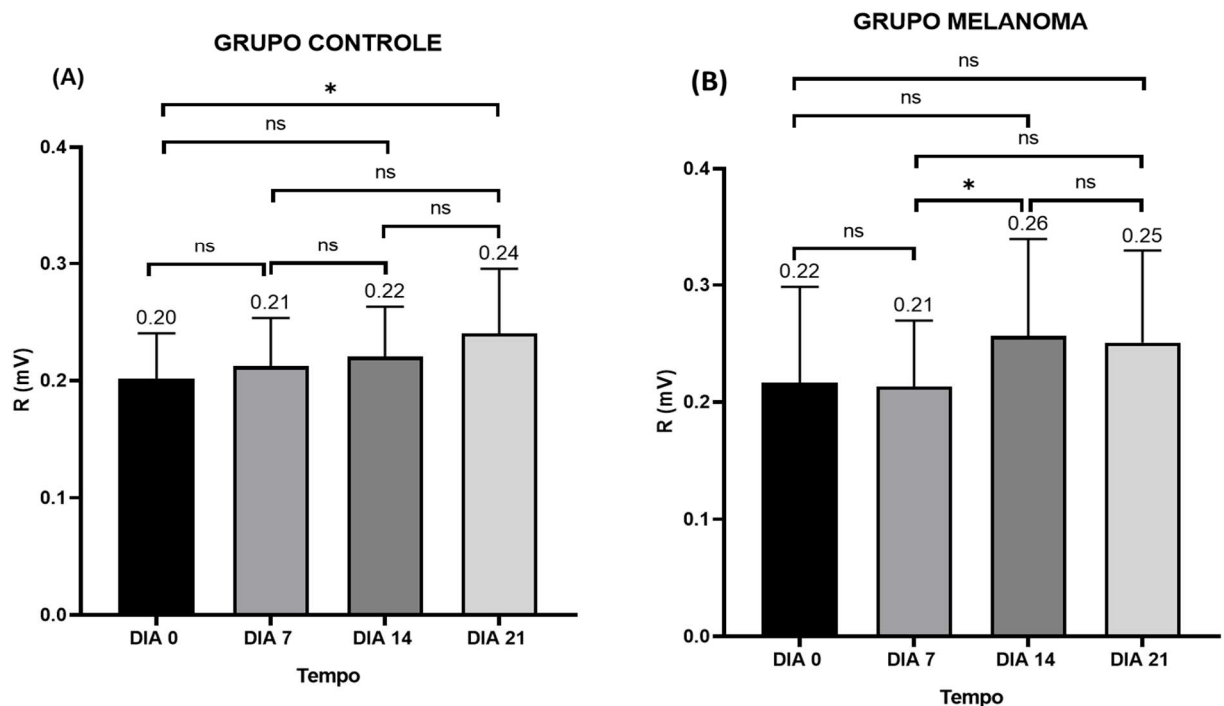
Não foram observadas diferenças significativas na análise comparativa entre o grupo controle e o grupo melanoma. Esses resultados sugerem que o mecanismo de ação do melanoma não demonstrou efeitos que comprometessem o sistema de condução elétrica no complexo QRS. Em investigações clínicas realizadas com seres humanos, onde a avaliação da duração do complexo QRS foi conduzida durante o tratamento do melanoma, não foram evidenciadas alterações neste parâmetro tanto em pacientes pré-tratamento quanto em pacientes submetidos à terapia com inibidores de PD-1 (monoterapia) ou à combinação de inibidores de PD-1 com inibidores de CTLA-4 (terapia combinada) (Pohl *et al.*, 2020). Estudos em camundongos C57BL/6 tratados com inibidores de PD-1 têm revelado um efeito positivo sobre as células miocárdicas, caracterizado por uma resposta inflamatória e de isquemia mais favorável, sem induzir danos teciduais significativos. Em

camundongos BALB/c promoveu um aumento de anti-tropomina-I e cardiomiopatia dilatada. Esse evento está correlacionado com aspectos genéticos e utilização de camundongos geneticamente modificados para estudos cardiovasculares. Contudo, o uso de inibidores de PD-1 tem sido associado a uma maior incidência de cardiotoxicidade em comparação com inibidores de CTLA-4, aumentando assim o risco de desenvolvimento de miocardite. É importante observar que essas alterações não parecem influenciar o sistema de condução elétrica ventricular, mas sim estruturas do coração (Ronen *et al.*, 2022).

5.7 ONDA R (mV)

Os resultados da duração da onda R (mV) em camundongos de grupos controle e portadores de melanoma estão detalhados na Figura 24. Um comparativo entre os camundongos do grupo controle e do grupo com melanoma é apresentado, ilustrando a progressão ao longo de quatro momentos, nos quais foram registrados os valores no dia 1, com análises subsequentes realizadas aos 7, 14 e 21 dias.

Figura 24 - Gráficos representativos dos valores da onda R (mv) em camundongos controle (A) e com melanoma (B).

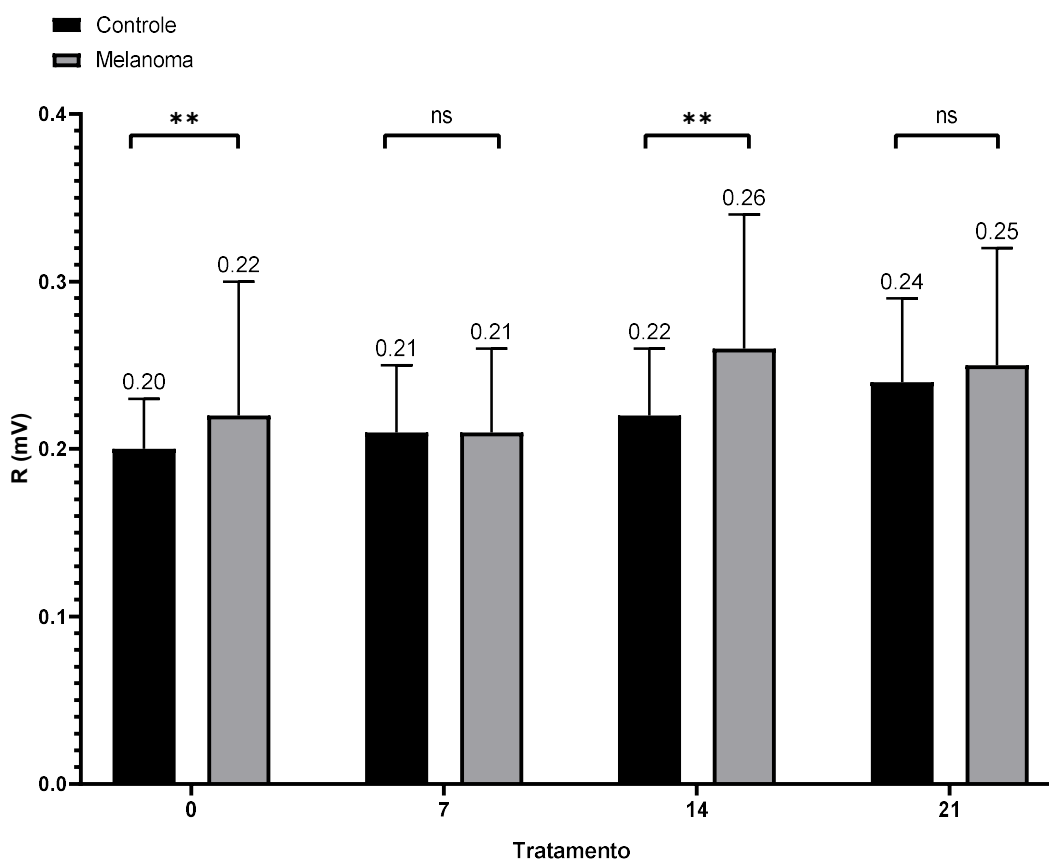


Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * p < 0,05; ** p < 0,01; *** p < 0,001; e “ns” para não significativo.

No grupo controle foi observada uma duração média da onda R de $0,22 \pm 0,05$ mV, não demonstrando diferenças estatisticamente significativas entre os indivíduos deste grupo de camundongos ($p < 0,05$). O grupo com melanoma apresentou uma média de $0,23 \pm 0,08$ mV, não revelando diferenças estatisticamente significantes entre os mesmos indivíduos durante a progressão do B16F10 ($p < 0,05$), conforme ilustrado na Figura 24.

Em relação a onda R (mV), foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupo controle e grupo melanoma em relação aos períodos analisados de acordo com análise de variância (ANOVA) realizada com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) (Figura 25).

Figura 25 - Gráfico demonstrativo do complexo QRS (ms) de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

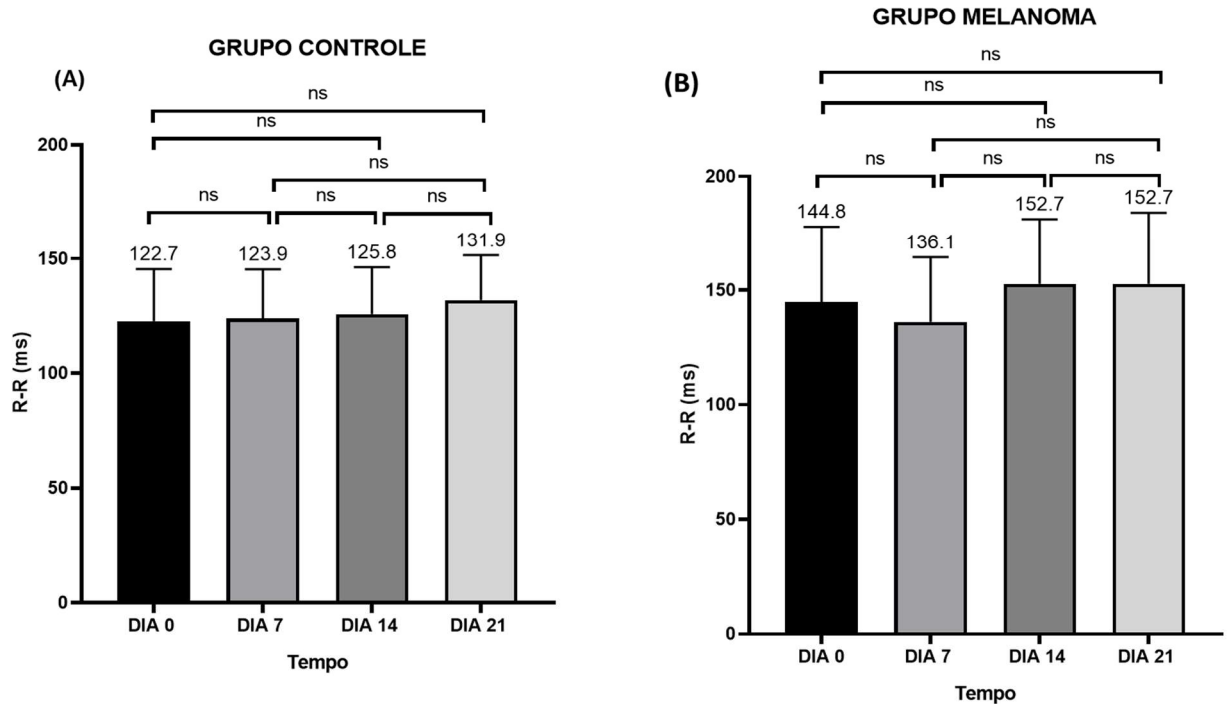
A relação entre o aumento da onda R em humanos com melanoma pode ser multifatorial e não há uma explicação única ou definitiva. No entanto, algumas teorias

e observações demonstram que a hipertrofia ventricular direita pode estar correlacionada com pacientes humanos com melanoma, isso pode ocorrer devida a uma resposta compensatória a hipertensão pulmonar causada por metástases pulmonares do melanoma (Pohl *et al.*, 2020). Metástases do melanoma podem causar alterações estruturais no coração, afetando o padrão do ECG, incluindo o aumento da onda R (Morais *et al.*, 2008). Estudos indicam que o efeito paraneoplásico podem influenciar a atividade elétrica do coração devido a liberação química de substâncias produzidas pelo melanoma, assim como alterações no sistema nervoso e cardiomiopatia granulomatosa que consequentemente podem apresentar alterações na amplitude da onda R (Kolominsky *et al.*, 2023). No entanto, é importante ressaltar que o aumento da onda R em camundongos e humanos com melanoma não é uma característica universalmente observada em todos os casos.

5.8 INTERVALO RR

Os resultados obtidos do intervalo R-R (ms) dos camundongos controle e portadores do melanoma estão especificados na figura 26, demonstrando comparativo entre camundongos do grupo controle e grupo melanoma em uma progressão de quatro períodos, sendo, 1, 7, 14 e 21 dias.

Figura 26 - Gráficos representativos dos valores do intervalo R-R em camundongos controle (A) e com melanoma (B).

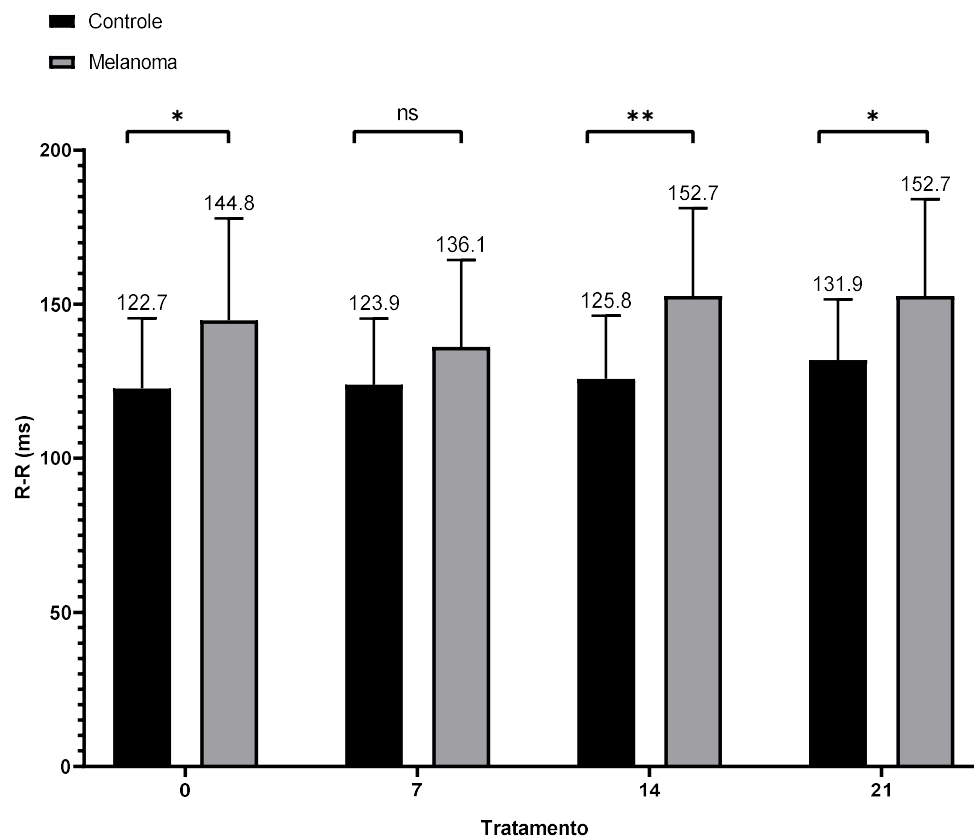


Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

No grupo controle, foi observada uma duração média da onda R de $126 \pm 21,03$ mV, não demonstrando diferenças estatisticamente significativas entre os indivíduos deste grupo de camundongos ($p < 0,05$). O grupo com melanoma apresentou uma média de $146,60 \pm 30.66$ mV, não revelando diferenças estatisticamente significantes entre os mesmos indivíduos durante a progressão do B16F10 ($p < 0,05$).

Em relação a intervalo R-R, foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre grupo controle e grupo melanoma em relação aos períodos analisados de acordo com variância (ANOVA) realizada com nível de significância de 5% ($p < 0,05$) (Figura 27).

Figura 27 - Gráfico demonstrativo do intervalo RR de camundongos do grupo controle x camundongos do grupo melanoma.



Resultados significativamente distintos, de acordo com o teste t de Student, representados por * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$; e “ns” para não significativo.

Poucos trabalhos correlacionam o intervalo RR com melanoma. Em uma pesquisa que envolveu pacientes com câncer de mama, foi observada diminuição do intervalo RR se comparado ao grupo controle da mesma doença. O sistema nervoso parassimpático (SNP) desempenha um papel crucial na regulação do sistema cardiovascular, promovendo diminuição da frequência cardíaca e aumento do intervalo RR (Reyes *et al.*, 2021). A atuação do SNP pode estar relacionada com o aumento do sistema nervoso simpático recorrente ao câncer, estresse relacionado ao câncer pode desencadear respostas autonômicas, que podem influenciar a frequência cardíaca, é possível que em algumas situações de estresse crônico ou patológico como no caso do câncer, o aumento da atividade do sistema nervoso simpático possa levar a adaptações compensatórias no sistema nervoso parassimpático, atuando e reduzindo a frequência cardíaca em indivíduos com câncer (Jimenes *et al.*, 2017; Farah, 2020).

6 CONCLUSÃO

Este estudo destaca a importância da monitorização eletrocardiográfica em modelos experimentais de melanoma, fornecendo resultados valiosos sobre as interações entre o câncer e a função elétrica do coração. As alterações eletrocardiográficas observadas no presente estudo demonstram que o grupo de camundongos com melanoma apresentam frequência cardíaca inferior se comparado ao grupo controle. Alterações associadas a despolarização de átrio esquerdo e direito foram evidenciadas no grupo melanoma através das mensurações de amplitude e duração da onda P demonstrando uma despolarização inferior ao encontrado no grupo controle. Referente ao intervalo PR foi visualizado alterações de tempo de duração, porém não sendo evidenciado bloqueios atrioventriculares. As mensurações de complexo QRS não foi evidenciado alterações significativas, entretanto a amplitude da onda R apresentou alterações no grupo melanoma. O grupo de camundongos com melanoma apresentaram alterações de intervalo RR, demonstrando que camundongos com melanoma apresentam alterações significativas eletrocardiográficas, assim como também alterações importantes em relação ao peso, apresentando redução de peso no decorrer do estudo.

REFERÊNCIAS

- ABREU, L. C. 2012. Variabilidade da frequência cardíaca como marcador funcional do desenvolvimento. **Journal of Human Growth and Development**. v. 22, n. 3, p. 279-82, 2012.
- AHAMED, B; QADIR, M. I; GHAFOR, G. Malignant Melanoma: Skin Cancer–Diagnosis, Prevention, and Treatment. **Critical Reviews in Eukaryotic Gene Expression**. V. 30, n. 4, p. 291 – 297, 2020.
- AHLUWALIA, M., et al. Persistent PR segment change in malignant pericardial disease. **Cardio-Oncology**. v.2, n.6, p.6, 2016.
- ALMEIDA, F. A., BELFORD, F. A. Melanoma Cutâneos. *In*: FILHO, A. B., CAMPOS, E. C. R., LEAL, F. R. P. C. **Oncologia Cutânea**. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2018, p. 113 – 122.
- ALMEIDA, P.R.C., et al. Non-invasive electrocardiography in C57BL/6 mice sedated with Acepromazine - case report. **Contribuciones a las ciencias sociales**. v.17, n.8, p.01-09, 2024.
- BACAKSIZ, A., et al. Electrocardiographic P-wave characteristics in patients with psoriasis vulgaris. **Upsala Journal of Medical Sciences**. v. 118, n. 1, p. 35 – 41, 2013.
- BERNABÉ, D. G. Catecholamines Mediate Psychologic Stress–Induced Cancer Progression. **Cancer Research**. v.81, n.20, p.5144-5146, 2021.
- BEZERRA, J. S., SECATI, F., MELO, A. G. Dificuldade na interpretação do eletrocardiograma pelo enfermeiro. **Revista Faculdade do Saber**., v.6 n.13., p 944 – 951, 2021.
- BOGUCKI, SZ., NOWAK, A. N. Short-term heart rate variability in dogs with sick sinus syndrome or chronic mitral valve disease as compared to healthy controls. **Polish Journal of Veterinary Sciences**. v. 28, n. 1, p 167 – 172, 2017.
- BOTELHO A. F. M, et al. Non-invasive ECG recording and QT interval correction assessment in anesthetized rats and mice. **Brazilian Journal of Veterinary Research**, v. 39, n. 6, p. - 409 - 415, 2019.
- CALVANI, M., et al. Norepinephrine promotes tumor microenvironment reactivity through β 3-adrenoreceptors during melanoma progression. **Oncotarget**. v.6, n.7, p.4615-4632, 2015.
- CAMPOS, E. C. R. Epidemiologia das neoplasias de pele não melanoma e melanoma. *In*: FILHO, A. B., CAMPOS, E. C. R., LEAL, F. R. P. C. **Oncologia Cutânea**. Rio de Janeiro. Elsevier Editora Ltda, 2018, p. 9 – 13.
- CARARETO, R. et al. Variabilidade da frequência cardíaca em cães anestesiados com infusão contínua de propofol e sufentanil. **Brazilian Journal of Veterinary and Animal Science**., v. 59, n. 2, p. 329-332, 2007.
- CARRASCOSA, D. P.P., et al. Resting Heart Rate as a Predictor of Cancer Mortality: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Journal of Clinical Medicine**. v. 10, n.7, p. 1354, 2021.

CIRENZA, C; PÓVOA, R. **O Eletrocardiograma na Prática Médica**. 1º ed, São Paulo: Atheneu., 2013, p. 7.

CHANG, A. L., et al. Cardiac Metastatic Melanoma Causing Ventricular Arrhythmias Through Impaired Coronary Artery Vasodilation. **Journal of the American College of Cardiology**. v.18

CHOUDHURY, M., BOYETT, M. R., MORRIS, G. M. Biology of the Sinus Node and its Disease. **Arrhythmia & Electrophysiology Review**. v. 4, n. 1, p. 28 – 34, 2015.

CHUN, K. J., et al. Electrocardiogram PR Interval Is a Surrogate Marker to Predict New Occurrence of Atrial Fibrillation in Patients with Frequent Premature Atrial Contractions. **Journal of Korean Medical Science**. v. 31, n. 4, p. 519-524, 2016.

DOUEDI, F., DOUEDI, H. P wave. **National Livray Medicine**. p. 1 – 3. 2023.

DUMAN, H. et al. The relationship between total atrial conduction time and left atrial global strain in patients with psoriasis vulgaris. **Archives of Medical Science**. v.15, n.4, p. 865-871, 2019.

FARAH, B. Q. Heart Rate Variability as an Indicator of Cardiovascular Risk in Young Individuals. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**. v. 115, n.1, p.59-60, 2020.

FARIAS, C. J., et al., Individual differences in the effects of midazolam on anxiety-like behavior, learning, reward, and choice behavior in male mice. **Frontiers in Psychiatry**. 14, p 5, 2023.

FAVERO, G. M. Modelos de pesquisa experimental em câncer de pele tipo melanoma. *In*: FILHO, A. B., CAMPOS, E. C. R., LEAL, F. R. P. C. **Oncologia Cutânea**. Rio de Janeiro: Elsevier Editora Ltda, 2018, p. 123 – 128.

FAVORETTO S. M., SEABRA D. I., OLIVATO M. C. M. **Guia de eutanásia para animais de ensino e pesquisa**. Universidade Federal de São Paulo. 1º ed, 2019, p. 10

FILHO, A. B., CAMPOS, E. C. R., LEAL, F. R. P. C. **Oncologia Cutânea**. 1º ed, Rio de Janeiro. Elsevier Editora Ltda, 2018, p 9, 113, 123 - 128.

FITZSIMONS, L. A., et al. Noninvasive Electrocardiography in the perinatal mouse. **Journal of Visualized Experiments**. (160), e61074, doi:10.3791/61074 (2020).

FU, Q., et al. Novel murine tumour models depend on strain and route of inoculation. **International Journal of Experimental Pathology**. v.97, n.4, p.351-356, 2016.

GEORGE, S. A., et al. At the Atrioventricular Crossroads: Dual Pathway Electrophysiology in the Atrioventricular Node and its underlying Heterogeneities. **Arrhythmia & Electrophysiology Review**. v. 6, n. 4, p. 179 – 185, 2017.

HEATON, J., GOYAL, A. Atrioventricular Node. **StatPearls**. 2023.

HO, J. E, et al. Long-term Cardiovascular Risks Associated With an Elevated Heart Rate: The Framingham Heart Study. **Journal of the American Heart Association**. v.3, n.3, p. e000668, 2014.

HOSSRI, C. A. C. Distúrbios do Sistema de Condução Atrioventricular e Potenciais Riscos de Eventos Arrítmicos em Atletas de Alta Resistência. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**. v. 115, n.1, 78 – 79, 2020.

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Estatísticas de câncer**. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros>> Acessado em: 23 mar. 2023.

INCA – Instituto Nacional de Câncer. **Melanoma maligno da pele (taxas ajustadas)**. Disponível em: <<https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa/por-neoplasia-taxas-ajustadas/pele-melanoma>> Acessado em: 23 mar. 2023.

InformedHealth.org. In brief: How does the blood circulatory system work? **Institute for Quality and Efficiency in Health Care**, 2006, disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK279250/>

KASHOU, A. H., BASIT, H., CHHABRA, L. Physiology, Sinoatrial Node. **StatPearls**, 2023.

KIM, M. J., LIM, J. E., OH, B. Validation of Non-invasive Method for Electrocardiogram Recording in Mouse using Lead II. **Biomedical Science Letters**. v.21, p. 135 – 143, 2015.

KLEIGER, R. E., STEIN, P. K., JR, K. T. B. Heart Rate Variability: Measurement and Clinical Utility. **Annals of noninvasive Eletrocardiology**. v. 10, n.1, p.88-101, 2005.

KOLOMINSKY, J., et al. Granulomatous Cardiomyopathy Presenting As a Paraneoplastic Syndrome in Metastatic Melanoma. **SJC Open**. v. 5, n. 9, p. 713-716, 2023.

JIMENES, D. R., et al. Heart inertation: a review study with emphasis in cardiac plexus. **Revista Uningá**. v. 52, n.1, p. 92-99, 2017.

LARSON, M. H. M. A. Tratado de Cardiologia de Cães e Gatos. 1º ed, São Paulo: Interbook., 2020, p 7 – 11.

LIANG, X., et al. Electrocardiographic Characteristics of Breast Cancer Patients Treated with Chemotherapy. **Cardiol Res Pract**. 2020

LIMA, P. L., CROTTI, P. L. R. Malignant cardiac tumours. **Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular**, v. 19, n.1, p. 64-73, 2004.

MALLA, J., et al. What Role Do Inflammatory Cytokines Play in Cancer Cachexia?. **Cureus**. v. 14, n.7, p. e26798, 2022.

MARTÍ, G. et al. Cardiac Metastases of Malignant Melanoma Mimicking Sick Sinus Syndrome. **Revista Española de Cardiología**. v. 57, n. 6, p. 589 – 591, 2004.

MARTIN, M. **Small Animal ECGs na introductory guide**. 3º ed. Iowa: Willey Blackwell, 2015, p 3.

MARTINEZ, G., DIAS, M. A. Mechanisms of electrocardiographic changes in hyperkalemia. **Arquivos medicos dos hospitais e da faculdade de ciências médicas da Santa Casa de São Paulo**. v. 65, n. 1, p. 1 – 3.

MENDONÇA, F. D. O. **Avaliação do efeito antitumoral de *Cordyceps militaris* em meio à base de melaço de cana-de-açúcar em camundongos com melanoma**. 2022. p. 10, 21. Dissertação (mestrado) – Programa de pós-graduação em Ciências Farmacêuticas – Universidade Estadual de Ponta Grossa, Paraná, 2020.

MORAES, J. L. M. **Classificação automática do registro do ecg de 12 derivações em aceitável ou inaceitável para laudo médico em sistemas reais de telecardiologia: redução de custos e de riscos no processo de diagnóstico cardíaco**. 2023. p. 35. Tese (Doutorado) – Escola de Engenharia – Universidade Federal de Minas Gerais, MG, 2023.

MORAIS, V. D., et al. Tumor em ventrículo direito em paciente com melanoma. *Arquivo Brasileiro de Cardiologia*. v.91, n. 3, 2008

MOREIRA, D. A. R. Electrocardiographic changes that identify patients at risk for atrial fibrillation. **Journal of cardiac arrhythmias**. v. 31, n. 2, p. 45 – 51, 2018.

MULAI, E. M. Q. **Anatofisiologia Cardíaca**. 2019. p. 4, 23. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Ciências da Saúde – Universidade Beira Interior, Covilhã, 2019.

NETO, M. L, RIBEIRO, V. R. F. Fisiologia do sistema cardiovascular. In: LARSSON, M. H. M. A. **Tratado de Cardiologia de cães e gatos**. 1º ed. São Paulo: Interbook editorial, 2020, p. 7 - 25.

OZYUNCU, N., et al. Cardiac metastasis of malignant melanoma: a rare cause of complete atrioventricular block. **Europen Heart Rhythm Association**. v.8, n.7, p.545-548, 2006.

PARK, D. S., FISHMAN, G. I. Development and Function of the Cardiac Conduction System in Health and Disease. **Journal of Cardiovascular Development and Disease**. v. 4, n. 2, 2017.

PATIL, G., et al. Prevalence and predictors of ventriculo-atrial conduction in structurally normal Hearts. **Indian Heart Journal**. v. 69, n. 3, p. 316 – 318, 2017.

POHL, J., et al. ECG Changes in Melanoma Patients Undergoing Cancer Therapy—Data from the ECoR Registry. **Journal of Clinical Medicine**. v.9, n.7, p. 2060, 2020.

RASTRELLI, M. et al. Melanoma: Epidemiology, Risk Factors, Pathogenesis, Diagnosis and Classification. **In Vivo**., v.28, n. 6, p. 1005 – 1011, 2014.

REYES, D. E., et al. Differences in heart rate variability and body composition in breast cancer survivors and women without cancer. **Scientific Reports**. v.11, n.1, p. 14460, 2021.

RIBEIRO, D. G., BARROS, F. F. Conhecimento da equipe de enfermagem de setores críticos na realização e interpretação de eletrocardiograma. **Revista Espaço para a saúde**. v. 21, n. 1, p 47 – 58, 2020.

ROMÃO, L. M. M. **Análise da variabilidade da frequência cardíaca em cães saudáveis em diferentes faixas etárias**. 2019. p 8 – 10. Dissertação (mestrado) – Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia – Universidade Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, São Paulo, 2020.

RUBINI, E. D. C. VARIABILIDADE DA FREQUÊNCIA CARDÍACA. **Brazilian Journals Editora**. v.1, n.1, p. 116 – 120, 2022.

RONEN, D., et al. Exploring the Mechanisms Underlying the Cardiotoxic Effects of Immune Checkpoint Inhibitor Therapies. **Vaccines**. v. 10, n.4, p. 540, 2022.

SÁ, J. C. F., COSTA, E. C., SILVA, E., AZEVEDO, G. D. Variabilidade da frequência cardíaca como método de avaliação do sistema nervoso autônomo na síndrome dos ovários policísticos. **Revista Brasileira de Ginecologia e Obstetrícia**, v.35, n.9, p. 421-426, 2013.

SAMPAIO, J. L. S. et al. Variabilidade da frequência cardíaca em pacientes com dor lombar: uma revisão sistemática. **ConScientiae Saúde**, v. 17, n. 2, p.111-121, 2018.

SANTILLI, R., et al. **Eletrocardiografia de cães e gatos: Diagnóstico de arritmias**. 2º ed, São Paulo: MedVet., 2020, p. 21.

SATTAR Y, CHHABRA L. Electrocardiogram. **StatPearls**, 2024. Disponível em: <<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK549803/>> Acessado em: 14 abr. 2024.

SATENDRA, M., et al. Reversible catecholamine-induced cardiomyopathy due to pheochromocytoma: Case report. **Revista Portuguesa de Cardiologia**. v.33, n.4, p.177.e1-177.e6, 2014.

SCHUBERT, C., et al. Effects of stress on heart rate complexity—A comparison between short-term and chronic stress. **Biological Psychology**. v. 80, n.3, p. 325 – 332, 2009.

SHAFFER, F, GINSBERG, J. P. An overview of heart rate variability metrics and norms. **Frontiers in public health**. v. 5, p. 290215, 2017.

SILVA, R. M. F. L., NACUEKm A, S. Conduction Disorders: The Value of Surface ECG. **Current Cardiology Reviews**. v. 17, n.2, p. 173-181, 2021.

STEPHENSON, R. B. Overview of Cardiovascular Function. *In*: CUNNINGHAM, J. G., KLEIN, B. G. **Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology**. Missouri, Elsevier, Inc., 2020, p. 173 – 185.

STEPHENSON, R. B. CUNNINGHAM, J.G. Electrical Activity of the Heart *In*: CUNNINGAM, J. G., KLEIN, B. G. **Cunningham's Textbook of Veterinary Physiology**, 6º ed, Missouri, Elsevier, Inc., 2020, p. 176 – 201.

SUHAIL, Y., et al. Systems Biology of Cancer Metastasis. **Cell Systems**. v. 9, n. 2, p. 109 – 127, 2019.

TOGNINI, J. F. R.; GOLDENBERG, S.; NARESSE, L.E.; SIMÕES, M.J.; ALVES, F.L.G.; MAGALHÃES, A. M. Estudo comparativo entre a sutura contínua e a com pontos separados na parede abdominal de ratos. **Acta Cirurgica Brasileira**, v.12, n.4, p. 249-54, 1997.

TOMSITS, P., et al. Medetomidine/midazolam/fentanyl narcosis alters cardiac autonomic tone leading to conduction disorders and arrhythmias in mice. **Lab. Animal**, v.52, n.4, p. 85 – 92, 2023.

VOLTARI, F. A., et al. Syngeneic B16F10 Melanoma Causes Cachexia and Impaired Skeletal Muscle Strength and Locomotor Activity in Mice. **Frontiers in Physiology**. v. 8, p. 715, 2017.

WALLACE, M. J., et al. Genetic Complexity of Sinoatrial Node Dysfunction. **Front. Genet.** v. 12, n. 1, 2021.

ANEXO A – PARECER DA COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS

13/11/2023, 15:21

SEI/UEPG - 1705353 - Carta



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE PONTA GROSSA
Av. General Carlos Cavalcanti, 4748 - Bairro Uvaranas - CEP 84030-900 - Ponta Grossa - PR - <https://uepg.br>

CARTA

CARTA DE APROVAÇÃO

Processo SEI UEPG: 23.000041280-0

Projeto de Pesquisa: AVALIAÇÃO ELETROCARDIOGRÁFICA EM CAMUNDONGOS COM MELANOMA

Interessado: Prof. Dr. Giovani Marino Favero

e-mail: gmfavero@uepg.br

Data de Entrada: 06/09/2023

Resultado: Aprovado

Vigência: 01/12/2023 à 31/08/2024

Considerações

A Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Ponta Grossa (CEUA-UEPG) certifica que os procedimentos utilizando animais no projeto de pesquisa supracitado estão de acordo com a Diretriz Brasileira para o Cuidado e a Utilização de Animais para fins Científicos e Didáticos (DBCA), estabelecida pelo Conselho Nacional para fins de Experimentação Animal (CONCEA) e com as normas internacionais para a experimentação animal. Dessa forma, fica autorizado o uso de: **Mus musculus**, Nome vulgar: **camundongo**, linhagem: **C57BL/6**, número: **44**, sexo: **indiferente**, idade: **60 dias**, no Processo 23.000041280-0.

Obs.:

- O relatório final deverá ser encaminhado em até 60 dias após a conclusão do processo 23.000041280-0.

Ponta Grossa, 08 de novembro de 2023



Documento assinado eletronicamente por **Rosane Aparecida Ribeiro, Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais/PROPESP**, em 08/11/2023, às 15:54, conforme Resolução UEPG CA 114/2018 e art. 1º, III, "b", da Lei 11.419/2006.