

AVALIAÇÃO DA MUCOSA INTESTINAL DE RATOS WISTAR SUBMETIDOS AO CÂNCER COLORRETAL ADMINISTRADOS COM QUERCETINA MICRO ENCAPSULADA E *BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS*.

Thalita Camilo da Silva (PIBIC/CNPq), Lucas Casagrande, Carla Cristina de Oliveira Bernardo, Sabrina Silva Sestak (co-orientadora), Jacqueline Nelisis Zaroni (Orientadora), e-mail: camilothali@gmail.com.

Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências Biológicas e da Saúde/Maringá, PR.

Morfologia – Histologia.

Palavras-chave: antioxidante, estresse oxidativo, probiótico.

Resumo: O câncer colorretal (CCR) está entre os mais incidentes do mundo, o seu desenvolvimento gera consequências sistêmicas como o estresse oxidativo e inflamação. Neste estudo, foram utilizados 30 ratos machos (50 dias), distribuídos em 5 grupos: (C) Controle; Câncer Colorretal (CR); Câncer Colorretal Quercetina (CQ); Câncer Colorretal Quercetina Probiótico (CQP) e Câncer Colorretal Probiótico (CP). O CCR foi induzido por dimetilhidrazina (DMH) e o tratamento com quercetina micro encapsulada (10 mg/Kg) e probiótico *Bifidobacterium animalis* (5×10^7 UFC) diariamente por meio de gavagem. Após o período experimental de 112 dias os animais foram eutanasiados e o íleo coletado para a análise morfométrica da parede. Os animais do grupo CR apresentaram aumento da altura das vilosidades, da mucosa e parede total, por outro lado redução na profundidade das criptas. O possível efeito antioxidante e anti-inflamatório dos tratamentos, reverteram esses parâmetros, reduzindo a altura das vilosidades, da mucosa e parede total, com exceção da profundidade da cripta no CQP e CR.

Introdução

Dentre os cânceres que mais afetam a população mundial, podemos destacar o câncer colorretal (CCR), a segunda neoplasia mais incidente no Brasil em ambos os sexos, com considerável taxa de mortalidade (INCA, 2020). O CCR acomete o intestino grosso, podendo atingir desde a região do cólon até o reto, motivo pelo qual recebe este nome. A dieta é o fator principal que aumenta os riscos de desenvolvimento do tumor, a exemplo de alimentação rica em carne vermelha, pobre em fibras e consumo de álcool (SIMON, 2016).

As consequências do desenvolvimento do câncer são sistêmicas, essa doença gera uma produção excessiva de espécies reativas e citocinas inflamatórias, gerando estresse oxidativo e inflamação. O estresse oxidativo, é um desequilíbrio entre a produção e a eliminação das espécies reativas do oxigênio (ERO), o qual pode favorecer o processo de carcinogênese, proporcionando a evolução progressiva das áreas de displasia focal a evoluírem posteriormente para neoplasia (SILVA; JASIULIONIS, 2014). Nesta perspectiva, substâncias antioxidantes têm sido estudadas para a prevenção e tratamento de diversos tipos

de câncer (ROHENKOHL et al., 2011). A quercetina é um exemplo de flavonoide, com propriedades anti-inflamatórias, antioxidantes, anticarcinogênicas, antivirais e antimicrobianas (TANG et al., 2020).

Além dos antioxidantes, os probióticos também apresentam papel na prevenção e tratamento do câncer. Os probióticos são microrganismos vivos os quais quando ingeridos ajudam a balancear a microbiota intestinal, os mais usados são do gênero *Lactobacillus* e *Bifidobacterium* (LIN et al., 2019). Como a quercetina, os probióticos também demonstraram ação antitumoral e antiproliferativa além de melhorar a barreira gastrointestinal e diminuir o dano do DNA mutado (YU; LI, 2016). Diante do exposto, esse trabalho teve por objetivo avaliar a morfometria da parede do íleo de ratos Wistar submetido ao câncer colorretal administrados com quercetina micro encapsulada e *Bifidobacterium animalis*.

Materiais e métodos

Neste estudo foram utilizados 30 ratos machos (Wistar), com 50 dias de idade, aleatoriamente distribuídos em 5 grupos (n=6): (C) Controle; Câncer Colorretal (CR); Câncer Colorretal Quercetina (CQ); Câncer Colorretal Quercetina Probiótico (CQP) e Câncer Colorretal Probiótico (CP). Todos os procedimentos foram realizados de acordo com os princípios éticos e sob aprovação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá, protocolo n° 1126010419.

A indução do CCR foi realizada com 1,2-dimetilhidrazina (DMH)(via intraperitoneal,40 m/Kg). Os tratamentos com quercetina micro encapsulada (10 mg/Kg) e probiótico *Bifidobacterium animalis* (5×10^7 UFC) foram realizados por gavagem diariamente. Após o período experimental de 112 dias, prontamente a celiotomia, foi retirado o segmento intestinal (íleo) destinado ao processamento histológico.

Processamento e análise das amostras

As amostras intestinais foram fixadas em formol tamponado 10%, incluídos em parafina e seccionados em cortes de 4 μ m e posteriormente corados com Hematoxilina e Eosina. A análise morfométrica foi realizada considerando 30 pontos da mucosa, 30 vilos e 30 criptas, bem orientados, por animal, em imagens aleatoriamente capturadas com objetiva de 10X. Os resultados foram submetidos à análise estatística por delineamento em blocos, seguido de teste de Fisher, utilizando o software Statistica 8.0. Os resultados foram expressos como média \pm erro padrão da média. O nível de significância adotado foi de 5%.

Resultados e Discussão

Nesse estudo evidenciamos que o grupo CR em relação ao grupo C, apresentou um aumento de 28% na altura do vilos, 15% na mucosa, 11% na parede total e uma diminuição de 11% na profundidade de cripta ($p < 0,0001$,

Tabela 1). Observando o tratamento com a quercetina (grupo CQ), houve um decréscimo de 15% na altura do vilô, 17% na mucosa, 18% na parede e 8% na profundidade de cripta, em comparação ao grupo doente (CQ vs CR; $p < 0,03$).

O tratamento com quercetina em associação com o probiótico, revelou uma diminuição de 9% na altura do vilô, 8% na mucosa e 5% na parede (CQP vs CR; $p < 0,004$), em contraste com a profundidade da cripta com um aumento de 16% ($p < 0,001$). Simultaneamente, o grupo tratado apenas com probiótico (CP) em paridade ao grupo doente (CR), demonstrou redução de 8% na altura do vilô, 5% na mucosa e 6% na parede ($p < 0,05$, Tabela 1), ao passo que não houveram diferenças significativas na profundidade de cripta.

Tabela 1 - Morfometria da mucosa do íleo dos grupos experimentais: (C) Controle, Câncer Colorretal (CR), Câncer Colorretal Quercetina (CQ), Câncer Colorretal Quercetina Probiótico (CQP) e Câncer Colorretal Probiótico (CP).

Parâmetros	C	CR	CQ	CQP	CP
Altura do vilô	158,35 ± 2,72	202,90 ± 3,61 ^a	171,85 ± 3,03 ^{bc}	185,02 ± 7,17 ^b	185,82 ± 3,99 ^b
Altura da mucosa	309,67 ± 2,64	357,10 ± 5,87 ^a	296,14 ± 4,48 ^{bc}	328,32 ± 5,03 ^b	339,12 ± 5,43 ^b
Altura da parede	387,22 ± 3,26	433,09 ± 6,89 ^a	355,31 ± 5,25 ^{bc}	410,09 ± 5,47 ^b	410,69 ± 6,5 ^{bc}
Profundidade de cripta	114,46 ± 2,85	98,47 ± 2,87 ^a	90,36 ± 2,34 ^{bc}	113,70 ± 2,90 ^b	98,84 ± 2,74 ^c

Valores expressos como média ± erro padrão da média. ^a = quando comparado ao grupo C ($p < 0,05$); ^b = quando comparado ao grupo CR ($p < 0,05$); ^c = quando comparado ao CQP ($p < 0,05$). n = 6.

A arquitetura da mucosa intestinal é mantida pela constante renovação epitelial. O Sistema Nervoso entérico, exerce funções diretas na mucosa e na proliferação celular epitelial, assim sendo, alterações neuronais ocasionadas pelo desenvolvimento do câncer (VICENTINI et al., 2016) pode ter refletido na arquitetura da mucosa, como observado nos animais doentes.

Possivelmente a ação antioxidante e anti-inflamatória da quercetina, atenuou os efeitos da doença sobre a inervação da mucosa, proporcionando melhor equilíbrio na renovação epitelial, o que também foi observado com a administração do probiótico. Outros estudos já relataram efeitos positivos da quercetina e do probiótico no tratamento do CCR (BENITO et al., 2021).

Conclusões

O desenvolvimento do CCR acarretou em alterações sistêmicas, afetando a morfometria da parede do íleo dos animais. O possível efeito antioxidante e anti-inflamatório dos tratamentos, atenuou essas alterações, evidenciando os efeitos benéficos da quercetina e do probiótico no CCR. Entretanto, mais estudos são

necessários para compreender melhor os efeitos da doença e dos tratamentos na mucosa do íleo.

Agradecimentos

Agradeço ao grupo do laboratório pelos ensinamentos, às minhas orientadoras e ao CNPq pela possibilidade de desenvolver esse projeto.

Referências

- BENITO, I. et al. Microencapsulated *Bifidobacterium bifidum* and *Lactobacillus gasseri* in combination with Quercetin inhibit colorectal cancer development in ApcMin/+ mice. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 9, p. 4906, 2021.
- CAMPOS, F. G. et al. Incidência de câncer colorretal em pacientes jovens. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 44, p. 208-215, 2017.
- BRASIL - ESTIMATIVA DOS CASOS NOVOS. **INCA. Instituto Nacional do Câncer**. TÍTULO da matéria. 05 de maio de 2020. Disponível em <<https://www.inca.gov.br/estimativa/estado-capital/brasil>>. Acesso em 31 de agosto de 2022.
- LIN, P. et al. Germinated brown rice combined with *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* inhibits colorectal carcinogenesis in rats. **Food science & nutrition**, v. 7, n. 1, p. 216-224, 2019.
- ROHENKOHL, C. C.; CARNIEL, A. P.; COLPO, E. Consumo de antioxidantes durante tratamento quimioterápico. **ABCD. Arquivos Brasileiros de Cirurgia Digestiva (São Paulo)**, v. 24, p. 107-112, 2011.
- SILVA, C. T. da; JASIULIONIS, M. G. Relação entre estresse oxidativo, alterações epigenéticas e câncer. **Ciência e cultura**, v. 66, n. 1, p. 38-42, 2014.
- SIMON, K. Colorectal cancer development and advances in screening. **Clinical interventions in aging**, v. 11, p. 967, 2016.
- TANG, S. et al. Pharmacological basis and new insights of quercetin action in respect to its anti-cancer effects. **Biomedicine & Pharmacotherapy**, v. 121, p. 109604, 2020.
- VICENTINI, G. E. et al. Experimental cancer cachexia changes neuron numbers and peptide levels in the intestine: partial protective effects after dietary supplementation with L-glutamine. **Plos one**, v. 11, n. 9, p. e0162998, 2016.
- YU, A; LI, L. The potential role of probiotics in cancer prevention and treatment. **Nutrition and cancer**, v. 68, n. 4, p. 535-544, 2016.