

AVALIAÇÃO DA DENSIDADE DE NEURÔNIOS MIOENTÉRICOS NITRÉRGICOS EM CAMUNDONGOS INDUZIDOS AO CARCINOMA COLORRETAL (C26)

Eduarda Barbieri Silva (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Lucas Sala Bellettini, Jacqueline Nelisis Zanoni (Orientadora). E-mail: jnzanoni@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências Biológicas, Maringá, PR.

Ciências Biológicas, Morfologia/ Histologia

Palavras-chave: Câncer; Caquexia; Sistema Nervoso Entérico.

RESUMO

Objetivo: Avaliar os neurônios nitrérgicos do plexo mioentérico imunorreativos a óxido nítrico sintetase (nNOS) no jejuno de camundongos com câncer no período pré-caquético e caquético. **Métodos:** Vinte e quatro animais com 42 dias foram distribuídos em 4 grupos experimentais: C7- Animais controle com 7 dias; PQ7- Animais pré –caquéticos com 7 dias; C14- Animais controle com 14 dias; Q14- Animais caquéticos com 14 dias. Os animais dos grupos PQ7 e Q14 sofreram inoculação de 1×10^6 células de carcinoma de cólon C26. Ao final do período experimental o jejuno foi coletado e processado segundo a técnica imunohistoquímica, para marcação de nNOS e posterior análise quantitativa. **Resultados:** Foi observado uma redução da densidade de neurônios imunorreativos a nNOS no plexo mioentérico: 15,49% (PQ7 vs C7, $p < 0,005$), 22,78% (Q14 vs C7, $p < 0,005$) e 21,73% (Q14 vs C14, $p < 0,005$). **Conclusão:** O desenvolvimento tumoral e a caquexia causaram alterações significativas na densidade dos neurônios imunorreativos a nNOS o que pode prejudicar o intestino e todo o funcionamento do trato gastrointestinal. Mais estudos são necessários para melhor compreensão dos mecanismos e alterações das subpopulações de neurônios entéricos nesse modelo.

INTRODUÇÃO

O desenvolvimento tumoral abrange uma variedade de acontecimentos e resulta de múltiplas causas. Atualmente, o câncer se demonstra como um problema de saúde pública que possui propensão a aumentar sua incidência, em âmbito global. Dentre esses vários tipos, o câncer de cólon e reto são indicados como o terceiro tipo mais comum nos seres humanos (TODAY Cancer, 2020). Com o desenvolvimento do câncer origina a caquexia. A síndrome de caquexia é constituída pela perda de

massa muscular esquelética, com perda ou não de tecido adiposo. Esse distúrbio está relacionado ao desenvolvimento e progressão de tumores, dentre seus diversos tipos, uma vez que promove a inflamação, proteólise, autofagia e lipólise dos tecidos afetados (BARACOS et al., 2018).

O sistema nervoso entérico (SNE) também pode ser afetado em decorrência da caquexia, podendo ter o controle da motilidade e secreção alterados. Desta forma o objetivo do trabalho foi avaliar o efeito da pré-caquexia e caquexia em camundongos induzidos experimentalmente ao câncer nos neurônios nitrérgicos do plexo mioentérico do jejuno de camundongos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos com animais foram realizados seguindo os princípios éticos da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA /UEL parecer 206/2018). Foram usados neste projeto 22 camundongos com 42 dias que foram distribuídos em 4 grupos experimentais: C7- Animais controle com 7 dias; PQ7- Animais pré – caquéticos com 7 dias; C14- Animais controle com 14 dias; Q14-Animais caquéticos com 14 dias. Os animais dos grupos PQ7 e Q14 sofreram inoculação de 1×10^6 células de carcinoma de cólon C26(ASSI Mohamed et al., 2016).

Após os períodos experimentais, os animais foram eutanasiados através da indução a choque hipovolêmico por punção cardíaca, sob a condução de anestésicos. O jejuno proximal foi coletados por celiotomia, e microdissecado para a realização da imunohistoquímica para neurônios do plexo mioentérico imunorreativos (IR) a nNOS. A quantificação foi realizada no plexo mioentérico em 30 campos microscópicos aleatórios por amostragem na região intermediária da circunferência intestinal, expressa em neurônios por cm^2 . Os resultados foram submetidos ao delineamento em blocos e pós teste de Fisher com nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi observado uma redução da densidade de neurônios imunorreativos a nNOS no plexo mioentérico: 15,49% (PQ7 vs C7, $p < 0,005$), 22,78% (Q14 vs C7, $p < 0,005$) e 21,73% (Q14 vs C14, $p < 0,005$) (Figura 1).

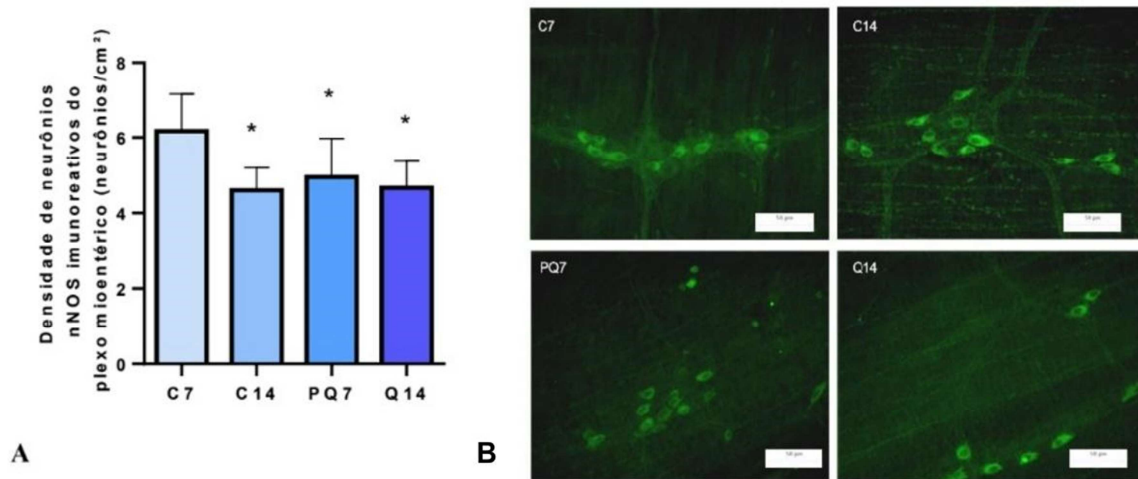


Figura 1 – A) Densidade dos neurônios nNOS imunoreativos do plexo mioentérico. B) Fotomicrografias de neurônios nNOS imunoreativos do plexo mioentérico. Grupos C7 - Animais controle com 7 dias; PQ7 - Animais pré – caquéticos com 7 dias; C14 - Animais controle com 14 dias; Q14 - Animais caquéticos com 14 dias. n= 5. * p , 0.005 quando comparado a C7. Barra de calibração; 50 μm.

No presente estudo, a subpopulação de neurônios nNOS-IR, apresentou alterações em sua densidade. Em ambos grupos estudados, grupo de camundongos pre-caquéticos (PQ7) e caquéticos (Q14), apresentaram redução na densidade de neurônios nitrérgicos de modo proporcional, não sendo afetado em relação ao curso da doença neste modelo experimental. A redução do número dessas células provavelmente ocorreu pelo desbalanço entre as defesas antioxidantes do organismo e os radicais livres (como as espécies reativas de oxigênio) liberados pelas reações catabólicas catalisadas pelo progresso tumoral, dessa maneira os neurônios foram provavelmente afetados. Os neurônios nitrérgicos do plexo mioentérico desempenham um papel crucial na manutenção da homeostasia intestinal, influenciando diretamente funções motoras, sensoriais e secretoras do trato gastrointestinal (FURNESS, 2006). A produção de óxido nítrico é de fundamental importância, visto que é um neurotransmissor essencial que regula a motilidade intestinal, o fluxo sanguíneo e a comunicação entre as células do plexo mioentérico (OLIVEIRA et al., 2023). Portanto, a redução dos neurônios nitrérgicos do plexo mioentérico altera a saúde intestinal, e sua disfunção pode contribuir para distúrbios gastrointestinais.

CONCLUSÕES

O desenvolvimento tumoral e a caquexia causaram alterações significativas tanto na quantidade quanto no tamanho dos neurônios imunorreativos a óxido nítrico sintetase (nNOS), o que pode prejudicar o intestino e todo o funcionamento do trato gastrointestinal. Diante disso, mais estudos são necessários para melhor compreensão dos mecanismos e alterações das subpopulações de neurônios entéricos nesse modelo.

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer à minha orientadora Profa. Dra. Jacqueline Nelisis Zanoni, pela oportunidade de poder fazer parte da equipe do laboratório de Plasticidade Neural Entérica. Agradeço também o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ), junto à Fundação Araucária, pelo incentivo financeiro direcionado a mim no decorrer do presente projeto.

REFERÊNCIAS

1. TODAY Cancer, 2022. Disponível em: <https://gco.iarc.fr/today>. Acesso em: 15 de agosto de 2024. OBSERVATORY, Global Cancer.
2. ASSI Mohamed et al. Antioxidant supplementation accelerates cachexia development by promoting tumor growth in C26 tumor-bearing mice. **Free Radic Biol Med**, v. 91, p.204-214, fev. 2016.
3. BARACOS, Vickie E. et al. Cancer-associated cachexia. **Nature Reviews Disease Primers**, v. 4, n.1, p. 1-18, jan. 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/nrdp2017105>. Acesso em: 15 de agosto de 2024.
4. FURNESS, JB. The enteric nervous system. Malden: Willey-Blackwell, 2006.
5. OLIVEIRA, Ana Paula et al. L-glutathione 1% promotes neuroprotection of nitroergic neurons and reduces the oxidative stress in the jejunum of rats with Walker-256-bearing tumor. **Neurogastroenterol Motil.**, v. 35, n. 12, p.1-13, dez. 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/nmo.14688>. Acesso em: 15 de agosto de 2024.