

AVALIAÇÃO DO GLICOGÊNIO RENAL DE RATOS WISTAR COM CARCINOGENESE COLORRETAL TRATADOS COM QUERCETINA MICROENCAPSULADA E *Bifidobacterium animalis*.

Maria Luiza Melo Sergio (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Juliana Vanessa Perles Colombo (Orientador). E-mail: jvcimperles@uem.br.

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

Área e subárea do conhecimento: Ciências Biológicas/Morfologia.

Palavras-chave: carcinogênese colorretal; glicogênio renal; probiótico.

RESUMO

O objetivo desse estudo foi avaliar as alterações do glicogênio renal de ratos Wistar induzidos quimicamente a Carcinogênese Colorretal (CCR) pela administração de 1,2-dimetilhidrazina (DMH) tratados com quercetina microencapsulada e *Bifidobacterium animalis*. Foram utilizados 40 ratos adultos da linhagem Wistar por um período experimental de 20 semanas. Ao final do período experimental, os animais foram eutanasiados e os rins coletados, corados pela técnica de PAS (Ácido Periódico de Schiff) e as análises foram feitas pela quantificação do glicogênio. Foi detectado uma diminuição do glicogênio no grupo induzido ao CCR, nos dois rins analisados, a quercetina microencapsulada potencializou esse efeito, enquanto que o probiótico apresentou efeito positivo, preservando a concentração do glicogênio renal.

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) se desenvolve a partir de uma cascata de modificações em genes reguladores do crescimento, levando à hiperproliferação celular, sendo que a principal mutação ocorre na via de sinalização celular APC (GOSS, K.H., GRODEN, J., 2000). A quercetina, com inúmeras funções bioquímicas e farmacológicas, possui várias vias que interagem para combater o câncer, sendo uma delas a via de sinalização APC (ABDOU, H., *et al*, 2022). Além dos fitoquímicos, os probióticos são outra classe de compostos que apresentam possíveis efeitos protetores e preventivos na composição da microbiota colônica e podem ter impacto na regulação epigenética do CCR (BARREIRA, A., *et al*, 2023). Em roedores, o CCR é induzido pela administração de 1,2-dimetilhidrazina (DMH), que é um agente pró-carcinógeno, o qual se desenvolve pelos mesmos mecanismos do CCR na patogênese humana (GOSS, K.H., GRODEN, J., 2000). Os rins, normalmente são afetados por ser o principal local de excreção de resíduos do organismo, além de ser um local onde ocorre a gliconeogênese servindo como fonte

de energia para as células renais e possível fonte de energia para o desenvolvimento do CCR (CERSOSIMO, E. 2004). Sendo assim, torna-se interessante um estudo que avalie a interação desses compostos em modelo animal de CCR e os possíveis efeitos sobre a síntese e armazenamento de glicogênio renal, a partir da coloração de rotina histológica com PAS.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos descritos neste estudo foram aprovados mediante certificado nº 1126010419, pelo Comitê de Conduta Ética no Uso de Animais em Experimentação (CEUA) da UEM. Foram utilizados 40 ratos adultos machos, da linhagem Wistar, divididos em 5 grupos (n=8): Controle (C), Carcinogênese Colorretal (CR, 2 injeções de DMH 40 mg/kg, ip por semana, por 2 semanas), Carcinogênese Colorretal Quercetina (CQ, 10 mg/Kg, v.o.), Carcinogênese Colorretal Probiótico (CP, 5×10^7 UFC, v.o.), Carcinogênese Colorretal Quercetina e Probiótico (CQP). Após o período experimental de 20 semanas, os animais foram eutanasiados e os rins coletados, fixados e incluídos em parafina para rotina histológica de PAS usando cortes semi seriados de 5 μ m de espessura. Foram obtidas imagens por microscopia óptica, para a mensuração da área (μm^2) ocupada por glicogênio corpuscular e extra-corpuscular. Por fim os resultados foram submetidos a análise estatística de delineamento em blocos com pós-teste de Fisher.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 observa-se que no gráfico A e B à uma diminuição significativa ($p < 0,0001$) na área avaliada no grupo CR em relação ao grupo C, entretanto, a área ocupada pelo glicogênio nos animais do grupo CP ficou significativamente ($p < 0,0001$) maior no que no grupo CR. No gráfico A, os animais do grupo CQ em comparação ao grupo CR, apresentaram uma área ocupada por glicogênio corpuscular significativamente ($p < 0,0001$) menor, e não houve diferença entre o grupo CQP em relação ao grupo CR. No gráfico B, não houve diferença entre o grupo CQ e CQP em relação ao grupo CR.

Ainda na figura 1, nos dois gráficos, C e D, foram observados diminuição significativa ($p < 0,0001$) da área ocupada por glicogênio no grupo CR em relação ao grupo C. Entretanto, nos animais dos grupos CP e CQP, apresentou uma maior área ocupada pelo glicogênio em comparação ao grupo CR. Não houve diferença entre o grupo CQ em relação ao grupo CR.

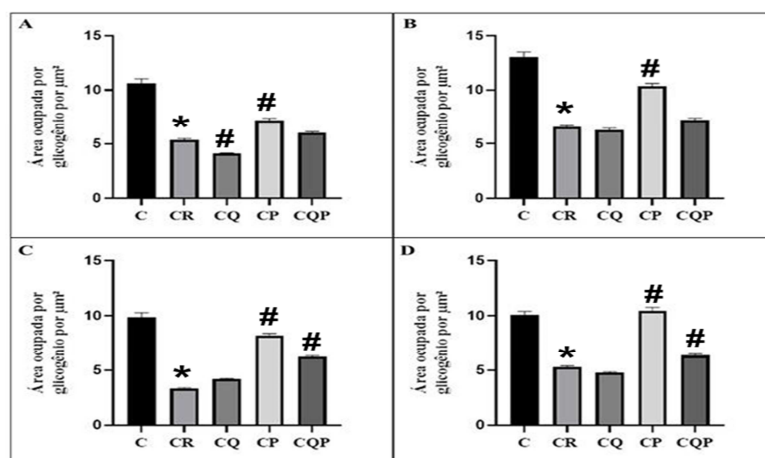


Figura 1- O gráfico **A** e **C** apresentam os resultados da área ocupada por glicogênio corpuscular por μm^2 ; enquanto o gráfico **B** e **D** apresentam os dados da área ocupada por glicogênio extra corpuscular por μm^2 , do rim esquerdo e direito de ratos Wistar, nos diferentes grupos avaliados, controle (C), carcinogênese colorretal (CR), carcinogênese colorretal tratada com quercetina (CQ), carcinogênese colorretal tratada com probiótico (CP), carcinogênese colorretal tratada com a associação de quercetina mais probiótico (CQP). * representa diferença significativa de $p < 0,0001$ do grupo CR em relação ao grupo C. # representa diferença significativa de $p < 0,0001$ dos grupos CQ, CP e CQP em relação ao grupo CR.

Em nosso estudo, no grupo CR induzido por DMH, houve um decréscimo do glicogênio renal, tanto corpuscular, quanto extra corpuscular, nos dois rins analisados, sugerindo um aumento do consumo pelas células renais e/ou diminuição de sua produção. Isso, pelo provável mecanismo de ação do CCR, que a partir de mutações na via de sinalização celular APC, atua sobre a enzima GSK-3 β , diminuindo a síntese do glicogênio (GOSS, K.H., GRODEN, J., 2000). Além disso, observamos, que o tratamento utilizando a quercetina não foi capaz de prevenir a evolução do CCR, possivelmente pela provável ação inibitória sob a enzima GSK-3 β , indo de encontro com um estudo que avaliou nefropatia diabética por meio da atenuação da GSK-3 β em ratos machos Wistar diabéticos, indicando que a quercetina (50 mg/kg/dia, v.o.) apresentou ação inibitória sob a enzima GSK-3 β , diminuindo a síntese de glicogênio no rim, favorecendo a melhora da doença (ABDOU, H., *et al*, 2022).

Contudo, em nosso estudo, a utilização do *Bifidobacterium animalis* subtipo *lactis*, demonstrou possível ação protetora e preventiva sob o CCR, provavelmente por inibir a ativação da via APC e impedir que a enzima GSK-3 β seja inativada. Dados parecidos foram encontrados, em um estudo que avaliou a quimioprevenção da *Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* (5×10^7 UFC/mL, v.o), em ratos Wistar, em lesões precursoras de CCR induzido por DMH, onde teve por ação, a redução da imunoexpressão da via Wnt/ β -catenina no grupo DMH + probiótico (BARREIRA, A., *et al*, 2023). E a associação dos tratamentos, demonstrou que prevaleceu a ação do probiótico, visto que o mesmo tentou recuperar o conteúdo de glicogênio que foi diminuído pela ação do CCR + quercetina. Estando de acordo com um estudo que avaliou a ação anti-inflamatória da *bifidobacterium* isolada e associada à quercetina

em cultura de células, onde o probiótico apresentou ação aumentada quando associada à quercetina (KAWABATA, K., *et al*, 2013).

CONCLUSÕES

Conclui-se que a indução do CCR por DMH, impactou a concentração de glicogênio presente nos rins, e a quercetina, exacerbou este efeito. Por outro lado, o probiótico apresentou efeitos positivos, tendo ação preventiva na concentração do glicogênio, tanto corpuscular como extra corpuscular.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à orientadora Juliana Vanessa Colombo e à coorientadora Carla Bernardo, pelo auxílio e aprendizado, ao CNPq pela concessão da bolsa e à Universidade Estadual de Maringá.

REFERÊNCIAS

ABDOU, H. M.; ELKADER H. A. E. The potential therapeutic effects of Trifolium alexandrinum extract, hesperetin and quercetin against diabetic nephropathy via attenuation of oxidative stress, inflammation, GSK-3 β and apoptosis in male rats. **Chem Biol Interact** v. 25, n. 352, p. 109781, 2022. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34922902/>. Acesso em: 24 ago. 2024.

BARREIRA, M., A., *et al*. Pterostilbene and Probiotic Complex in Chemoprevention of Putative Precursor Lesions for Colorectal Cancer in an Experimental Model of Intestinal Carcinogenesis with 1,2-Dimethylhydrazine. **Cancers (Basel)**, v. 21, n. 15, p. 2401, 2023. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/37190329/>. Acesso em: 24 ago. 2024.

CERSOSIMO, E. A Importância do Rim na Manutenção da Homeostase da Glicose: Aspectos Teóricos e Práticos do Controle da Glicemia em Pacientes Diabéticos Portadores de Insuficiência Renal. **J Bras Nefrol.**, p. 28-37. mar. 2004. Disponível em: https://bjnephrology.org/wp-content/uploads/2019/11/jbn_v26n1a05.pdf. Acesso em: 24 ago. 2024.

GOSS, K.H., GRODEN, J. Biology of the adenomatous polyposis coli tumor suppressor. **J Clin Oncol**, v. 18, n. 9, p. 1967-1979, 2000. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10784639/>. Acesso em: 24 ago 2024.

KAWABATA, K. *et al*. Flavonols enhanced production of anti-inflammatory substance(s) by Bifidobacterium adolescentis : Prebiotic actions of galangin, quercetin, and fisetin. **BioFactors**, v. 39, n. 4, p. 422–429, jul. 2013. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23554103/>. Acesso em: 24 ago. 2024.