

## **ANÁLISE DE VARICOSIDADES DE NEURÔNIOS IMUNOREATIVOS NO CÓLON DE CAMUNGONGOS INDUZIDOS AO CARCINOMA COLORRETAL C26 ADMINISTRADOS COM ÓLEO DE PEIXE**

Matheus Ferreira Zambonini (PIBIC/UEM), Mariana Rodrigues Sanches, Maysa Pacheco Alvarez da Silva, Jacqueline Nelisis Zanoni, Juliana Vanessa Colombo Martins Perles (Orientadora). E-mail: jvcmpertes@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Departamento de Ciências Morfológicas,  
Maringá, PR.

**Área e subárea do conhecimento:** Ciências Biológicas/ Morfologia e Histologia

**Palavras-chave:** caquexia; peptídeo vaso intestinal (VIP); imuno-histoquímica.

### **RESUMO**

O estudo investigou o impacto do câncer colorretal induzido por células de carcinoma de cólon C26 e a suplementação com óleo de peixe (OP) na morfometria das varicosidades imunorreativas ao peptídeo vasoativo intestinal (VIP) no plexo mioentérico de camundongos. Foram utilizados 15 camundongos machos, divididos em três grupos: controle, pré-caquético (PCQ), e pré-caquético suplementado com OP. A suplementação com OP foi administrada via gavagem durante 7 dias. Após a eutanásia, os cólons foram coletados e analisados por imunohistoquímica. Os resultados mostraram um aumento de 3,42% na morfometria das varicosidades imunorreativas a VIP no grupo PCQ em comparação ao controle, enquanto o grupo suplementado com OP apresentou uma redução de 23,94%. A redução pode estar associada ao impacto sistêmico do câncer e aos efeitos anti-inflamatórios e antioxidantes do OP. Conclui-se que o câncer afeta a estrutura neuronal, e o OP pode modular essas alterações, sugerindo a necessidade de estudos adicionais para melhor compreensão dos seus efeitos no contexto da caquexia associada ao câncer colorretal.

### **INTRODUÇÃO**

O carcinoma de cólon C26 murino é um modelo experimental amplamente utilizado para estudar a caquexia associada ao câncer colorretal. Nesse modelo, a atrofia muscular é acelerada devido ao aumento do catabolismo de proteínas e hipoanabolismo, resultando em significativa redução da massa muscular. Este

modelo permite comparações entre estudos e amplia a compreensão dos mecanismos envolvidos na caquexia relacionada ao câncer (BALLARÓ *et al.*, 2016). Estudos demonstram que a caquexia induzida pelo tumor de Walker-256 em ratos afeta a homeostase intestinal e a absorção de nutrientes, simulando as mudanças metabólicas observadas em humanos e sendo útil para estudar a fisiopatologia do câncer (MARTINS *et al.*, 2016).

O peptídeo vasoativo intestinal (VIP) é crucial para identificar neurônios no sistema nervoso entérico (SNE) e possui papéis na regulação do crescimento celular e neuroproteção. A caquexia associada ao câncer afeta a estrutura do SNE, e o VIP tem propriedades anti-inflamatórias importantes, sendo fundamental para entender as alterações intestinais durante a caquexia (EKBLAD *et al.*, 2004).

Os ácidos graxos poliinsaturados N-3 (ômega-3) no óleo de peixe (OP) têm efeitos imunomoduladores e anti-inflamatórios, reduzindo a produção de IL-6 e proteínas C reativas. O ácido eicosapentaenoico (EPA), um ômega-3 natural, mostra propriedades antioxidantes em pacientes com câncer gastrointestinal, embora os benefícios do OP para nutrição e prognóstico ainda sejam debatidos (SHIRAI *et al.*, 2017).

## MATERIAIS E MÉTODOS

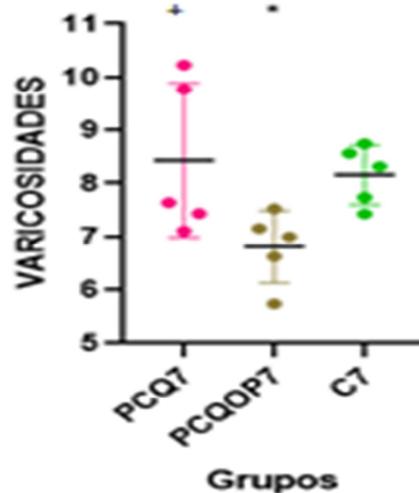
Foram utilizados 15 camundongos machos adultos, divididos aleatoriamente em 3 grupos (n=5): controle 7 dias (C7), pré-caquético (PCQ), e pré-caquético suplementado com óleo de peixe (PCQOP) (CEUA/UUEL: nº 18592.2018.87).

Os animais dos grupos PCQ e PCQOP passaram pela indução do tumor pela inoculação subcutânea na região dorsal de uma suspensão de células de carcinoma de cólon C26, contendo  $1,0 \times 10^6$  células viáveis em 250  $\mu$ L de solução salina estéril. Os animais do grupo C7 foram inoculados com 250  $\mu$ L de solução salina estéril no mesmo local. Três dias após a inoculação, os animais do grupo PCQOP receberam suplementação diária de óleo de peixe (1,25 mg/kg) por via gavagem durante 7 dias. Após o período experimental, os animais foram submetidos à eutanásia com anestesia intraperitoneal utilizando quetamina (100 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg). Os segmentos do cólon foram coletados e fixados em paraformoldeído por 18 horas, posteriormente foram microdissecados para obtenção de preparados totais de membrana, para a realização das técnicas de imuno-histoquímica para evidenciação de varicosidades imunorreativas a VIP. As imagens das varicosidades foram capturadas com objetiva de 40x e foram realizadas 2000 mensurações por grupo totalizando 6000 medições. As áreas das varicosidades foram analisadas com o auxílio do software Image Pro Plus® 4.5 (Media Cybernetics; Rockville, USA) e

expressas em  $\mu\text{m}^2$ . Foi realizada a análise de delineamento em blocos, seguido de Teste de Fisher, com nível de significância adotado de 5%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 é possível observar os resultados da mensuração da área das varicosidades VIPérgicas dos diferentes grupos estudados.



**Figura 1** – Gráfico demonstrando a área das varicosidades imunorreativas a VIP no plexo mioentérico dos grupos estudados: controle 7 dias (C7), pré-caquético inoculados com tumor C26 (PCQ), e pré-caquético inoculado com tumor C26 suplementado com óleo de peixe (1,25 mg/kg) (PCQOP). \* =  $p < 0,05$  em relação ao grupo C7. + = significância em comparação a PCQOP.

Ao comparar os grupos, observou-se um aumento de 3,42% no tamanho das varicosidades reativas no grupo PCQ em relação ao controle. No entanto, o grupo suplementado com óleo de peixe (PCQOP) apresentou uma redução de 23,94% no tamanho dessas varicosidades. A administração de células tumorais C26 levou a um aumento na área das varicosidades vipérgicas, mas a suplementação com óleo de peixe reduziu as áreas das varicosidades imunorreativas a VIP, o aumento das varicosidades vipérgicas também foram observadas em modelo de animal semelhante, de caquexia por inoculação tumor de Walker-256, em ratos por um período experimental de 14 dias (SESTAK *et al*, 2024). Esses efeitos podem ser decorrentes de danos sistêmicos causados pelo carcinoma, como inflamação,

caquexia ou estresse oxidativo. Estudos adicionais são necessários para compreender melhor os efeitos do óleo de peixe no cólon.

## CONCLUSÕES

Foi observado o efeito do câncer na varicosidades de neurônios nos animais induzidos ao carcinoma. A administração de óleo de peixe demonstrou, a princípio, alterações nos animais do grupo administrados com a substância. Porém, com base nesses resultados, serão realizados novos estudos para melhor compreensão visando o entendimento do impacto do câncer colorretal e da administração com óleo de peixe.

## AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá pelo fomento da bolsa.

## REFERÊNCIAS

BALLARÒ R, et al. Animal models for cancer cachexia. **Current Opinion in Supportive and Palliative Care**, 10:281–287, 2016.

EKBLAD, E.; BAUER, A. J. Role of vasoactive intestinal peptide and inflammatory mediators in enteric neuronal plasticity. *Neurogastroenterology and motility*, V. 16, N. S1, P. 123–128, ABR. 2004.

MARTINS, H. A. et al. Supplementation with l-glutamine prevents tumor growth and cancer-induced cachexia as well as restores cell proliferation of intestinal mucosa of Walker-256 tumor-bearing rats. **Amino Acids**, v. 48, n. 12, p. 2773–2784, 1 dez. 2016.

SHIRAI, Yumiko et al. Nutrição enriquecida com óleo de peixe combinada com quimioterapia sistêmica para pacientes com câncer gastrointestinal com caquexia por câncer. *Relatórios Científicos*, v. 7, n. 1, pág. 1-9, 2017.

SESTAK, Sabrina Silva et al. Effects of cancer-induced cachexia and administration of l-glutathione on the intestinal mucosa in rat. **Amino Acids**, v. 56, n. 1, p. 1-14, 2024.