ANÁLISE QUANTITATIVA DE CÉLULAS CALICIFORMES SECRETORAS DE MUCO NEUTRO NO JEJUNO DE CAMUNDONGOS INOCULADOS SUBCUTANEAMENTE COM CÉLULAS DE CARCINOMA COLORRETAL E TRATADAS COM CANABIDIOL

Ellen Ferreira dos Santos Silva (PIC/UEM), Lucas Sala Bellettini (CCM/UEM), Henrique Cazanti Sona (CCM/UEM), Juliana Vanessa Colombo Martins Perles (Orientadora). E-mail: ra134685@uem.br.

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

Ciências Biológicas, Morfologia e Histologia

Palavras-chave: Câncer; Canabinóide; Barreira Intestinal

RESUMO

O câncer pode promover alterações sistêmicas e inflamatórias que comprometem o trato gastrointestinal. As células caliciformes, por meio da produção de mucinas, contribuem para a manutenção da barreira e homeostase intestinal. Este estudo avaliou os efeitos do desenvolvimento do câncer e do tratamento com canabidiol (CBD), na dose de 2,5 mg/kg, sobre células caliciformes produtoras de mucinas neutras na mucosa jejunal de camundongos BALB/c. Foram utilizados 30 animais, distribuídos em seis grupos (n=6), correspondentes aos períodos de pré-caquexia e caquexia, aos 7 e 14 dias. O CBD foi administrado diariamente por gavagem a partir do terceiro dia após a inoculação subcutânea de células de carcinoma de cólon C26. O jejuno foi coletado, processado histologicamente e corado pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS), sendo quantificadas as células caliciformes em 30 vilosidades por animal. Foram observadas diferenças significativas entre a maioria dos grupos, com tendência de aumento da população celular ao longo dos períodos avaliados. Não houve diferença entre C7 e C14, nem entre Q14 e PQC7. O tratamento com CBD não apresentou efeito evidente sobre a população de células caliciformes. Conclui-se que o desenvolvimento tumoral esteve associado a alterações nessas células, possivelmente relacionadas à progressão de processos inflamatórios e imunológicos.

INTRODUÇÃO

O câncer constitui um importante problema de saúde pública mundial, caracterizado pelo crescimento celular descontrolado decorrente do acúmulo de alterações genéticas e epigenéticas que favorecem a progressão tumoral e a invasão de tecidos (NABI; LE, 2018). Além das alterações locais, o desenvolvimento tumoral pode provocar alterações metabólicas e inflamatórias sistêmicas, entre as

quais se destaca a caquexia associada ao câncer. Essa síndrome é caracterizada principalmente pela perda progressiva de massa muscular, podendo estar acompanhada da redução de tecido adiposo, sendo influenciada pela diminuição da ingestão alimentar, aumento do gasto energético, catabolismo e inflamação. A caquexia está associada à piora da qualidade de vida e ao aumento da morbimortalidade em pacientes oncológicos (BARACOS, 2018).

Entre os modelos experimentais utilizados para o estudo da caquexia, destaca-se a inoculação de células de adenocarcinoma de cólon 26 (C26) em camundongos, modelo capaz de reproduzir alterações metabólicas e inflamatórias associadas à progressão tumoral (AULINO et al., 2010). Essas alterações podem repercutir sobre o trato gastrointestinal, comprometendo sua homeostase e suas funções fisiológicas.

Nesse contexto, as células caliciformes desempenham papel fundamental na manutenção da integridade intestinal por meio da produção de mucinas, componentes essenciais da camada de muco que atua como barreira protetora contra agentes potencialmente lesivos e contribui para a interação adequada com a microbiota intestinal. Alterações na quantidade ou na atividade dessas células podem ocorrer em condições inflamatórias e em diferentes processos que comprometem a homeostase intestinal (ALI, 2020).

Diante da necessidade de novas estratégias terapêuticas para o câncer e suas complicações, o canabidiol (CBD), um dos principais compostos não psicoativos da Cannabis sativa, tem sido investigado devido aos seus potenciais efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e antitumorais. Sua atuação sobre diferentes mecanismos celulares e imunológicos torna o CBD uma alternativa de interesse no estudo das alterações associadas à progressão tumoral.

Assim, o presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos do desenvolvimento do câncer, induzido pela inoculação subcutânea de células C26, e do tratamento com CBD, na dose de 2,5 mg/kg, sobre a população de células caliciformes produtoras de mucinas neutras na mucosa jejunal de camundongos BALB/c.

MATERIAIS E MÉTODOS

O estudo foi realizado em parceria com o Laboratório de Fisiopatologia e Adaptações Musculares (LAFAM) da Universidade Estadual de Londrina (UEL), sob aprovação da CEUA/UEL (18592.2018.87). Foram utilizados 30 camundongos BALB/c machos, distribuídos em seis grupos (n=5): controle 7 dias (C7), controle 14 dias (C14), pré-caquético 7 dias (PQ7), caquético 14 dias (Q14), pré-caquético tratado com CBD 7 dias (CB7) e caquético tratado com CBD 14 dias (CB14). Os grupos PQ7, Q14, CB7 e CB14 receberam inoculação subcutânea de 1×10^6 células de carcinoma de cólon C26, enquanto os controles receberam solução salina estéril.

A partir do terceiro dia após a inoculação, os grupos CB7 e CB14 receberam CBD (2,5 mg/kg) diariamente por gavagem até o final do protocolo. Ao término dos

períodos experimentais, os animais foram anestesiados e o jejuno foi coletado, lavado, fixado em formol tamponado a 10% e processado para inclusão em parafina.

Foram obtidos cortes histológicos de 5 µm, posteriormente submetidos à coloração pelo Ácido Periódico de Schiff (PAS), que evidencia células caliciformes produtoras de mucinas neutras. A quantificação foi realizada por microscopia óptica, considerando 30 vilosidades intestinais por animal, com objetiva de 40×. Os resultados foram analisados pelo software Statistica® 8.0, utilizando análise de delineamento em blocos seguida pelo teste de Fisher, adotando-se nível de significância de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise estatística demonstrou diferenças significativas na quantificação de células caliciformes entre os grupos experimentais comparados (FIGURA 1). Observou-se aumento de 24,1% em PQ7 (vs C7, p<0,005), 65,8% em Q14 (vs C14, p<0,005), 32,9% em PQC7 (vs PQ7, p<0,005) e 18,2% em QC14 (vs Q14, p<0,005).

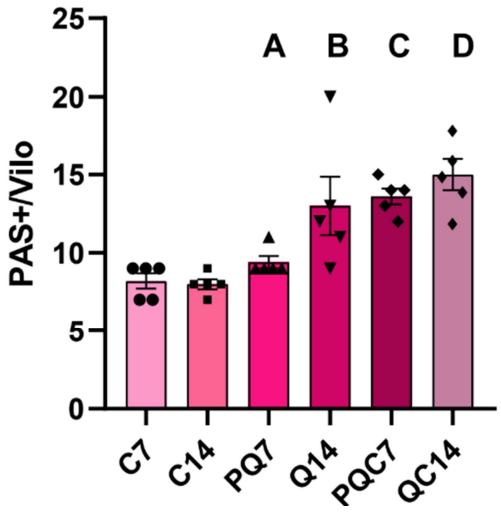


Figura 1 - Resultado da quantificação das células PAS+/vilo. A: comparação com C7, B: comparação com C14, C: comparação com PQ7, D: comparação com Q14.

O modelo experimental de câncer utilizando células de adenocarcinoma de cólon C26 em camundongos é amplamente empregado no estudo da caquexia associada ao câncer, sendo capaz de reproduzir alterações sistêmicas relacionadas à progressão tumoral, como inflamação e perda de massa corporal (AULINO et al., 2010). No presente estudo, observou-se aumento progressivo na quantidade de células caliciformes entre os grupos experimentais, sugerindo alterações na mucosa jejunal associadas ao desenvolvimento tumoral.

As células caliciformes são responsáveis pela produção de mucinas, componentes fundamentais da camada de muco intestinal e importantes para a proteção do epitélio e manutenção da homeostase da mucosa. Sua proliferação,

diferenciação e atividade secretória podem ser influenciadas por alterações no ambiente inflamatório, resultando em modificações na quantidade dessas células e na produção de muco (BIRCHENOUGH et al., 2015). Dessa forma, o aumento observado no presente estudo pode estar relacionado às alterações inflamatórias desencadeadas pela progressão do câncer, constituindo uma possível resposta adaptativa da mucosa intestinal à condição tumoral.

Em relação ao tratamento, a administração de CBD na dose de 2,5 mg/kg não promoveu redução evidente na população de células caliciformes quando comparada aos respectivos grupos não tratados. Assim, embora o canabidiol apresente propriedades anti-inflamatórias descritas na literatura, os resultados obtidos não demonstraram efeito modulador evidente sobre as alterações das células caliciformes nas condições experimentais avaliadas. A ausência de efeito pode estar relacionada à dose utilizada, ao período de tratamento ou à própria complexidade da resposta inflamatória associada à progressão tumoral.

CONCLUSÕES

Conclui-se que o desenvolvimento tumoral esteve associado ao aumento da população de células caliciformes produtoras de mucinas neutras na mucosa jejunal. Entretanto, o tratamento com CBD, na dose e no protocolo utilizados, não apresentou efeito modulador evidente. Estudos adicionais são necessários para esclarecer os mecanismos envolvidos nessas alterações e os possíveis efeitos do CBD sobre a mucosa intestinal.

REFERÊNCIAS

ALI, A.; TAN, H.; KAIKO, G. E. **Role of the intestinal epithelium and its interaction with the microbiota in food allergy**. Frontiers in Immunology, v. 11, 2020.

AULINO, P. et al. **Molecular, cellular and physiological characterization of the cancer cachexia-inducing C26 colon carcinoma in mouse**. BMC Cancer, v. 10, 2010.

BARACOS, V. E. et al. **Cancer-associated cachexia**. Nature Reviews Disease Primers, v. 4, n. 1, p. 1-18, 2018.

BIRCHENOUGH, G. M. H. et al. **New developments in goblet cell mucus secretion and function**. Mucosal Immunology, v. 8, n. 4, p. 712-719, 2015.

NABI, K.; LE, A. **The intratumoral heterogeneity of cancer metabolism**. Advances in Experimental Medicine and Biology, v. 1063, p. 131-145, 2018.