

A INFLUÊNCIA DO ENVELHECIMENTO NO COMPORTAMENTO TIPO-ANSIOSO INDUZIDO PELA OXALIPLATINA EM CAMUNDONGOS: INVESTIGAÇÃO DA VIA DO BDNF

JAINI JANKE PALTIAN¹; ANGÉLICA SCHIAVOM DOS REIS²; WILLIAM DOMINGUES³; VINÍCIUS FARIAS CAMPOS⁴; CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – jaini_paltian@hotmail.com; ²Universidade Federal de Pelotas – ge_schiavon@hotmail.com; ³Universidade Federal de Pelotas – williamwwe@yahoo.com.br; ⁴Universidade Federal de Pelotas – fariascampos@gmail.com; ⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com (coorientadora); ⁶Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora)

1. INTRODUÇÃO

O câncer é considerado um problema de saúde pública mundial, principalmente nos países desenvolvidos. Em 2020, mais de 19 milhões de novos casos e aproximadamente 10 milhões de mortes em decorrência do câncer foram registradas em todo o mundo (SUNG, 2021). A quimioterapia continua sendo uma das principais opções para o tratamento do câncer. Entretanto, apesar da eficácia destes fármacos, a quimioterapia é frequentemente acompanhada de efeitos adversos que dificultam a adesão do paciente ao tratamento, e com isso gera impactos negativos na qualidade de vida e nas funções físicas e emocionais dos pacientes com câncer (JEAN; SYRJALA, 2017). Assim, nota-se que tanto o diagnóstico quanto o tratamento do câncer tornam-se situações angustiantes para o paciente e isso, contribui para o surgimento de sinais clínicos de ansiedade.

Outro aspecto importante a ser destacado é o envelhecimento populacional, pois evidências sugerem que doenças oncológicas têm sido muito mais recorrentes em idosos porque estão relacionadas ao envelhecimento das células e à falta de proteção hormonal, características da idade avançada. Foi estimado que no ano de 2020, o câncer de colorretal foi o terceiro (cerca de 12%) de maior prevalência em pacientes com 60 anos ou mais (SUNG, 2021). O fármaco de primeira linha indicado para combater o câncer de colorretal é a oxaliplatina (OXA), um quimioterápico derivado da platina (NICHETTI et al. 2019).

O tratamento com a OXA é conhecido por induzir efeitos adversos que incluem neuropatia periférica e neurotoxicidade (STAFF et al. 2019). Assim, os prejuízos emocionais induzidos por esse quimioterápico são frequentemente observados nos pacientes em tratamento. Entretanto, pouco se sabe a respeito de como o envelhecimento pode influenciar nesse tipo de déficit. Compreender o papel da idade nessa condição associada ao tratamento com a OXA torna-se cada vez mais relevante uma vez que, com o aumento da população idosa faz-se necessária a implementação de políticas públicas específicas que visem ampliar a capacitação para o cuidado onco geriátrico. Diante disso, o objetivo do estudo foi elucidar a influência do envelhecimento no comportamento tipo-ansioso induzido pelo tratamento com a OXA em camundongos. Adicionalmente, a via do fator neurotrófico derivado do cérebro (do inglês, *Brain-Derived Neurotrophic Factor*, BDNF) foi investigada, a fim de elucidar os possíveis mecanismos envolvidos neste processo e identificar novos alvos farmacológicos considerando as especificidades destes pacientes.

2. METODOLOGIA

Para o desenvolvimento deste estudo foram utilizados camundongos machos, jovens (2 meses) e velhos (20 meses), da raça Swiss. Todos os experimentos foram conduzidos de acordo com as normas preconizadas pela Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEAA 4506-2017).

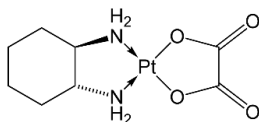


Figura 1. Estrutura química da OXA.

Para investigar o papel do envelhecimento no comportamento tipo-ansioso induzido pela OXA (Figura 1), os camundongos foram divididos em quatro grupos experimentais: **I)** Jovem; **II)** Jovem+OXA; **III)** Velho; **IV)** Velho+OXA. Nos dias 0 e 2 do protocolo experimental, os camundongos receberam OXA (10 mg/kg) ou soro glicosado (10 ml/kg) por via intraperitoneal. O protocolo experimental transcorreu durante 15 dias. No último dia do protocolo (dia 15) foi avaliado o comportamento tipo-ansioso dos animais, por meio do teste do labirinto em cruz elevada (LCE). Esse teste consiste em avaliar durante 5 minutos o número de entradas e o tempo de permanência dos animais nos braços abertos do aparato (PELLOW et al. 1985). Adicionalmente, o teste do campo aberto foi realizado a fim de descartar resultados falso-positivos no teste anteriormente citado (WALSH; CUMMINS, 1976). Após os testes comportamentais, os animais foram submetidos à eutanásia, e amostras de córtex cerebral e hipocampo foram coletadas para a quantificação dos níveis de expressão gênica pela técnica de reação em cadeia da polimerase quantitativa em tempo real (qRT-PCR). Os resultados obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Os dados foram avaliados através da análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo teste de Tukey. Os resultados com $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo, foi demonstrado que o envelhecimento *per se* causou comportamento tipo-ansioso nos camundongos, e isso pode ser observado pela redução das entradas (Figura 2A) e do tempo gasto (Figura 2B) nos braços abertos no teste do LCE. Curiosamente, o tratamento com OXA (10 mg/kg) exacerbou esse comportamento nos camundongos envelhecidos. De forma importante, destacamos que os animais envelhecidos que receberam a OXA demonstraram comportamento tipo-ansioso acentuado em relação ao grupo jovem tratado com a OXA. Diante disso, é possível sugerir que o envelhecimento pode ser um agravante nas doenças de cunho emocional ocasionadas pelo tratamento com o quimioterápico OXA. Ademais, nós relatamos que o envelhecimento e o tratamento com a OXA (10 mg/kg) não alterou o comportamento exploratório e a capacidade locomotora dos animais no teste do campo aberto (dados não demonstrados).

Diante dos resultados obtidos no teste do LCE, foram realizadas análises *ex-vivo* com o objetivo de ampliar a compreensão dos mecanismos fisiopatológicos envolvidos no comportamento tipo-ansioso induzido pela OXA, bem como, investigar as peculiaridades dessa condição relacionada ao envelhecimento. Sendo assim, foi investigada a via do BDNF, uma importante via envolvida no processo de neurogênese.

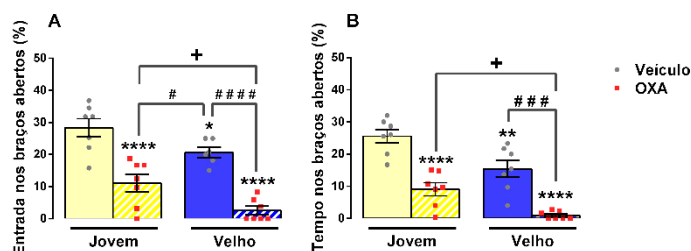


Figura 2. Efeito da OXA nos parâmetros comportamentais avaliados no teste do LCE em camundongos jovem e velhos. (A) Porcentagem de entradas nos braços abertos; (B) Porcentagem de tempo gasto nos braços abertos. (*) $P < 0,05$; (**) $P < 0,01$ e (****) $P < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo Jovem. (#) $P < 0,05$; (###) $P < 0,001$ e (####) $P < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo Velho. (+) $P < 0,05$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo Jovem+OXA.

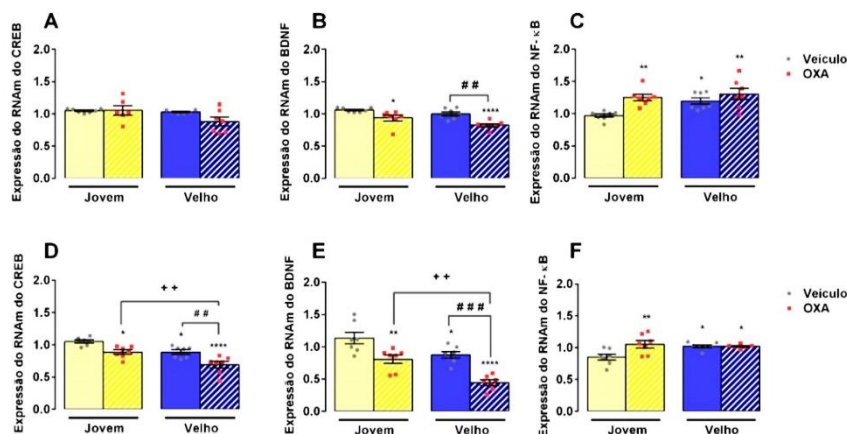


Figura 3. Efeito da OXA nos níveis de expressão das proteínas (A e D) CREB, (B e E) BDNF e (C e F) NF-κB no hipocampo (A, B e C) e córtex cerebral (D, E e F) de camundongos jovem e velhos. (*) $P < 0,05$; (**) $P < 0,01$ e (****) $P < 0,0001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo controle Jovem. (##) $P < 0,01$ e (###) $P < 0,001$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo controle Velho. (++) $P < 0,01$ indicam níveis de significância quando comparado ao grupo Jovem+OXA.

Os resultados obtidos demonstraram que os animais envelhecidos apresentaram uma diminuição na expressão do RNAm da proteína de ligação responsiva ao AMPc (CREB) e BDNF no córtex cerebral (Figura 3D e 3E) mas não no hipocampo (Figura 3A e 3B) dos camundongos. O envelhecimento também influenciou a expressão do fator nuclear kappa B (NF-κB), aumentando seus níveis tanto no hipocampo (Figura 3C) quanto no córtex cerebral (Figura 3F) dos camundongos. De forma interessante, o tratamento com a OXA reduziu os níveis de CREB no córtex cerebral (Figura 3D), e os níveis de BDNF no hipocampo (Figura 3B) e no córtex cerebral (Figura 3E) dos camundongos jovens e velhos, quando comparados ao grupo controle Jovem. É importante destacar que os camundongos do grupo Velho+OXA apresentaram redução nos níveis de expressão de CREB no córtex cerebral, e de BDNF no hipocampo e córtex cerebral em relação ao grupo controle Velho. Ainda, de forma importante os resultados demonstraram que os animais envelhecidos que receberam a OXA tiveram uma diminuição mais intensa na expressão das proteínas CREB e BDNF no córtex cerebral (Figura 3D e 3E) em comparação ao grupo Jovem+OXA. Diante dos resultados obtidos podemos sugerir

que os níveis reduzidos de BDNF causados pelo tratamento com a OXA e envelhecimento estão relacionados com o comportamento tipo-ansioso acentuado nesse grupo de animais. Ademais, o tratamento com a OXA aumentou a expressão de NF- κ B em ambas as estruturas cerebrais (Figura 3C e 3F) dos camundongos jovens e velhos, quando comparado com o grupo controle Jovem. Entretanto, nesse caso o fator idade não influenciou a expressão do NF- κ B em ambas as estruturas cerebrais dos camundongos tratados com a OXA. Recentemente, demonstramos que o estresse oxidativo está intimamente envolvido na toxicidade causada pela OXA (REIS et al. 2020). Paralelamente, a via de sinalização do NF- κ B é ativada pela produção excessiva de espécies reativas (WANG et al. 2019). Dessa forma, o aumento significativo nos níveis da expressão dessa proteína, pode estar associado ao dano oxidativo causado tanto pelo tratamento com a OXA quanto pelo processo de envelhecimento.

4. CONCLUSÕES

Baseado nas evidências apresentadas nesse estudo, pode-se inferir que mecanismos relacionados ao envelhecimento aumentaram o comportamento tipo-ansioso induzido pela OXA. Ainda, sugere-se que a via do BDNF pode ser um alvo promissor para a busca de novos tratamentos que consideram a especificidade desses pacientes tratados com a OXA.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- JEAN, C.Y.; SYRJALA, K.L. Anxiety and depression in cancer survivors. **Medical Clinics**, v. 101, n. 6, p. 1099-1113, 2017.
- NICHETTI, F.; FALVELLA, F.S.; MICELI, R.; CHELI, S.; GAETANO, R.; FUCÀ, G.; INFANTE, G.; MARTINETTI, A.; ANTONIOTTI, C.; FALCONE, A.; DI BARTOLOMEO, M.; CREMOLINI, C.; de BRAUD, F.; PIETRANTONIO, F. Is a pharmacogenomic panel useful to estimate the risk of oxaliplatin-related neurotoxicity in colorectal cancer patients? **The Pharmacogenomics Journal**, v. 19, n. 5, p. 465-472, 2019.
- PELLOW, S.; FILE, S.E. Anxiolytic and anxiogenic drug effects on exploratory activity in an elevated plus-maze: a novel test of anxiety in the rat. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v. 24, n. 3, p. 525-529, 1986.
- REIS, A.S.; PALTIAN, J.J.; DOMINGUES, W.B.; NOVO, D.L.; COSTA, G.P.; ALVES, D.; CAMPOS, V.F.; MESKO, M.F.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. Advances in the Understanding of Oxaliplatin-Induced Peripheral Neuropathy in Mice: 7-Chloro-4-(Phenylselanyl) Quinoline as a Promising Therapeutic Agent. **Molecular Neurobiology**, v. 57, n. 12, p. 5219-5234, 2020.
- STAFF, N.P.; CAVALETTI, G.; ISLAM, B.; LUSTBERG, M.; PSIMARAS, D.; TAMBURIN, S. Platinum-induced peripheral neurotoxicity: from pathogenesis to treatment. **Journal of the Peripheral Nervous System**, v. 24, p. S26-S39, 2019.
- SUNG, H.; FERLAY, J.; SIEGEL, R.; LAVERSANNE, M.; SOERJOMATARAM, I.; JEMAL, A.; BRAY, F. Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 71, n.3, p. 209-249, 2021.
- WALSH, R.N.; CUMMINS, R.A. The open-field test: a critical review. **Psychological Bulletin**, v. 83, n. 3, p. 482, 1976.
- WANG, Y.; WANG, L.; WEN, X.; HAO, D.; ZHANG, N.; HE, G.; JIANG, X. NF- κ B signaling in skin aging. **Mechanisms of ageing and development**, v. 184, p. 111160, 2019.