

DÉFICIT COGNITIVO CAUSADO PELA OXALIPLATINA NÃO É ALTERADO PELO ENVELHECIMENTO EM CAMUNDONGOS

BRUNA WEEGE DA SILVEIRA MARTINS¹; JAINI JANKE PALTIAN²;
ANGÉLICA SCHIAVOM DOS REIS³; WILLIAM DOMINGUES⁴;
CRISTIANE LUCHESE⁵; ETHEL ANTUNES WILHELM⁶

¹Universidade Federal de Pelotas – brunaweege111@gmail.com;

²Universidade Federal de Pelotas – jaini_paltian@hotmail.com;

³Universidade Federal de Pelotas – ge_schiavon@hotmail.com;

⁴Universidade Federal de Pelotas – williamwwe@yahoo.com.br;

⁵Universidade Federal de Pelotas – cristiane_luchese@yahoo.com.br;

⁶Universidade Federal de Pelotas – ethelwilhelm@yahoo.com.br (orientadora).

1. INTRODUÇÃO

De acordo com o Instituto Nacional de Câncer (INCA), o Brasil deverá registrar 625 mil novos casos de câncer a cada ano do triênio 2020-2022, sendo o câncer de colorretal (CCR) o segundo em incidência, em ambos os sexos. Nesse cenário, a oxaliplatina (OXA) é um fármaco quimioterápico, amplamente prescrito no tratamento do CCR. Contudo, medicamentos derivados da platina são conhecidos por induzirem efeitos adversos, incluindo neuropatia periférica, inflamação sistêmica, prejuízos emocionais e cognitivos (NICHETTI et al. 2019; REIS et al. 2020).

O déficit cognitivo é uma das consequências da utilização de inúmeros fármacos quimioterápicos. Os possíveis mecanismos pelos quais a quimioterapia provoca prejuízo cognitivo envolvem danos ao DNA, regulação das citocinas, reparo neural, desregulação de neurotransmissores, e alteração nos níveis de hormônios estrógeno e testosterona (AHLES et al. 2007; UNTURA et al. 2012). Funções cognitivas prejudicadas como memória e raciocínio, em conjunto com outros efeitos adversos causados por esse tratamento, reduzem a adesão do paciente oncológico ao tratamento, e sua qualidade de vida.

Somando-se a isso, o envelhecimento populacional é um fenômeno mundial que impõe grandes desafios e demanda a implementação de políticas públicas específicas (BEARD et al. 2016). Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), até 2025, o Brasil será o sexto país do mundo em número de idosos e também ressalta que pela primeira vez na história, o número de pessoas com 65 anos ou mais irá superar o número de crianças abaixo de 5 anos de idade. Diante desse contexto, a literatura relata que doenças oncológicas são recorrentes em idosos, uma vez que essa patologia está diretamente relacionada ao envelhecimento das células, à falta de proteção hormonal, desregulação do sistema imunológico que favorecem a proliferação celular, entre outros fatores (DA SILVA, 2005). Entretanto, pouco se sabe como o envelhecimento afeta a cognição de pacientes que fazem o uso da OXA.

Diante do que foi exposto, o objetivo deste estudo foi investigar o papel do envelhecimento no déficit cognitivo induzido pelo tratamento com a OXA em camundongos, bem como elucidar os mecanismos envolvidos a fim de identificar novos alvos farmacológicos considerando as especificidades desses pacientes.

2. METODOLOGIA

Para a realização do protocolo experimental foram utilizados camundongos machos da raça Swiss, jovens (2 meses) e velhos (20 meses). Os procedimentos foram realizados de acordo com as orientações da Comissão de Ética em Experimentação Animal da Universidade Federal de Pelotas (CEEA 4506-2017).

Com intuito de investigar como o envelhecimento contribui para o déficit cognitivo induzido pela 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. Posteriormente, nos dias 10 e 11, foi realizada a tarefa de reconhecimento de objetos, para avaliação da memória de curto prazo durante a primeira sessão de 10 minutos e após 24 horas o experimento foi repetido, com mudança nos objetos, para avaliação da memória de longo prazo, e o tempo gasto para o camundongo explorar o novo objeto foi marcado (STANGHERLIN et al. 2009). Adicionalmente, o teste do campo aberto foi realizado no dia 14, a fim de descartar resultados falso-positivos no teste anteriormente citado (WALSH; CUMMINS, 1976).

Por fim, no dia 15, os animais foram submetidos à eutanásia. O córtex cerebral e o hipocampo foram removidos para quantificação da expressão do RNAm pela técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qRT-PCR). Os dados obtidos foram expressos como média \pm erro padrão da média (E.P.M.). Os resultados foram avaliados por meio da análise de variância (ANOVA) de duas vias, seguida pelo teste de Tukey. Os valores de $p < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com os resultados do teste de reconhecimento de objeto apresentado pela Figura 1, pode-se observar que os camundongos jovens tratados com a OXA apresentaram prejuízo cognitivo tanto na memória de curto (Figura 1A) quanto de longo prazo (Figura 1B) quando comparado ao grupo controle jovem. Este comportamento pode ser evidenciado por meio da diminuição na preferência exploratória dos animais pelo objeto novo. Recentemente, nosso grupo de pesquisa demonstrou o déficit cognitivo causado pela OXA em camundongos jovens (REIS et al., 2020). Além disso, os resultados obtidos mostraram que o fator idade contribui para a diminuição da preferência exploratória (Figura 1A e 1B). Esse resultado já era esperado, uma vez que a relação do envelhecimento com o déficit de memória já é bastante conhecida. Entretanto, a exposição à OXA não intensificou o prejuízo cognitivo nos animais envelhecidos. Cabe destacar que o envelhecimento e a OXA (10 mg/kg) não alteraram o comportamento exploratório e a capacidade locomotora dos animais no teste do campo aberto (dados não demonstrados).

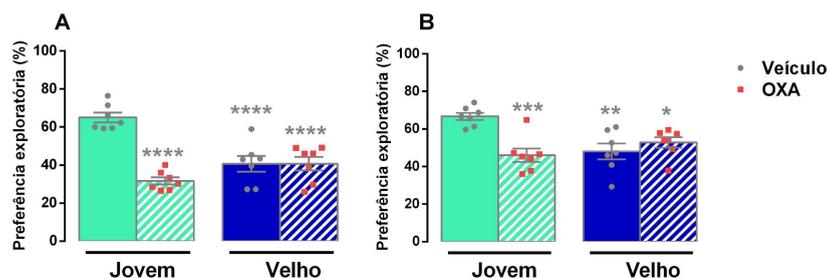


Figura 1. Efeito da OXA e do envelhecimento nas memórias (A) de curto prazo e (B) longo prazo, na tarefa de reconhecimento de objeto, em camundongos jovens e velhos. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$ e (****) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo Jovem.

Está bem estabelecido que a OXA causa dano oxidativo por meio do aumento dos níveis de espécies reativas (ERs) (REIS et al., 2020). Assim, investigar o envolvimento da via do fator nuclear eritroide 2 relacionado ao fator 2 (Nrf2), que está relacionada com o processo de detoxificação, torna-se relevante. Conforme demonstrado na Figura 3, o envelhecimento per se causou uma diminuição na expressão do Nrf2, da enzima fosfatidilinositol-3-cinase (PI3K) e da ativação do fator de transcrição 4 (ATF4) no hipocampo dos camundongos em relação ao grupo controle Jovem, resultados que corroboram com estudos que indicam que essa depleção ocorre com o avanço da idade (YAMAMOTO et al. 2018; ZHANG et al. 2015).

Adicionalmente, os resultados obtidos revelaram que o tratamento com a OXA (10 mg/kg) causou redução na expressão dessas proteínas no hipocampo de camundongos jovens e velhos quando comparados ao grupo controle Jovem. Ainda, de forma importante, os animais envelhecidos que receberam a OXA apresentaram uma diminuição mais acentuada na expressão da proteína Nrf2 no hipocampo, quando comparado ao grupo controle Velho.

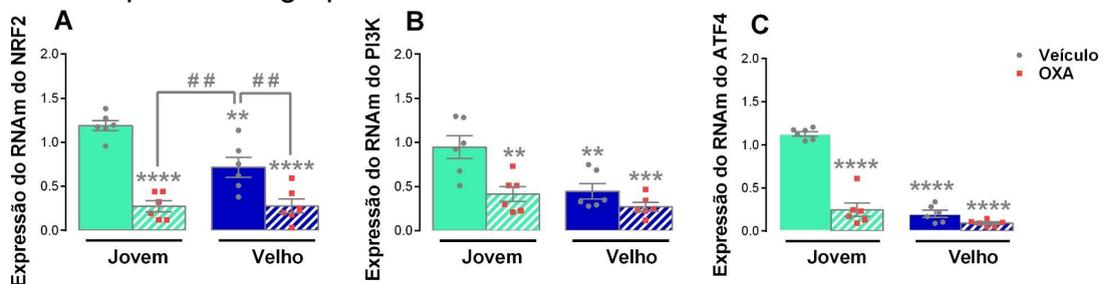


Figura 3. Efeito da OXA e do envelhecimento na expressão do RNAm de (A) Nrf2 (B) PI3K (C) ATF4, no hipocampo em camundongos jovens e velhos. (*) $P < 0,05$, (**) $P < 0,01$, (***) $P < 0,001$ e (****) $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo Jovem; (#) $P < 0,05$, (###) $P < 0,001$ e (####) $P < 0,0001$ quando comparado ao grupo Velho.

No entanto, no córtex cerebral foram observados resultados divergentes no em relação à expressão de Nrf2 e PI3K (Figura 4). Contudo, alterações mitocondriais, como as causadas pela OXA, podem ativar indiretamente o PI3K (KASAI et al. 2018) como forma de defesa. Em camundongos mais velhos, esse mecanismo foi ativado apenas no córtex cerebral. No entanto, acredita-se que as alterações induzidas pela OXA nessa via estejam relacionadas a dois fatores: idade e tecido analisado.

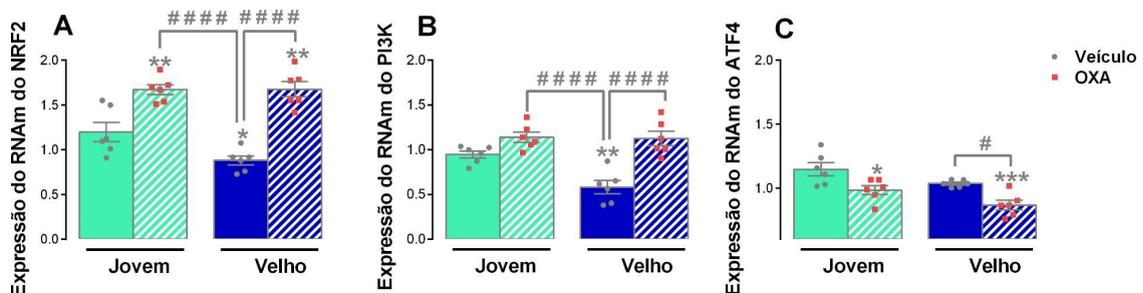


Figura 4. Efeito da OXA e do envelhecimento na expressão do RNAm de (A) Nrf2 (B) PI3K (C) ATF4, no córtex cerebral de camundongos jovens e velhos. (*) $p < 0,05$, (**) $p < 0,01$, (***) $p < 0,001$ e (****) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo Jovem; (#) $p < 0,05$, (###) $p < 0,001$ e (####) $p < 0,0001$ quando comparado ao grupo Velho.

4. CONCLUSÕES

Diante das evidências apresentadas, pode-se inferir que o envelhecimento não agravou o déficit cognitivo causado pela OXA. Destaca-se que, os resultados deste estudo indicam que os efeitos neuroprotetores associados à via Nrf2 também podem ser um alvo interessante para melhorar o prejuízo cognitivo induzido pela OXA em idosos.

Contudo, mais estudos são necessários para melhor compreensão das diferenças encontradas no teste molecular. Sendo assim, torna-se interessante a busca por novas terapias que considerem a especificidade desses pacientes.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AHLES, T.A.; SAYKIN, A.J. Candidate mechanisms for chemotherapy-induced cognitive changes. **Nature Reviews Cancer**, v.7, n.3, p. 192-201, 2007.

BEARD, J.R.; OFFICER, A.; CARVALHO, I.A.; SADANA, R.; POT, A.M.; MICHEL, J.P.; LOYD-SHERLOCK, P.; EPPING-JORDAN, J.E.; PEETERS, G.; MAHANANI, W.R.; THIYAGARAJAN, A.J.; CHATTERJI, S. The World report on ageing and health: a policy framework for healthy ageing. **The Lancet**, v. 387, n. 10033, p. 2145-2154, 2016.

DA SILVA, M.M.; DA SILVA, V.H.; Envelhecimento: importante fator de risco para o câncer. **Arquivos médicos do ABC**, v. 30, n. 1, 2005.

KASAI, S.; YAMAZAKI, H.; TANJI, K.; ENGLER, M. J.; MATSUMIYA, T.; ITOH, K.; Role of the ISR-ATF4 pathway and its cross talk with Nrf2 in mitochondrial quality control. **Journal of clinical biochemistry and nutrition**, p.18-37, 2018.

MATSOS, A.; JOHNSTON, I.N. Chemotherapy-induced cognitive impairments: A systematic review of the animal literature. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 102, p. 382– 399, 2019.

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.

REIS, A.S.; PALTIAN, J.J.; DOMINGUES, W.B.; COSTA, G.P.; ALVES, D.; GIONGO, J.L.; CAMPOS, V.F.; LUCHESE, C.; WILHELM, E.A. Pharmacological modulation of Na⁺, K⁺-ATPase as a potential target for OXA-induced neurotoxicity: Correlation between anxiety and cognitive decline and beneficial effects of 7-chloro-4-(phenylselanyl) quinoline. **Brain Research Bulletin**, v.162, p. 282-290, 2020.

STANGHERLIN, E.C.; ROCHA, J.B.T.; NOGUEIRA, C.W. Diphenyl ditelluride impairs short-term memory and alters neurochemical parameters in young rats. **Pharmacology Biochemistry and Behavior**, v.91, p. 430-435, 2009.

UNTURA, L.P.; DE REZENDE, L.F. A função cognitiva em pacientes submetidos à quimioterapia: uma revisão integrativa. **Revista brasileira de cancerologia**, v. 58, n. 2, p. 257-265, 2012.