

Expressão de H3K9ac e H3K27ac em lesões epiteliais na língua de camundongos Nos2^{+/+} e Nos2^{-/-} tratados com 4NQO

Immunohistochemical expression of H3K9ac and H3K27ac in epithelial tongue lesions of wild-type and Nos2-knockout mice treated with 4NQO

Danyella Thays Cavalcante Oliveira¹

Anaíra Ribeiro Guedes Fonseca Costa¹

Débora de Oliveira Santos¹

Sérgio Vitorino Cardoso¹

Paulo Rogério de Faria²

Adriano Mota Loyola¹

¹Departamento de Patologia Oral e Maxilofacial da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

²Departamento de Morfologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil

Categoria: Pesquisa original

Eixo temático: Patologia Oral e Maxilofacial

1 Introdução

O óxido nítrico é um importante regulador do panorama epigenético de estados celulares homeostáticos e patológicos, nos quais as modificações pós-traducionais das enzimas moduladoras do epigenoma são o mecanismo mais bem descrito. Em vários tipos de câncer, o óxido nítrico atua ora promovendo, ora inibindo o crescimento tumoral. A síntese de óxido nítrico depende de três enzimas de uma mesma família, denominadas óxido nítrico sintases: neuronal (nNOS), induzível (iNOS) e endotelial (eNOS). As isoformas neuronais são classificadas como enzimas constitutivas em função de sua atividade contínua e dependente de cálcio e calmodulina, sintetizando concentrações baixas e transitórias de óxido nítrico. Em contrapartida, a iNOS é uma

isoforma induzível e independente de cálcio, cuja síntese de óxido nítrico é contínua e caracterizada por concentrações elevadas, geralmente em processos patológicos, como durante a resposta inflamatória e a carcinogênese. Nos últimos anos, a literatura tem evidenciado o papel do óxido nítrico e das óxido nítrico sintases na manutenção direta da “paisagem” epigenética, atuando através de vários mecanismos, incluindo modificações pós-traducionais de histonas, metilação de DNA e regulação de microRNAs.

2 Objetivo

O objetivo deste estudo é a análise da expressão imuno-histoquímica de marcadores epigenéticos relacionados à acetilação de histonas, a saber, H3K9ac (acetilação da lisina 9 da histona 3) e H3K27ac (acetilação da lisina 27 na histona 3), nos diversos estágios do processo de carcinogênese oral induzido por N-óxido de 4-nitroquinolina (4 NQO) em camundongos selvagens Nos2^{+/+} e knockout para a enzima iNOS (Nos2^{-/-}).

3 Materiais e métodos

Nossa unidade experimental consistiu em camundongos machos *Mus musculus* das linhagens C57Bl/6J (tipo selvagem, Nos2^{+/+}), animais selvagens que expressam o gene da óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e B6.129P2-Nos2^{tm1Lau/J} (knockout, Nos2^{-/-}), que são camundongos geneticamente modificados que não expressam gene da iNOS. Eles foram tratados com a substância 4NQO em água de beber a 50µg/mL por 16 semanas e, posteriormente, observados por 8 semanas. As línguas foram submetidas a análise histopatológica para a classificação das lesões displásicas e neoplásicas, bem como a ensaio imuno-histoquímico para expressão de H3K9ac e H3K27ac. A reação antígeno-anticorpo foi analisada com o método de quickscore (QS).

Os procedimentos experimentais foram aprovados pela Comissão de Ética em Experimentação Animal (CEUA-UFU, registro nº 100/18).

4 Resultados

Observou-se que ambos os marcadores de acetilação de histonas foram expressos no epitélio normal. Os valores de QS foram maiores na displasia moderada dos camundongos Nos2^{-/-} ($p=0,025$) em comparação com os Nos2^{+/+}, e a displasia leve apresentou valores mais baixos para H3K9ac quando comparada à displasia moderada e grave no grupo Nos2^{-/-} ($p=0,015$). A H3K27ac aumentou significativamente da mucosa normal para a displasia leve nos camundongos Nos2^{+/+} ($p=0,007$). Além disso, os camundongos Nos2^{+/+} tiveram um maior número de displasias leves positivas para H3K27ac em comparação com os Nos2^{-/-} ($p=0,023$).

5 Conclusão

O padrão de acetilação da histona H3 varia significativamente durante o processo de carcinogênese bucal em modelo murino, especialmente quando o revestimento epitelial da língua se torna displásico. Considerando as diferenças na expressão dos marcadores entre animais selvagens e knockout, podemos concluir que tais modificações epigenéticas podem ser mediadas pelo óxido nítrico sintase induzível.

Descritores: condições pré-cancerosas; carcinogênese; processo epigenético; histonas; imuno-histoquímica.

Agências de fomento à pesquisa: Este projeto recebeu suporte financeiro de agências brasileiras de fomento à pesquisa, são elas: Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (Fapemig), Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Referências

1. Chaffer CL, Weinberg RA. How does multistep tumorigenesis really proceed? *Cancer Discov.* 2015 Jan;5(1):22-4. doi: 10.1158/2159-8290.CD-14-0788. PMID: 25583800; PMCID: PMC4295623.
2. Hanahan D, Weinberg RA. Hallmarks of cancer: the next generation. *Cell.* 2011 Mar 4;144(5):646-74. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.013. PMID: 21376230.
3. Moncada S, Higgs EA. Endogenous nitric oxide: physiology, pathology and clinical relevance. *Eur J Clin Invest.* 1991 Aug;21(4):361-74. doi: 10.1111/j.1365-2362.1991.tb01383.x. PMID: 1718757.
4. Muntané J, la Mata MD. Nitric oxide and cancer. *World J Hepatol.* 2010 Sep 27;2(9):337-44. doi: 10.4254/wjh.v2.i9.337. PMID: 21161018; PMCID: PMC2999298.
5. Silva Servato JP, Ueira Vieira C, de Faria PR, Cardoso SV, Loyola AM. The importance of inducible nitric oxide synthase and nitrotyrosine as prognostic markers for oral squamous cell carcinoma. *J Oral Pathol Med.* 2019 Nov;48(10):967-975. doi: 10.1111/jop.12942. Epub 2019 Oct 13. PMID: 31379002.

Autor de Correspondência:

Adriano Mota Loyola
loyolaam@gmail.com