

ANÁLISE MORFOMÉTRICA DE PAREDE TOTAL DE CÓLON DE RATOS INDUZIDOS AO CARCINOMA DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS A549 ADMINISTRADOS COM MELATONINA

Matheus Ferreira Zambonini (PIC/UEM), Maysa Pacheco Alvarez da Silva, Lídia Rodrigues Cicero, Fabiana Galvão da Motta Lima
Jacqueline Nelisis Zanoni, Juliana Vanessa Colombo Martins Perles (Orientadora)
E-mail: mfzgroup@hotmail.com.

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

Ciências Biológicas/Histologia

Palavras-chave: intestino grosso; câncer; HE.

RESUMO

O objetivo deste trabalho foi realizar medidas da parede total do cólon de ratos submetidos à indução de câncer com cultura de células tumorais da linhagem A549 e administrados com melatonina. Divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=5): controle (C), controle administrado com melatonina 10 mg/kg por via oral (CM), ratos portadores de tumor linhagem A549 (A), ratos portadores de tumor linhagem A549 administrados com melatonina 10 mg/kg por via oral (AM). Após o período de administração diária de 14 dias, os animais foram mortos e, na sequência, a porção do cólon seguiu para coloração histológica de Hematoxilina e Eosina (HE). Após análise de 10 imagens por animal com 3 medidas cada, foi submetido à análise estatística que apontou uma diminuição no tamanho da parede total do grupo CM e um aumento do grupo A. Não houve significância estatística entre os grupos A e AM.

INTRODUÇÃO

O câncer de pulmão (CP) é o terceiro tipo de câncer mais comum no mundo, com uma incidência de cerca de 22,4 novos casos a cada 100.000 pessoas em 2020, de acordo com dados do GLOBOCAN em 2020. As causas desse câncer, conforme a literatura, estão associadas o uso ao longo da vida de substâncias tóxicas inaladas, hábitos alimentares inadequados e possivelmente à exposição a elementos cancerígenos como tabaco, conservantes e seus derivados. Esses fatores podem provocar mudanças genéticas nas células que resultam no desenvolvimento de tumores (Molina et al., 2008).

Atualmente, há uma ampla variedade de linhagens de células cancerígenas utilizadas tanto para investigar a patofisiologia do câncer quanto para descobrir novos medicamentos. Uma das linhagens mais empregadas é a A549, que consiste em células isoladas de tecido pulmonar humano de pacientes com câncer de

pulmão. A padronização do enxerto dessas células A549 em roedores por via intramuscular tem sido empregada para explorar novas terapias investigando sua possível associação com inflamação e estresse oxidativo (EO).

A melatonina tem demonstrado eficácia no combate ao EO, inflamação e morte celular programada, além de restaurar a função tecidual em estudos em seres humanos. Essa substância, derivada da glândula pineal, é classificada como uma indolamina, pertencente a um grupo de neurotransmissores que incluem grupos indol e grupos amina. A melatonina apresenta propriedades anticancerígenas em diversos tipos de cânceres e pode ter efeitos positivos no tratamento do câncer, como evidenciado em experimentos com carcinoma de células não pequenas (Ma et al., 2016).

Diversos estudos também apontam para o potencial efeito da melatonina na microbiota intestinal. Análises das fezes de camundongos indicaram um aumento significativo no crescimento microbiológico na parede intestinal com o uso da melatonina. Outro estudo explora a relação direta entre a melatonina e o câncer de mama, sugerindo que a melatonina pode influenciar as vias quinureninas da microbiota intestinal, afetando os níveis de melatonina no organismo e abrindo possibilidades para pesquisas futuras (Laborda-Illanes et al., 2021).

Desta forma, o presente estudo objetivou avaliar o impacto do câncer no intestino grosso de animais portadores de tumor de células não-pequenas linhagem A549, bem como o efeito do tratamento com melatonina.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os procedimentos com animais foram realizados com aprovação prévia da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UEM (nº 8812040521). Foram utilizados 20 ratos adultos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) divididos aleatoriamente em 4 grupos (n=5): controle (C), controle administrado com melatonina 10 mg/kg por via oral (CM), ratos portadores de tumor linhagem A549 (A), ratos portadores de tumor linhagem A549 administrados com melatonina 10 mg/kg por via oral (AM). Os animais dos grupos A e AM passaram pela indução do tumor pela inoculação de uma suspensão de células tumorais A549, contendo $1,0 \times 10^7$ células tumorais viáveis em 300 µl de PBS (16,5 mM pH 7,5) por animal, injetada subcutaneamente no flanco direito traseiro. Os animais dos grupos C e CM passaram pelo mesmo estresse pela inoculação de PBS (16,5 mM pH 7,5) no mesmo local. Após 14 dias de administração, os animais foram submetidos a eutanásia o colo foi coletado, fixado em paraformol 4%, embocado em parafina. Posteriormente foram realizados cortes semi seriados de 5µm na sequência foi realizada a coloração de HE. Foi medida a espessura total da parede do colo em imagens capturadas com a objetiva de 10x, em 10 cortes por animal em 3 regiões diferentes por corte totalizando 30 medições/animal. As imagens foram analisadas com o auxílio do software Image-Pro Plus® 4.5 (Media Cybernetics; Rockville - USA) e os resultados foram expressos em µm. Os resultados foram submetidos à análise estatística utilizando-se os softwares Statística® 8.0 e Graph Pad Prism® 6.0, sendo

expressos como média \pm erro padrão. Foi realizada a análise de Delineamento em blocos, seguido de Teste de Fisher. O nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1 é possível visualizar o gráfico dos grupos analisados sobre o tamanho da parede total em corte histológico.

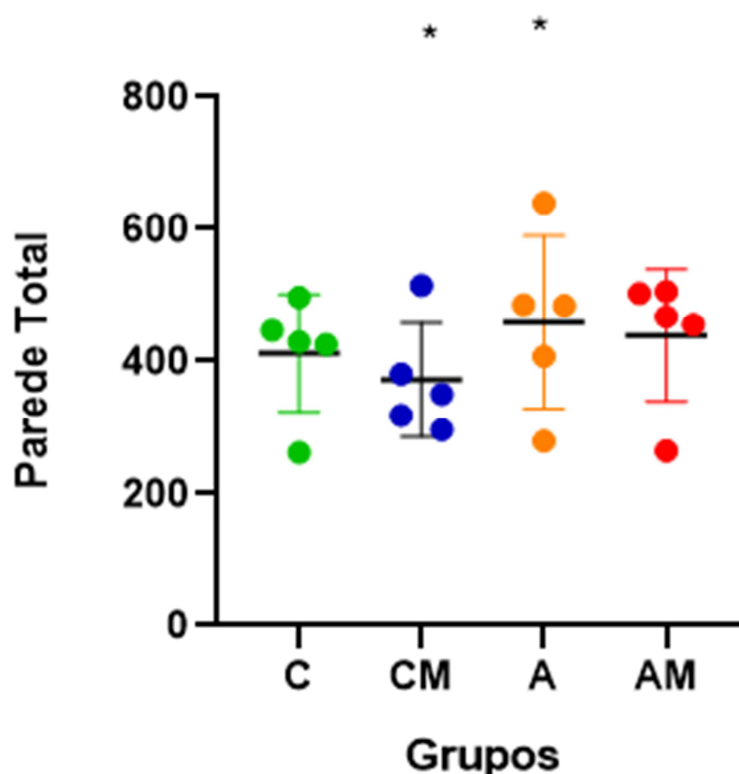


Figura 1 – Gráfico demonstrando a medida da espessura da parede total do cólon dos grupos estudados: controle (C), controle administrado com melatonina 10 mg/kg por via oral (CM), ratos portadores de tumor linhagem A549 (A), ratos portadores de tumor linhagem A549 administrados com melatonina 10 mg/kg por via oral (AM). * = $p < 0,05$ em relação ao grupo C.

Ao comparar o grupo A com o C, é possível observar um aumento da espessura da parede total de 11,45%, enquanto entre o CM e C é apontado uma diminuição de 9,68%. Entretanto, ao comparar o grupo AM) com o grupo A não foi observado diferença estatística ($p > 0,05$).

Estudos realizados no Laboratório de Plasticidade Neural Entérica apontaram uma diminuição da altura das vilosidades e na profundidade das criptas na porção do jejuno e duodeno de ratos portadores de tumor de Walker-256 por um período de 14 dias, demonstrando que o modelo provocou uma atrofia da parede de diferentes segmentos de intestino delgado (Martins et al., 2016). No presente trabalho usando

modelo de tumor sólido pela inoculação de uma suspensão de células tumorais A549, foi observada alteração na parede intestinal do cólon, porém foi observado um aumento da espessura da parede. Por outro lado, a administração com melatonina não foi capaz de prevenir essa alteração. Esse resultado pode ter ocorrido devido ao curto tempo de período experimental para o modelo experimental estudado, ou então devido ao tempo de administração para ocasionar alterações sistêmicas em outros órgãos como o cólon.

No cólon de animais saudáveis, observou-se diminuição de 9,68% na espessura da parede no grupo CM, que foi administrado com melatonina. Para melhor compreensão deste resultado seriam necessários maiores estudos futuros que possam elucidar a ação da melatonina no intestino grosso de indivíduos saudáveis.

CONCLUSÕES

Foi observado o efeito do câncer na parede total do cólon de animais doentes. O tratamento com melatonina demonstrou, a princípio, alterações apenas nos animais do grupo controle administrados com a droga. Porém, com base nesses resultados, serão realizados novos estudos para melhor compreensão visando o entendimento do impacto do câncer e da administração com melatonina.

AGRADECIMENTOS

À Profª Drª Juliana Vanessa Colombo Martins Perles e a mestrandia Maysa Pacheco Alvarez da Silva, pela excelente orientação e ensinamentos. À equipe do Laboratório de Plasticidade Neural Entérica pelo auxílio ao longo do desenvolvimento e pesquisa. E ao Museu Dinâmico Multidisciplinar onde o espaço físico do laboratório está inserido.

REFERÊNCIAS

LABORDA-ILLANES, A. et al. A new paradigm in the relationship between melatonin and breast cancer: Gut microbiota identified as a potential regulatory agent. **Cancers**. MDPI, 1 jul. 2021.

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.

MA, Z. et al. Melatonin as a potential anticarcinogen for non-small-cell lung cancer. **Oncotarget**, v. 7, n. 29, p. 46768-46784, 18 abr. 2016.

MOLINA, J.R. et al. Non-small cell lung cancer: epidemiology, risk factors, treatment, and survivorship. **Mayo Clin Proc**, v. 83, n. 5, p. 584–94, 2008.

32º Encontro Anual de Iniciação Científica
12º Encontro Anual de Iniciação Científica Júnior



23 e 24 de Novembro de 2023