

ANÁLISE QUANTITATIVA DA POPULAÇÃO DE MACRÓFAGOS CD68⁺ NA MUCOSA ILEAL DE RATOS ENXERTADOS COM CARCINOMA PULMONAR DE CÉLULAS NÃO PEQUENAS

Larissa Fiedler de Souza (PIBIC/CNPq/FA/UEM), Juliana Vanessa Colombo Martins Perles (Coautor), Lídia Rodrigues Cicero (Coorientadora), Jacqueline Nelisis Zanoni (Orientadora). E-mail: jnzanoni@uem.br

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

Ciências Biológicas/Morfologia

Palavras-chave: inflamação; estresse oxidativo; intestino.

RESUMO

Este estudo investigou quantitativamente a população de macrófagos CD68⁺ na mucosa ileal de ratos Wistar inoculados com células de carcinoma pulmonar de células não pequenas e o efeito da administração de melatonina. Para isso, 24 ratos foram divididos em quatro grupos: controle (C), controle administrado com melatonina 10 mg/kg (CM), ratos inoculados com células tumorais (linhagem A549) (A), ratos inoculados com células tumorais (linhagem A549) administrados com melatonina 10 mg/kg (AM). A melatonina foi administrada diariamente por 14 dias por gavagem. Após a eutanásia dos animais, foi realizada a coleta do íleo, realização da técnica de imunohistoquímica para quantificação de macrófagos CD68⁺ na mucosa. Os resultados revelaram que o grupo com câncer apresentou um aumento significativo na densidade de macrófagos. Notavelmente, a melatonina ampliou ainda mais esse incremento no grupo com tumor e elevou significativamente os macrófagos nos ratos controle. Conclui-se que as manifestações sistêmicas do câncer induzem uma resposta inflamatória na mucosa ileal e que a melatonina demonstra um potente efeito imunomodulador, aumentando a população de macrófagos, sugerindo seu potencial para fortalecer a imunidade e promover o reparo tecidual intestinal.

INTRODUÇÃO

O câncer constitui um dos principais desafios à saúde global, caracterizado por etiologia complexa e natureza heterogênea (WANG et al., 2025). Sua fisiopatologia envolve processos interligados de inflamação crônica e estresse oxidativo, nos quais citocinas pró-inflamatórias estimulam a produção de espécies reativas de oxigênio (EROs), gerando desequilíbrio entre oxidantes e defesas antioxidantes endógenas. Esse quadro favorece danos celulares, sustentando proliferação, angiogênese e evasão imune, além de repercutir em outros órgãos, como o trato gastrointestinal, frequentemente acometido por disfunções (VICENTINI et. al., 2016). No microambiente intestinal, os macrófagos exercem papel central na homeostase e na

resposta inflamatória, configurando-se como células-chave para compreender a interação entre tumor e hospedeiro (LU et al., 2024). A melatonina, além de sua função na regulação circadiana, é produzida em altas concentrações no intestino, apresentando potente ação antioxidante e imunomoduladora, com potencial terapêutico no câncer e em doenças inflamatórias intestinais (JURJUS et al., 2024). Diante disso, o presente estudo tem como objetivo analisar quantitativamente a população de macrófagos CD68+ na mucosa ileal de ratos enxertados com carcinoma pulmonar de células não pequenas e avaliar o efeito da administração de melatonina sobre essa população celular.

MATERIAIS E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados neste estudo foram aprovados pelo comitê de ética no uso de animais (CEUA) da Universidade Estadual de Maringá (UEM) 6607180723. Foram utilizados 24 ratos adultos machos da linhagem Wistar (*Rattus norvegicus*) com peso entre 175-185g, distribuídos em quatro grupos experimentais contendo 6 animais cada: controle (C), controle administrado com melatonina 10 mg/kg (CM), ratos inoculados com células tumorais (linhagem A549) (A), ratos inoculados com células tumorais (linhagem A549) administrados com melatonina 10 mg/kg (AM). Os animais dos grupos A e AM sofreram a indução do tumor por meio da inoculação de uma suspensão de células tumorais do carcinoma pulmonar de células não pequenas (linhagem A549), contendo $1,0 \times 10^7$ células tumorais viáveis em 300 μ l de tampão fosfato salino (PBS) 16,5 mM pH 7,5 por animal, injetada de forma subcutânea no flanco direito traseiro. A administração da melatonina e 10 mg/kg foi feita por gavagem em cada animal diariamente dissolvida em etanol a 0,5% em solução salina normal na concentração de 5 mg/ml, entre 13h e 14h (horário de menores níveis de melatonina endógena). Ao final de 14 dias de período experimental, os animais foram eutanasiados com sobredose de quetamina (80 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg) por via intraperitoneal. Então, o íleo foi coletado e processado para a técnica imunohistoquímica para marcação de macrófagos CD68+. A quantificação foi realizada em 30 vilos/animal utilizando o software Image-Pro® Plus. A estatística dos dados foi feita por delineamento em blocos com pós teste de Fisher e o nível de significância adotado foi de 5%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O grupo com carcinoma (A) apresentou aumento significativo de 19,5% em relação ao controle ($p= 0,009834$), evidenciando a instalação de um microambiente inflamatório tumoral. Esse incremento foi ainda mais pronunciado no grupo carcinoma tratado com melatonina (AM), que apresentou aumento de 31,6% em comparação ao grupo A ($p< 0, 000001$). No grupo CM, a densidade de macrófagos também foi significativamente maior que no controle, com acréscimo de 41,6% ($p< 0, 000001$). A infiltração de macrófagos no grupo A reflete sua participação na resposta inflamatória associada ao câncer, podendo inicialmente assumir perfil M1 (pró-inflamatório e antitumoral) e, em fases mais avançadas, fenótipo M2 (pró-

tumoral/anti-inflamatório), favorecendo angiogênese e invasão (VICENTINI, et al., 2016; LIU et al., 2017). Fotomicrografias representativas e gráfico dos resultados são mostrados na figura 1. A melatonina, conhecida por suas propriedades antioxidantes e imunomoduladoras, pode ter contribuído para o aumento da densidade de macrófagos no grupo AM ao induzir recrutamento ou polarização dessas células, possivelmente para o fenótipo M2, os quais são responsáveis por reparar o tecido, ainda que o marcador CD68 não permita distinguir os subtipos. Esse efeito sugere uma modulação da resposta imune intestinal no microambiente tumoral que pode refletir na resposta sistêmica. Além disso, o incremento observado no grupo CM reforça o papel multifuncional da melatonina na mucosa intestinal, indicando que, mesmo em condições fisiológicas, ela pode otimizar a vigilância imunológica e fortalecer a barreira tecidual, promovendo maior capacidade de reparo (JURJUS, et al., 2024).

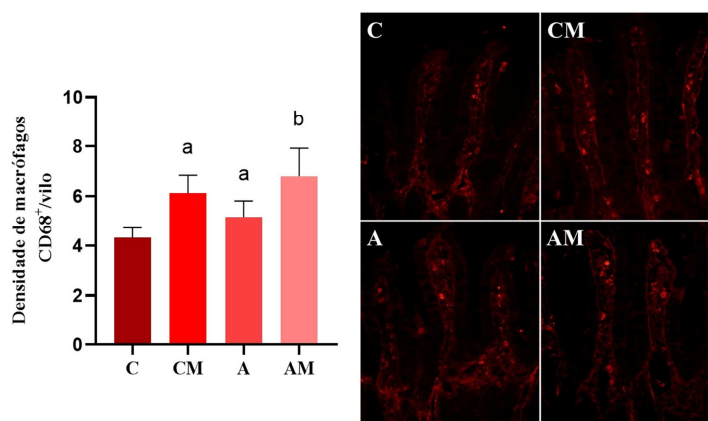


Figura 1 – Densidade de macrófagos CD68⁺ (A) e fotomicrografias representativas (B) nos vilos ileais de diferentes grupos. Grupos: controle (C), animais controle administrados com melatonina 10 mg/kg (CM), animais portadores de carcinoma pulmonar de células não pequenas (A) e animais portadores de carcinoma pulmonar de células não pequenas administrados com melatonina 10 mg/kg (AM). Os resultados foram expressos como média $\pm$ erro padrão. ^a $p < 0,05$ quando comparado ao grupo C; ^b $p < 0,05$ quando comparado ao grupo A. $n = 6$ animais/grupo. Barra de escala = 50 μ m.

CONCLUSÕES

Conclui-se que as manifestações sistêmicas do câncer induzem uma resposta inflamatória na mucosa ileal, aumentando a densidade de macrófagos CD68⁺. A melatonina, por sua vez, demonstrou um potente efeito imunomodulador, ampliando significativamente essa população celular tanto em condições fisiológicas quanto patológicas, sugerindo seu potencial em reforçar a imunidade e promover o reparo tecidual intestinal.

AGRADECIMENTOS

Meus agradecimentos ao CNPq/FA/UEM, às minhas orientadoras Jacqueline Zanoni e Juliana Perles, à coorientadora Lídia Rodrigues, que proporcionaram essa oportunidade de aprendizado e crescimento acadêmico.

REFERÊNCIAS

JURJUS, A. et al. Mechanism of Action of Melatonin as a Potential Adjuvant Therapy in Inflammatory Bowel Disease and Colorectal Cancer. **Nutrients**, Basel, v. 16, n. 8, art. 1236, 21 abr. 2024. DOI: 10.3390/nu16081236. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11054672/>. Acesso em: 14 ago. 2025.

LIU, T.; ZHANG, L.; JOO, D.; SUN, S. NF- κ B signaling in inflammation. **Signal Transduction and Targeted Therapy**, v. 2, art. e17023, 2017. DOI: 10.1038/sigtrans.2017.23. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8706767/>. Acesso em: 14 ago. 2025.

LU, H. et al. Monocyte-macrophages modulate intestinal homeostasis in inflammatory bowel disease. **Biomarker Research**, v. 12, n. 1, art. 76, 2 ago. 2024. DOI: 10.1186/s40364-024-00612-x. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC11295551/>. Acesso em: 15 ago. 2025.

VICENTINI, G. E. et al. Experimental cancer cachexia changes neuron numbers and peptide levels in the intestine: partial protective effects after dietary supplementation with L-glutamine. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 11, n. 9, e0162998, 2016. DOI: 10.1371/journal.pone.0162998. Disponível em: <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0162998>. Acesso em: 14 ago. 2025.

WANG, M. et al. Oxidative Stress and Inflammation: Drivers of Tumorigenesis and Therapeutic Opportunities. **Antioxidants**, Basel, v. 14, n. 6, art. 735, 2025. DOI: 10.3390/antiox14060735. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC12189506/>. Acesso em: 15 ago. 2025.