



## **AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA DO CÓLON DE RATOS WISTAR PARA ESTUDO DE FOCOS DE CRIPTAS ABERRANTES (FCA) E TUMORES INTESTINAIS ADENOMATOSOS**

Raíssa Coracini Varago (PIBIC/CNPq/Uem), Bruno Bueno Pimenta, Sara Santos Bernardes, Edilson Noboioshi Kaneshima, Alice Maria de Souza-Kaneshima, Tânia Cristina Alexandrino Becker (Orientador), e-mail: [tcabecker@gmail.com](mailto:tcabecker@gmail.com), Universidade Estadual de Maringá / Centro de Ciências da Saúde/Maringá, PR.

**4.00.00.00-1 – Ciências da saúde**

**4.06.03.00-8 – Medicina Preventiva**

**Palavras-chave:** Focos de Criptas aberrantes, 1,2-dimetilhidrazina (DMH), carcinogênese colorretal.

### **Resumo:**

Focos de Criptas aberrantes (FCA) formados por criptas aberrantes (CA) são identificadas como lesões pré-neoplásicas, devido à presença de displasias teciduais. Objetivamos avaliar o desenvolvimento de CA e FCA por indução de carcinogênese colorretal, inoculando 1,2-dimetilhidrazina (DMH), em ensaios de curto prazo (4 semanas - Grupo P1-pré) e médio prazo (30 semanas - Grupo P1). Os FCA foram classificados quanto ao número de focos e a multiplicidade de CA/foco, presença de borda alargada, lúmen em fenda e a intensidade de coloração em relação às criptas do cólon normal adjacente (coloração com azul de metileno 0,1%). Observamos o predomínio de focos com 02 a 03 CA/foco no grupo P1-pré e de 04 a 09 CA/foco no grupo P1, além de 12 adenomas hiperplásicos/displásicos de graus variados (baixo e alto grau displásico) e um adenocarcinoma intramucoso. Assim, os FCA podem ser considerados marcadores morfológicos precoces de tumores na carcinogênese colônica.

### **Introdução**

O câncer colorretal é uma importante causa de morte por câncer no Brasil. O desenvolvimento do câncer de cólon é um processo de múltiplas etapas, envolvendo uma série de alterações patológicas, variando de discretas lesões microscópicas na mucosa, como os focos de criptas aberrantes (FCA), até tumores malignos (1). Os FCA são lesões focais na mucosa colônica composta por uma ou várias criptas aberrantes (alongadas) que são induzidas por carcinógenos no colon. Estes focos são facilmente identificados em preparações utilizando o corante azul de metileno 0,1%, em cortes observados em microscópio ótico. Contudo não existe consenso



**FUNDAÇÃO  
ARAUCÁRIA**

**CNPq**  
Conselho Nacional de Desenvolvimento  
Científico e Tecnológico



**PARANÁ**  
GOVERNO DO ESTADO  
Secretaria da Ciência, Tecnologia  
e Ensino Superior



sobre a correlação entre o número de FCA e a incidência de adenocarcinomas. A avaliação do valor preditivo de cada lesão precursora de neoplasias é extremamente importante para o estudo de possíveis fatores de risco do câncer colorretal, bem como estudos de substâncias preventivas ou utilizadas no tratamento do câncer colorretal (2).

O composto genotóxico dimethylhydrazine (DMH) é um agente frequentemente utilizado em modelos experimentais de carcinogênese colorretal em roedores (3). Assim, o modelo de indução de câncer colorretal por DMH em ratos é uma ferramenta eficiente para investigar a relação de FCA com o câncer de cólon. Para esclarecer melhor se os FCA estão diretamente relacionados com a carcinogênese colônica, este estudo teve por objetivo avaliar a relação entre dois ensaios de curto prazo (4 semanas) e médio prazo (30 semanas) no modelo de carcinogênese induzida por DMH em ratos.

### **Materiais e métodos**

Neste projeto realizamos a análise de tecidos armazenados em etanol 70% que foram obtidos de um protocolo experimental, proposto por RODRIGUES e colaboradores (2002). Os intestinos (cólon) foram divididos em dois segmentos, referendados como cólon proximal (adjacente ao ceco) e cólon distal (adjacente ao reto) e corado com azul de metileno 0,1%. A mucosa superficial foi analisada e os FCA foram classificados quanto ao número de FCA e seu padrão de distribuição ao longo do cólon, bem como o número de criptas aberrantes /foco. Realizamos a técnica do "Swiss roll" segundo Moolenbeek & Ruitenberg (1981) para a análise histológica com hematoxilina e eosina. As áreas de FCA e os tumores foram classificados quanto a presença e grau de displasia.

### **Resultados e Discussão**

Os FCA foram morfologicamente diferenciados das criptas normais em razão da borda alargada, ligeiramente elevada, lúmen oval ou em fenda, e maior intensidade de coloração em relação às criptas do cólon normal adjacente (figura 1A). As categorias histológicas estabelecidas incluíam CA isolada e FCA com 02 a 03, 04 a 09 ou mais de 10 CA/foco. Além disto, a incidência, a distribuição e a morfologia dos tumores adenomatosos também foram observados. A análise da superfície da mucosa intestinal demonstrou a presença de CA isolada e FCA ao longo de toda superfície intestinal investigada, apenas nos grupos expostos a DMH. A maioria dos FCA estavam presentes no cólon distal em ambos os tempos de experimento, demonstrando que os FCA não são lesões aleatórias do cólon de roedores tratados com agentes carcinogênicos do cólon (5).





Diferentes níveis de desenvolvimento dos FCA foram observados. O número de CA isoladas no grupo P1-pré foi superior ao grupo P1. Por outro lado, quando observamos os FCA com 02-03 e 04-09 criptas/foco observamos um aumento progressivo em relação aos tempos de experimento, tanto no cólon distal quanto no proximal (Tabela 01). Esta progressão da morfologia dos FCA consistindo de múltiplas criptas observadas da quarta para a trigésima semana pode corresponder a fase de promoção da carcinogênese do cólon (3).

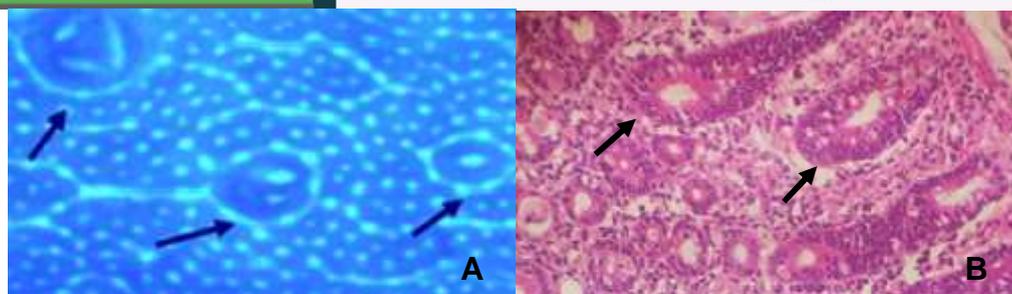
Histologicamente, os FCA também apresentaram mudanças progressivas. No ensaio de 04 semanas, os FCA exibiram características hiperplásicas, enquanto que no período de 30 semanas, os FCA apresentaram criptas com displasias leves e graves (figura 1B). Além disto, no grupo P1 foram observados 12 adenomas hiperplásicos/displásicos de graus variados (baixo e alto grau displásico) e um adenocarcinoma intramucoso. Todos os tumores foram encontrados no cólon distal, coincidindo com o resultado encontrado quanto ao número de FCA, que também foi significativamente maior no cólon distal, nos vários grupos de animais analisados. Assim, os FCA e os tumores provavelmente desenvolveram-se nos mesmos locais, o que significa que eles podem ser eventos biológicos sequencialmente relacionados (2). Interessantemente, todos os tumores foram do grupo P1 e apresentaram-se como adenomas displásicos bem diferenciados. Estes resultados indicam que os FCA podem ser considerados como marcadores morfológicos precoces na via de detecção de tumores na carcinogênese colônica (5).

**Tabela 01.** Número de Focos de Criptas Aberrantes (FCA) e multiplicidade de criptas (%) nos tempos experimentais (04-30 semanas) dos ratos tratados com DMH.

| Grupos                 | Total<br>nº FCA |               | Nº de criptas/foco |               |               |               |               |               |             |             |
|------------------------|-----------------|---------------|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|---------------|-------------|-------------|
|                        |                 |               | 01 cripta          |               | 02-03 criptas |               | 04-09 criptas |               | ≥10 criptas |             |
|                        | P               | D             | P                  | D             | P             | D             | P             | D             | P           | D           |
| DMH – P1-pré<br>(N=06) | 106<br>(20)     | 424<br>(80)   | 62<br>(11,7)       | 241<br>(45,5) | 44<br>(8,3)   | 166<br>(31,3) | -             | 17<br>(3,2)   | -           |             |
|                        | T=530           |               |                    |               |               |               |               |               |             |             |
| DMH – P1<br>(N=06)     | 147<br>(14,6)   | 859<br>(85,4) | 71<br>(7,1)        | 143<br>(14,2) | 68<br>(6,8)   | 247<br>(24,6) | 08<br>(0,8)   | 371<br>(36,9) | -           | 98<br>(9,6) |
|                        | T= 1006         |               |                    |               |               |               |               |               |             |             |

DMH – dimethylhydrazine. P – cólon proximal; D – cólon distal.





**Figura 01.** A: CA e FCA (setas); B: FCA com displasia leve (setas)

### Conclusões

O presente estudo demonstrou que a indução de FCA por DMH, no período de 04 semanas, teve correlação com o desenvolvimento dos adenomas e do adenocarcinoma bem diferenciado observado no experimento de 30 semanas. Esta observação suporta a hipótese que os FCA são lesões precursoras de tumores no cólon e podem ser usadas em experimentos de curta duração como substituto para avaliar a carcinogênese e atividade anti-câncer em modelos de indução química em estudos da carcinogênese colônica.

### Agradecimentos

À Fundação Araucária pelos recursos financeiros enviados para o pagamento de bolsa de Iniciação Científica concedida ao discente deste projeto de pesquisa.

### Referências

1. HAGGAR, F.A.; BOUSHEY, R.P. Colorectal cancer epidemiology: incidence, mortality, survival, and risk factors. **Clinics in colon rectal surgery**, New York, v. 22, p.191-197, 2009.
2. TANAKA, T. Colorectal carcinogenesis: Review of human and experimental animal studies. **Journal of Carcinogenesis**, London, v.8, ID. 5, 2009.
3. RODRIGUES, M.A. et al. Aberrant crypt foci and colon cancer: comparison between a short- and medium-term bioassay for colon carcinogenesis using dimethylhydrazine in Wistar rats. **Brazilian journal of medical and biological research**, Sao Paulo, v. 35, p. 351-355, 2002.
4. MOOLENBEEK, C; RUITENBERG, E.J. The "Swiss roll": a simple technique for histological studies of the rodent intestine. **Laboratory Animals**, 15, 57-59. 1981.
5. Bird RP. Role of aberrant crypt foci in understanding the pathogenesis of colon cancer. **Cancer Letters**, 93: 55-71. 1985.

