

## MODELO EXPERIMENTAL DE CARCINOGENESE MAMÁRIA EM RATOS WISTAR FÊMEAS – GRUPO DMBA + CICLOFOSFAMIDA

Maria Carolina do Valle (PIBIC/CNPq/FA/Uem), João Paulo Pasquini, Bruna Sydor, Tania Cristina Alexandrino Becker, Alice Maria de Souza Kaneshima, Edilson Nobuyoshi Kaneshima (Orientador). E-mail: mcarolinadv@hotmail.com.

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá-PR.

Área e subárea do conhecimento conforme tabela do [CNPq/CAPES](#)  
40105008 ANATOMIA PATOLÓGICA E PATOLOGIA CLÍNICA

**Palavras-chave:** 7, 12-dimetilbezantraceno (DMBA), câncer de mama, ciclofosfamida.

### Resumo:

Este estudo teve por objetivo avaliar o efeito da ciclofosfamida, como substância antineoplásica junto ao modelo experimental de carcinogênese induzida pelo hidrocarboneto 7, 12 – dimetilbezantraceno (DMBA) em ratos *Wistar* fêmeas. Foram utilizados 15 animais, com idade de 50 dias, separados em três grupos: Controle Positivo com DMBA; Controle Terapêutico com DMBA e ciclofosfamida; Controle Negativo. Semanalmente, a ciclofosfamida foi administrada por gavagem, conforme o peso corpóreo de cada animal (5 mg/Kg), e os animais submetidos a observação de alterações físicas e acompanhamento do peso corpóreo. A eutanásia dos animais ocorreu após 13 semanas de experimento e os tecidos foram processados e encaminhados para análise histopatológica. Entretanto, os animais do Controle Terapêutico apresentaram alta taxa de mortalidade, sobrevivendo até a sétima semana do experimento. A análise histopatológica destes animais não foi possível de ser realizada, pois os órgãos encontravam-se em processo de autólise. Suspeita-se que o antineoplásico ciclofosfamida desenvolveu ação tóxica, ocasionando lesões em órgãos que acarretaram no óbito destes animais.

### Introdução

O câncer é uma doença causada pela multiplicação anormal de células que sofreram alteração genética, sendo o de mama o mais comum entre as mulheres, representando 28% dos casos novos a cada ano, com cerca de 59.700 casos em 2018 (INCA, 2018).

Este estudo tinha por objetivo avaliar o efeito da ciclofosfamida, como substância antineoplásica junto ao modelo experimental de carcinogênese induzida pelo hidrocarboneto 7, 12 – dimetilbezantraceno (DMBA) em ratos *Wistar* fêmeas. Estes roedores têm baixa frequência de tumores espontâneos e o DMBA, após ingerido, é rapidamente absorvido pelo trato intestinal e biotransformado no fígado, com tendência a se acumular nos adipócitos. Portanto, as glândulas mamárias apresentam-se como local de tropismo para o DMBA (BARROS et al, 2004; AVANZO, 2008). A

ciclofosfamida é uma substância citostática, ou seja, atua inibindo a multiplicação celular, que normalmente encontra-se inativa *in vitro* e quando metabolizada no fígado pelas enzimas microssomais hepáticas, dá origem ao 4-hidroxíciclofosfamida, composto ativo que pode ser utilizado no tratamento de neoplasias (CHU & DEVITA JR, 2001).

### **Materiais e métodos**

Neste estudo, foram utilizados quinze (15) ratos *Wistar* fêmeas, com idade de 50 dias, sendo acomodados em condições laboratoriais padronizadas (temperatura de  $22\pm 1^\circ\text{C}$  e umidade relativa de  $50\pm 10\%$ ) e, ciclo dia-noite de 12h com livre acesso à ração e água, durante todo o período experimental. A separação dos animais ocorreu por meio de grupos:

- a) Controle Negativo sem DMBA, constituído por três animais, sendo administrado em dose única 1 mL de óleo de milho.
- b) Controle positivo (DMBA), com três animais, que receberam em dose única 20 mg de DMBA dissolvidos em 1 mL de óleo de milho.
- c) Controle Terapêutico (DMBA + Ciclofosfamida) composto de nove animais, que receberam em dose única 20 mg de DMBA dissolvidos em 1 mL de óleo de milho. O antineoplásico ciclofosfamida (50 mg/Kg) foi administrado a cada sete dias durante as doze semanas.

A administração das substâncias ocorreu por gavagem e todos os animais foram pesados no primeiro dia do experimento e posteriormente a cada sete dias por um período de até treze semanas, aos quais foram anestesiados com Tiopental 40 mg/Kg e eutanasiados, conforme descrito no Guia de Boas Práticas para Eutanásia do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV). Após a eutanásia, foi realizada a avaliação anátomo patológica dos animais, sendo primeiramente realizada uma análise macroscópica dos órgãos como mama, pulmão, rim, fígado, estômago e intestino delgado. O tecido mamário e os demais órgãos foram dissecados, pesados e seccionados em partes, as quais foram fixadas em solução formalina 10% e encaminhadas para processamento histopatológico e confecção de lâminas. Os cortes histológicos, corados pela hematoxilina/eosina, foram analisados e classificados de acordo com as alterações histopatológicas observadas.

### **Resultados e Discussão**

Até a terceira e quarta semana de experimento, os nove animais do grupo Controle Terapêutico (DMBA + ciclofosfamida) apresentaram ganho de peso em média de 9 gramas por semana (vide Fig. 1). A partir da quinta semana, ocorreu o óbito de um animal e os outros oito animais perderam peso. Três animais sobreviveram até a sexta semana e na sétima semana de experimento ocorreu o óbito do restante. Na Fig. 2 é possível observar a análise macroscópica dos animais tratados com ciclofosfamida, cujo óbito ocorreu na sétima semana do experimento. Nesta figura é possível observar as seguintes alterações: pulmão hemorrágico e aumentado de tamanho, parte do intestino delgado translúcido, presença de líquido cavitário na cavidade peritoneal, rins diminuídos e glândulas suprarrenais aumentadas.

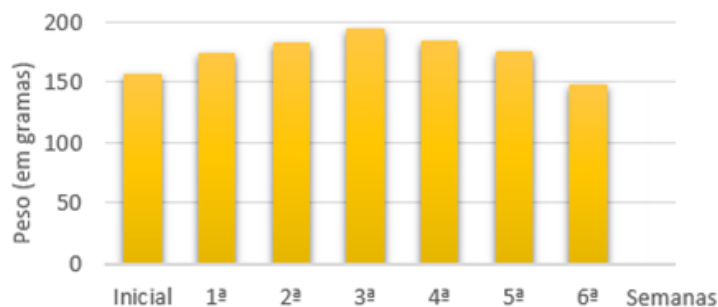


Fig. 1: Análise ponderal, baseada no cálculo da média do peso dos animais do controle terapêutico no decorrer das primeiras seis semanas de experimento.

A análise histopatológica destes órgãos não foi possível de ser realizada, pois encontravam-se em processo de autólise. E a análise histopatológica do tecido mamário não demonstrou alterações sugestivas de células neoplásicas, uma vez que tais alterações ocorrem somente a partir da décima semana, conforme descrito por Barros et al. (2004).



Fig. 2: Análise macroscópica de um animal do Controle Terapêutico apresentando intestino delgado translúcido.

Já os animais do grupo Controle Negativo sem DMBA apresentaram peso corpóreo crescente no decorrer das treze semanas, dentro dos padrões da normalidade, o mesmo ocorrendo com os três animais do grupo Controle Positivo. Os animais do grupo Controle Negativo não apresentaram alterações macroscópicas e/ou histopatológicas com característica

patológica ou relacionada com a carcinogênese. Enquanto que no grupo Controle Positivo (DMBA) foram observadas alterações histopatológicas sugestivas de carcinogênese mamária, em todos os animais.

### Conclusões

A ciclofosfamida é um medicamento com potencial antineoplásico, sendo utilizada no tratamento do câncer de mama.

De acordo com o Laboratório Pfizer, a Ciclofosfamida quando administrada por via oral em ratas apresenta taxa de DL50 correspondente à 160 mg/kg, este valor é muito superior à dose utilizada (50 mg/Kg) nesse experimento.

No entanto, este medicamento pode apresentar toxicidade, conforme observações relatadas nas análises macroscópicas de órgãos dos animais do grupo Controle Terapêutico.

A toxicidade da ciclofosfamida sobre a bexiga é atribuída aos efeitos irritantes de um metabólito, a acroleína, e os principais efeitos adversos do uso da ciclofosfamida são os distúrbios hematológicos (leucopenia, trombocitopenia e anemia), os do trato urinário (cistite hemorrágica, principalmente, acompanhada ou não de micro ou macro-hematúria) e os gastrointestinais tais como náuseas, vômitos, anorexia e mucosite.

### Agradecimentos

Ao programa PIBIC/CNPq/FA/UEM pela bolsa concedida.

### Referências

1. **Câncer de Mama**. INCA, 2018. Disponível em: <[http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home+/mama/cancer\\_mama](http://www2.inca.gov.br/wps/wcm/connect/tiposdecancer/site/home+/mama/cancer_mama)>. Acesso em 22/07/18.
2. Barros, ACS; Muranaka, ENK; Mori, LJ.; Pelizon, CHT; Iriya, K; Giocondo, G; Pinotti, JA. **Induction of experimental mammary carcinogenesis in rats with 7,12-dimethylbez(a)anthracene**. Revista Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo, v. 59, p257-261, 2004.
3. Avanzo GU. **Padronização do modelo de carcinogênese mamária induzida quimicamente por DMBA em camundongos**. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, 2008.
4. Chu, E; Devita Jr, VT. Drogas biológicas e quimioterápicas. **Manual de drogas antineoplásicas em uso nos EUA**. São Paulo: Organização Andrei. Cap. 2, pag. 105-208, 2001.
5. **CICLOFOSFAMIDA**. Disponível em: <<http://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/c049.htm>>. Acesso em 11/03/17.