

ESTUDO SOBRE OS EFEITOS DE ANTIINFLAMATÓRIO NÃO ESTERÓIDE SOBRE A CARCINOGENESE QUÍMICA NA PELE DE CAMUNDONGOS BALB/C.

MARIA SUELY FERNANDES REYMÃO.

Hospital Antonio Pedro (UFF) – Niterói, RJ

RESUMO

O efeito da administração intraperitoneal da Fenilbutazona, após uma única aplicação de cancerígeno completo MCA, foi marcante no processo de quiescência da epiderme.

UNITERMOS: Carcinogênese química, antiinflamatório não esteróide

INTRODUÇÃO

Setala, Sharma, e Sperling, em seus trabalhos^{10, 11, 13, 14, 15, 17}, nos mostraram que os antiinflamatórios não esteróides apresentaram influências na síntese proteica e na hiperplasia causada por um promotor. Seções histológicas da epiderme após vários tratamentos revelaram 96h depois uma única camada de células semelhantes à epiderme controle tratada com acetona, enquanto houve crescimento para 3-4 camadas nas epidermes tratadas com TPA, acompanhado de uma hiperplasia dérmica e intensa queratinização.

A oxyphenybutazona reduziu a hiperplasia e a queratinização. Nenhum dos agentes antiinflamatórios teve efeito observável na influência do TPA após 48h do tratamento, quando

havia 3-4 camadas de células. Após 6 dias, todas as epidermes novamente pareciam normais.

Os papéis da inflamação e hiperplasia na promoção de tumores têm sido continuamente debatidos desde que Beremblum¹⁻⁴ desenvolveu o conceito de promoção. Embora Saffiotti e Shubik⁹ tenham concluído 11 anos atrás que "... a indução de uma hiperplasia duradoura da epiderme não é um requisito suficiente para a indução de uma ação promotora".

Neste estudo nos propomos comparar a ação de um antiinflamatório não esteróide FB. aplicado intra-peritonealmente na carcinogênese química com aplicação de uma única dose de um cancerígeno potente MCA. Nos trabalhos consultados a FB. foi aplicada topicamente.

MATERIAL E MÉTODOS

PRODUTOS QUÍMICOS: 20-Metilcolantreno; Solução empregada 130mg de MCA. por 100ml de acetona; Butazolidina 1-2-difenil-3,5-dioxo-4-n-butilpirazolidina sódica 600mg, dietilamino-aceto-2,6-xilidina (xilocaína) 30mg, diluída até à concentração de 0,1ml de butazolidina em 1,9ml de solução salina. Creme depilador superfluo L'oreal. Éter Etílico.

ABREVIATURAS UTILIZADAS

MCA. – Metilcolantreno; FB. – Fenilbutazona; M.O. – Microscópio Ótico; M.E. – Microscópio Eletrônico; Fig. – Figura; H.E. – Hematoxilina/Eosina; TPA. – Fator óleo de croton 12-O – tetradecanoiforbol – 13 acetado.

ANIMAIS: Fêmeas de camundongos BALB/C, 6 a 8 semanas de idade oriundas do Instituto "Evandro Chagas" (Belém do Pará) foram mantidas e criadas no Biotério do Hospital Universitário "Antônio Pedro", Departamento de Patologia Experimental. Ao tempo dos experimentos foram mantidos com ração prensada e H₂O. A área experimental da pele do dorso depilada semanalmente com creme Supérfluo L'oreal.

EXPERIMENTOS: Grupo I — 10 camundongos. Tratamento — a pele do dorso recebeu uma única dose de MCA. — 1,3mg. Grupo II — 10 camundongos. Tratamento — a pele do dorso recebeu uma única dose de MCA. 1,3mg seguida de um intervalo de dois dias pela administração de antiinflamatório — FB. Via intraperitoneal. Grupo III — 10 camundongos controle.

APLICAÇÃO DOS COMPOSTOS: O MCA. foi aplicado topicamente com o auxílio de uma seringa descartável. O agente antiinflamatório foi injetado intraperitonealmente com o auxílio de uma seringa descartável.

COLETA DO MATERIAL: Os animais foram sacrificados dois a dois na 2a., 3a., 6a. e 7a. semanas após o início do tratamento e a área do dorso onde foram aplicadas as substâncias retiradas (1,4 x 1,5cm), para o estudo seriado das alterações morfológicas da epiderme, no período em observação e que precederam ao aparecimento visível dos tumores. Fragmentos foram fixados em formol a 10% e as observações ao Microscópio Ótico foram feitas em cortes corados pela H.E. As observações ao microscópio eletrônico foram limitados à 6a. semana. O material foi fixado em glutaraldeído, pós-fixado em tetróxido de Ósmio, corado com ecetato de uranila e citrato de chumbo e examinado no microscópio ZEISS em 109.

DESCRIÇÃO DOS RESULTADOS

GRUPO I — MCA. (1,3mg)

A observação macroscópica da pele do dorso revelou superfície externa aparentemente normal. Na quinta semana a pele se mostrava delgada, estado do camundongo caquético.

As observações ao M.O. na segunda semana de experimento revelaram um quadro característico, assim resumido:

- estrato córneo incompleto (paraceratose)
- hiperplasia irregular acentuada 3-4 camadas
- raras células inflamatórias na epiderme
- variação no tamanho e forma das células
- taxa núcleo/citoplasma aumentada

— derme espessada, infiltrado inflamatório moderado, edema.

Na terceira semana de experimento as alterações observadas são semelhantes às observadas na segunda semana, sendo porém menos acentuadas.

Na quinta semana o estrato córneo exibia descamação, estrato basal pouco alterado, epitélio com hiperplasia leve 3 a 4 camadas sem edema, taxa núcleo/citoplasma pouco aumentada. Derme levemente alterada.

Na sexta semana de experimento as observações microscópicas revelaram epiderme indistinguível da normal. Derme sem alteração.

Ao Microscópio Eletrônico, a epiderme também praticamente idêntica à normal, duas células basais e uma célula suprabasal indistinguíveis das normais. Em poucas áreas, ainda se observaram um grupo de células com núcleos hipertróficos, citoplasma rarefeito evidenciando algumas mitocôndrias e tonofibrilas, com espaços intercelulares em dimensões normais, desmossomas visíveis em vários pontos na quarta semana de tratamento (fig. 1).

Na sétima semana de experimento ao M.O. revelou-se epiderme indistinguível da epiderme normal, e derme sem alteração.

GRUPO II — MCA. + FB.

A observação macroscópica da pele do dorso dos camundongos deste grupo mostraram de um modo geral superfície mais fina que o normal, sendo que na sétima semana era ela bastante delgada.

Na segunda semana de experimento ao M.O., mostrou-se estrato córneo incompleto (paraceratose), epiderme com hiperplasia irregular moderada de 3 a 4 camadas, com figuras de mitose e leve edema intra-celular, pequena variação na forma e tamanho das células, taxa núcleo/citoplasma aumentada. Derme pouco espessa, e discreto infiltrado inflamatório, glândulas sebáceas sem alterações (fig. 2).

Na terceira semana de experimento ao M.O., observou-se estrato córneo sem alteração; a epiderme mostrava alguns núcleos hipertróficos, o que retrata pele aparentemente normal sem alteração significativa. Na derme, ausência de infiltrado inflamatório (fig. 3).

Na quinta semana de experimento ao M.O., o epitélio revelou-se aparentemente normal, exceto pela descamação que estava mais acentuada no estrato córneo. Derme normal.

Na sexta semana de experimento ao M.O., mostrou-se epiderme sem alteração, com características semelhantes ao normal. Derme mos-

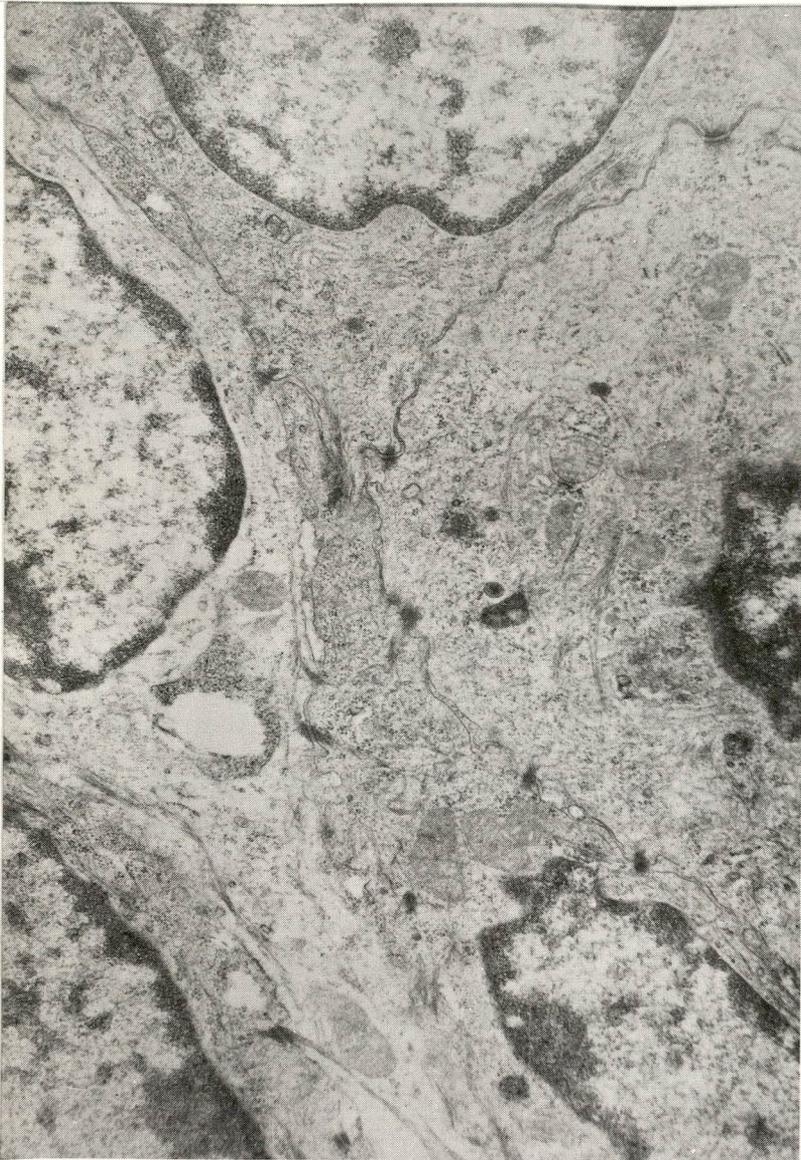
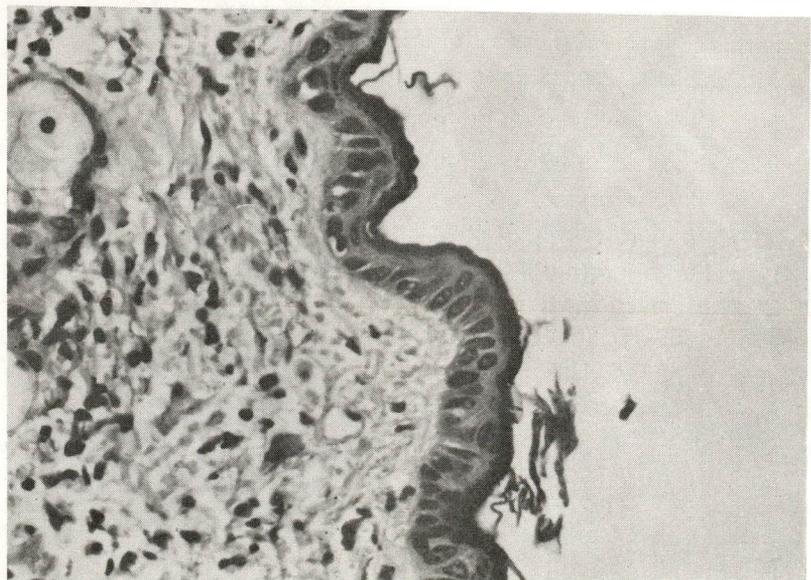


FIGURA 1 — Epiderme hiperplásica núcleos hipertróficos, citoplasma rarefeito, onde se notam mitocôndrias e tonofibrilas. Espaços intercelulares de dimensões normais. Desmosomas visíveis. O quadro é comum aos grupos I e II na 6^a semana de tratamento. (M.E. 7.000X)

FIGURA 2 — GRUPO II segunda semana — Epiderme hiperplásica; infiltrado inflamatório bem discreto. (HE. 400X)



trando-se um pouco mais espessada, com algumas células inflamatórias residuais e focais; glândulas sem alteração (fig. 4).

Ao M.E., as estruturas epidérmicas eram praticamente indistinguíveis do normal.

Na sétima semana de experimento ao M.O., revelou-se epiderme e derme sem alterações e indistinguíveis do normal.

GRUPO III – Controle.

DISCUSSÃO

Nossos dados mostraram que a aplicação semanal intra-peritoneal, da FB. após a aplicação

de uma única dose de um cancerígeno potente MCA., acelerou a fase de quiescência dos clones celulares que resistiram, ou seja, não foram eliminados pela vigilância imunológica do organismo; isto é, acelerou a redução da hiperplasia epidérmica e o processo inflamatório (figs. 1, 2, 3).

Scribner e Slaga¹⁰ foram os primeiros a testar a influência no sistema iniciação-promoção de agentes antiinflamatórios não esteróides que pudessem exibir alguns mas nem todos os efeitos da dexametasona. Seus estudos com TPA. mostraram que a oxyphenybutazona aplicada topicamente reduziu histologicamente a hiperplasia e a queratinização, sendo a inflamação um evento secundário que não influencia grandemente no número de células tumorais latentes.

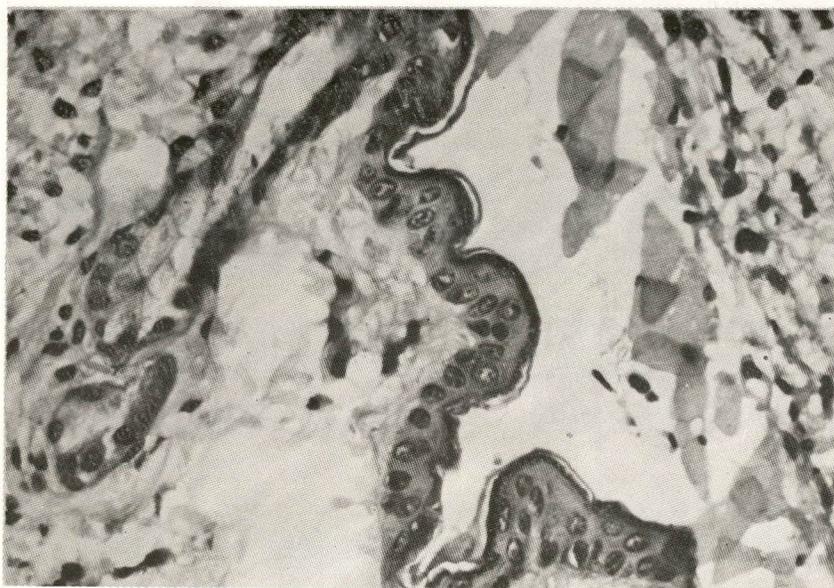
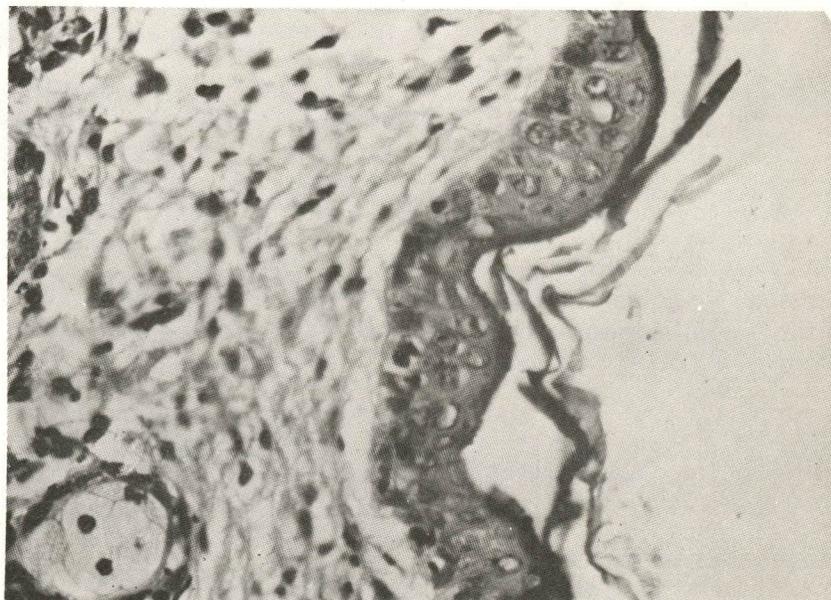


FIGURA 3 – GRUPO II terceira semana — Epiderme praticamente normal, a não ser pela presença de alguns núcleos hipertróficos. Ausência de infiltrado inflamatório (HE. 400X)

FIGURA 4 — GRUPO II Sexta semana — Semelhante a Fig. 3. Presença de infiltrado inflamatório residual e focal (HE. 400X)



Sabemos pela literatura^{5-8, 12, 16} que o uso de uma única dose de um cancerígeno potente como o MCA., tem ação relativamente pequena, causando uma hiperplasia de duração rápida e um retardo na velocidade do ciclo cariocinético e um aumento de figuras de mitose. Os clones celulares que resistirem, ou seja, que não forem eliminados pela vigilância imunológica do organismo, ficarão quiescentes (latentes) no sentido de que conservem a mesma cinética das células normais, ou com velocidade retardada.

Porém, se atuar novamente o cancerígeno ou mesmo outra substância não-oncogênica (agente promotor) inicia-se nova sucessão de fenômenos, que levam ao câncer.

A reação da epiderme e derme ao MCA., no Grupo I, foi bem característica do agente ini-

ciador (figs. 4, 5), porém no experimento II que recebeu paralelamente a única dose de MCA. 1mg de FB. semanalmente, o quadro histológico revelou redução considerável da reação inflamatória e um aceleração do processo de quiescência da epiderme (figs. 2, 3, 4), fatores estes importantes para a promoção tumoral.

CONCLUSÃO

Nossos resultados preliminares nos mostraram que quando a FB. é aplicada semanalmente intra-peritonealmente, após a ação de uma única dose do cancerígeno potente MCA., sua ação é bem marcante no aceleração da quiescência do tecido iniciado, dando um resultado bastante

FIGURA 5 — GRUPO I Segunda semana de experimento. Epiderme hiperplásica; infiltrado inflamatório moderado na derme (HE. 400X)

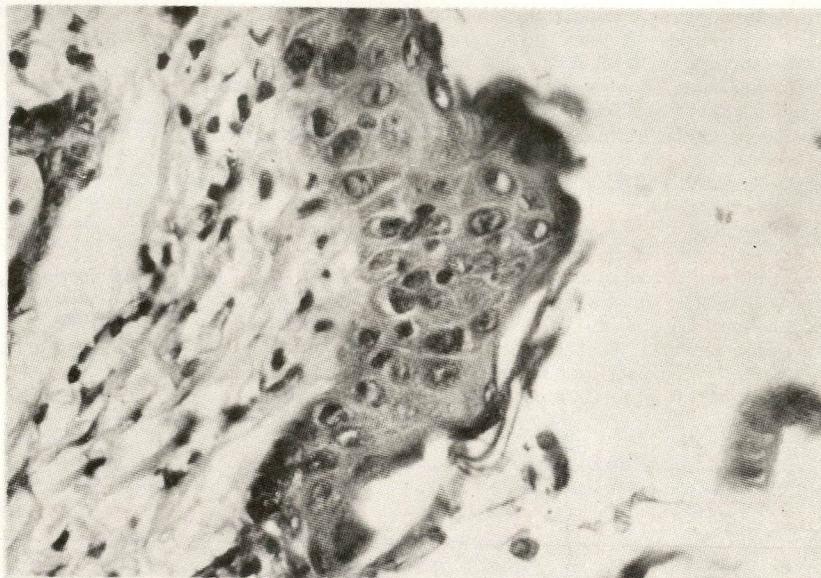


FIGURA 6 — GRUPO I Sétima semana. Epiderme hiperplásica; infiltrado inflamatório moderado na derme (HE. 400X)

animador, desde que nos interroguemos sobre se este fator teria influência:

- no tempo de aparição dos primeiros papilomas durante a tumorigênese iniciada pelo MCA, e
- no período de latência.

SUMMARY

The effect of intra-peritoneal phenylbutazone administration after a single application of the complete carcinogen MCA was very important in the epidermal quiescence process.

UNITERMS: *Chemical carcinogenesis, non steroidal antiinflammatory.*

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

1. Berenblum, I.: The cocarcinogenic action of croton Cancer Res., 1 (6): 44-48, 1941.
2. Berenblum, I. & Shubik, P.: A new quantitative approach to the study of the stages of chemical carcinogenesis in the mouse skin. Br. J. Cancer, 3 (22): 383-391, 1947.
3. Berenblum, I. & Shubik, P.: The persistence of latent tumour cells induced in the mouse skin by single application of 9: 10 - dimethyl - 1: 12-benzanthracene. Br. J. Cancer, 3 (22): 384-386, 1949.
4. Berenblum, I.: A especulative review of the probable nature of promoting action and its significance in the understanding of the mechanism of carcinogenesis. Cancer Res., 7 (14): 471-477, 1954.
5. Bogliolo, L.: Transtornos locais do crescimento e da diferenciação celular. I. Noções gerais, classificação e nomenclatura. In: id., Patologia Geral Básica. 1a. ed., Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan 1978, cap. 46, p. 595-637.
6. Bogliolo, L.: Transtorno do crescimento e da diferenciação celular. I. Generalidades e Classificação. Hipotrofia, hipertrofia, hipoplasia, hiperplasia, metaplasia, lesões pré-cancerosas. In: id., Patologia Geral, 3a. ed., Rio de Janeiro. Ed. Guanabara Koogan, 1981, cap. 9, p. 169-191.
7. Bogliolo, L.: Transtorno do crescimento e da diferenciação celular. II. Tumores. In: id., Patologia Geral. 3a. ed., Rio de Janeiro, Ed. Guanabara Koogan, 1981, cap. 10, p. 192-241.
8. Flore, L.: Estudio de los tumores en los animales. In: Berenblum, I.: Patologia geral Espania, Ed. Salvat Editores S.A., 1972, cap. 24, p. 623-654.
9. Reymão, M. S.: Estudo sob os efeitos de Antiinflamatório não esteróide sobre a carcinogênese química na pele do camundongo BALB/C (Estudo estrutural e ultra-estrutural). Niterói, Universidade Fluminense, 1983 (Tese de Mestrado).
10. Saffiotti, U. & Shubik, P.: Studies on promoting action in skin carcinogenesis. Natl. Cancer Inst., Mongr. 10: 489-507, 1963.
11. Scribner, J. D. & Slaga, T. J.: Influence of nonsteroid anti-inflammatory agents on protein synthesis and hyperplasia caused by a tumor promoter. J. Nat. Cancer Inst., 6 (52): 1865-1867, 1974.
12. Setala, K. et alii.: Mechanism of experimental tumorigenesis I. Epidermal hyperplasia in mouse caused by locally applied tumor initiator and dipoletype tumor promoter. J. Nat. Cancer Inst., 5 (23): 925-951, 1959.
13. Setala, K. et alii.: Mechanism of experimental tumorigenesis, VIII. Ultrastructural alterations in mouse epidermis caused by carcinogen administered orally. J. Nat. Cancer Inst., 4 (26): 985-1008, 1961.
14. Slaga, P. J. & Scribner, J. D.: Breef communication: inhibition of initiation and promotion by anti-inflammatory agents. Nat. Cancer Inst., 5 (51): 1723-1725, 1973.
15. Sharma, J. N. et alii.: Some modern aspects of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Pharmatherapeutica, 6 (2): 387-396, 1980.
16. Sperling, I. L.: Adverse reactions with long term use of phenylbutazone and oxyphenylbutazone. Lancet, (6): 535-537, 1969.
17. Weinstein, I. B. & Troll, W.: National cancer institute workshop on tumour promotion and cofactors in carcinogenesis. Cancer Res., 37, 3461-3463, 1977.