



Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Comunicação Científica e Técnica em Medicina

3

**Atena**
Editora
Ano 2020



Benedito Rodrigues da Silva Neto
(Organizador)

Comunicação Científica e Técnica em Medicina

3


Ano 2020

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecário

Maurício Amormino Júnior

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Karine de Lima Wisniewski

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição 4.0 Internacional (CC BY 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

A Atena Editora não se responsabiliza por eventuais mudanças ocorridas nos endereços convencionais ou eletrônicos citados nesta obra.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Álvaro Augusto de Borba Barreto – Universidade Federal de Pelotas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionale delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Prof^ª Dr^ª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof^ª Dr^ª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof^ª Dr^ª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Prof^ª Dr^ª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Prof^ª Dr^ª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^ª Dr^ª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Alexandre Leite dos Santos Silva – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Dra. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^ª Dr^ª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá

Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Me. Adalto Moreira Braz – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Adaylson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás
Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina

Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Dr. Fabiano Lemos Pereira – Prefeitura Municipal de Macaé
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Albornoz – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior
Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo
Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará
Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal

Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba
Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco
Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão
Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo
Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana
Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí
Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo
Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecário Maurício Amormino Júnior
Diagramação: Maria Alice Pinheiro
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizador: Benedito Rodrigues da Silva Neto

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
(eDOC BRASIL, Belo Horizonte/MG)**

C741 Comunicação científica e técnica em medicina 3 [recurso eletrônico] / Organizador Benedito Rodrigues da Silva Neto. – Ponta Grossa, PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader.

Modo de acesso: World Wide Web.

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-399-6

DOI 10.22533/at.ed.996201609

1. Médicos. 2. Medicina – Pesquisa – Brasil. I. Silva Neto, Benedito Rodrigues da.

Elaborado por Maurício Amormino Júnior – CRB6/2422

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

APRESENTAÇÃO

Dando continuidade à obra “Comunicação científica e técnica em medicina” mais uma vez focaremos os nossos esforços em apresentar ao nosso leitor produção científica de qualidade relacionada as atualidades e novas abordagens aplicadas na medicina. O princípio desta obra se fundamentou no fato de que o avanço do conhecimento sempre está relacionado com o avanço das tecnologias de pesquisa e novas plataformas de bases de dados acadêmicos, deste modo, objetivamos na sequencia desta obra com os novos volumes aprofundar o conhecimento nas diversas técnicas de estudo do campo médico e da saúde. É fato que a disponibilização destes dados através de uma literatura, rigorosamente avaliada, evidencia a importância de uma comunicação sólida com dados relevantes na área médica.

O período atual, em que a pesquisa aplicada à saúde recebeu todos os holofotes, demonstra o quão valioso é o trabalho dos docentes e acadêmicos aqui publicados. A ciência vive um período em que o conhecimentos tradicional aliado às novas possibilidades tecnológicas, possibilitam a difusão de novos conceitos, embasando assim a importância da título dessa obra, haja vista que um determinado dado científico para ser reproduzido precisa também ser muito bem embasado metodologicamente. Portanto, esta obra, compreende uma comunicação de dados muito bem elaborados e descritos das diversas áreas da medicina, com ênfase em conceitos tais como assistência farmacêutica, pediatria, farmacotécnica, mama, matriz dérmica, cirurgia, ponto de safena, doença inflamatória intestinal, assistência de enfermagem, saúde do homem, doenças cardiovasculares, Alzheimer, alterações biopsicossociais, educação sexual, medicamentos, hipertensão, arterial, diálise renal, práticas interdisciplinares, tecnologia em saúde, diabetes mellitus, cuidado pré-natal, disfunção erétil, hemodinâmica, anatomopatologia, dentre outros diversos temas relevantes.

Deste modo a obra “Comunicação científica e técnica em medicina – volume 4” pretende dar continuidade à obra já iniciada pela Atena Editora, apresentando ao leitor uma teoria bem fundamentada desenvolvida em diversas partes do território nacional de maneira concisa e didática. A divulgação científica é fundamental para o desenvolvimento e avanço da pesquisa básica em nosso país, por isso parabenizamos a estrutura da Atena Editora pela continuidade do trabalho e por oferecer uma plataforma consolidada e confiável para estes pesquisadores divulguem seus resultados.

Mais uma vez desejo à todos uma excelente leitura!

Benedito Rodrigues da Silva Neto

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

ASSOCIAÇÃO DE IMUNONEFRITE RELACIONADA A IMUNOTERAPIA NO TRATAMENTO DO ADENOCARCINOMA DE PULMÃO METASTÁTICO: RELATO DE CASO

Julia Pastorello
Emanuela Lando
Natalia Bassani Schuch
Marina Ractz Bueno
Camila dos Santos do Amaral
Cristiane Pagnussat Cechetti

DOI 10.22533/at.ed.9962016091

CAPÍTULO 2..... 4

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO DO ÓLEO DE MATRIZES DE COPAÍFERA, FRENTE AS CEPAS K. PNEUMONIANE C. ALBICANS

João Marcos Dichtl Oliveira
Hugo Cavalcanti de Oliveira Melo
João Victor Nogueira do Nascimento
Frederico Barreto Frazão
João Victor Campos Silva
Eduardo Matias dos Santos
Luã Luiz dos Reis Fernandes
Allannys Mythya Cabral Rodrigues Javaé
Gustavo Brito da Silva Araújo
César Magno Costa Carvalho
Mariana Pereira do Nascimento
Larisse Celestino Pachêco

DOI 10.22533/at.ed.9962016092

CAPÍTULO 3..... 16

BUSCA ATIVA E EDUCAÇÃO EM SAÚDE SOBRE HANSENÍASE NA UBS NOVO MILLENIUM: UM RELATO DE EXPERIÊNCIA

Dener Cardoso Machado
Gabriella Cecília Vanin
Izabella Silva Sguarezi
Kennedy de Oliveira Santos
Larissa Paulino
Maeli Romero de Oliveira
Rafael França Vidal

DOI 10.22533/at.ed.9962016093

CAPÍTULO 4..... 25

CASOS DE TÉTANO ACIDENTAL NO MUNICÍPIO DE SOBRAL, CE, DE 2013 A 2017

Mariana Augusta Araújo de Amorim Medeiros
Ana Beatriz Gomes Santiago
Anne Karolynne Martins de Alencar
Emanuella de Oliveira Coriolano

Kauany Sousa Aguiar
Lissa Rosário Medeiros de Araújo
Marina Uchôa de Alencar
Milla Rolim Carneiro
Naiara Ferro de Araújo
Natália Abreu Silva Vieira
Roberclaudia Andrade Nantua de Oliveira
Roberta Lomonte Lemos de Brito

DOI 10.22533/at.ed.9962016094

CAPÍTULO 5.....29

COMPLICAÇÕES INFECCIOSAS E NÃO INFECCIOSAS NO PRIMEIRO ANO PÓS-TRANSPLANTE RENAL

Tamires Hillesheim Mittelmann
Édina Starck
Lucas Rosa Nakalski
Marcos Vinicius Perez Lovatto
Débora Tavares de Resende e Silva

DOI 10.22533/at.ed.9962016095

CAPÍTULO 6.....42

DIVERTÍCULO DE ZENKER: DO DIAGNÓSTICO AO TRATAMENTO

Mariana Carvalho Caleffi
Adriana Cristhian Cardoso Sobrinho
Ana Carolline Carvalho Prado
Ana Clara Honorato Chaves
Ana Isabel Dalberto Simões
Eduardo Venancio Vasconcelos
Felipe Vaz de Paula
Jady Rodrigues de Oliveira
Larissa de Sousa Oliveira
Martha Carvalho de Freitas
Natália Martins Santos
Stéffany Ferreira

DOI 10.22533/at.ed.9962016096

CAPÍTULO 7.....47

ESTABELECIMENTO DE MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL PARA AVALIAÇÃO DA CARCINOGENESE MAMÁRIA PELO DMBA UTILIZANDO A TÉCNICA DA RT-qPCR

Alice Maria de Souza-Kaneshima
João Paulo Salvaterra Pasquini
Sheila Alexandra Belini Nishiyama
Tania Cristina Alexandrino Becker
Edilson Nobuyoshi Kaneshima

DOI 10.22533/at.ed.9962016097

CAPÍTULO 8..... 61

GLIOMAS DE ALTO GRAU, APRESENTAÇÃO CLÍNICA: REVISÃO DE LITERATURA

Julia Pastorello
Emanuela Lando
Marina Ractz Bueno
Cristiane Pagnussat Cechetti
Camila dos Santos do Amaral

DOI 10.22533/at.ed.9962016098

CAPÍTULO 9..... 66

LEISHMANIOSE NO TRATO GASTROINTESTINAL: REVISÃO DE LITERATURA E RELATO DE CASO

Sávio Samuel Feitosa Machado
Munya Gandour Freire
Jucier Gonçalves Júnior
Cláudio Gleidiston Lima da Silva
Maria do Socorro Vieira Gadelha

DOI 10.22533/at.ed.9962016099

CAPÍTULO 10..... 77

LESÃO RENAL AGUDA EM PACIENTES CIRRÓTICOS: ASPECTOS CLÍNICOS E MEDIDAS TERAPÊUTICAS

Ana Carolline Carvalho Prado
Ana Isabel Dalberto Simões
Bárbara Santos Rodrigues
Eduardo Venancio Vasconcelos
Isabela Ribeiro Mascarenhas
Isadora Rezende Mendonça
Luenny Xavier de Castro
Mariana Carvalho Caleffi
Martha Carvalho de Freitas
Natália Martins Santos
Rodrigo Brito Monteiro
Stéffany Ferreira

DOI 10.22533/at.ed.99620160910

CAPÍTULO 11..... 82

LINFOMA NÃO HODGKIN, UMA APRESENTAÇÃO ATÍPICA DE CÉLULAS IMATURAS EM AMOSTRA DO LÍQUIDO PLEURAL: RELATO DE CASO

Julia Pastorello
Emanuela Lando
Denise Ramos de Almeida
Marina Ractz Bueno
Cristiane Pagnussat Cechetti
Camila dos Santos do Amaral

DOI 10.22533/at.ed.99620160911

CAPÍTULO 12.....	85
MEDIDAS DE PREVENÇÃO A SEREM ADOTADAS POR GRUPOS DE RISCO E GESTANTES NA PANDEMIA DO SARS-CoV-2: UMA REVISÃO DA LITERATURA	
Mateus Saldanha Fróis	
Roberta Aparecida de Moraes	
Géssica Meuryen Ferreira Rodrigues	
José Luciano Soares	
Francielle Karen da Silva	
Letícia Aparecida Gontijo	
Ana Luisa Ferreira do Couto	
José Lucas Braga Veloso	
Marilda dos Santos Costa	
Marcos Alberto Saldanha	
Aline Aparecida Saldanha	
DOI 10.22533/at.ed.99620160912	
CAPÍTULO 13.....	102
PAPEL DOS FLAVONOIDES NA DOENÇA DE PARKINSON	
Jackson da Silva Pereira	
Fabiani Lage Beal	
DOI 10.22533/at.ed.99620160913	
CAPÍTULO 14.....	119
TECNOLOGIA DA REAÇÃO EM CADEIA DA TRANSCRIPTASE REVERSA (RT-PCR) PARA DIAGNÓSTICO MOLECULAR DE FEBRE AMARELA	
Camila Cassia Silva	
Maria Elizabeth de Oliveira	
DOI 10.22533/at.ed.99620160914	
SOBRE O ORGANIZADOR.....	123
ÍNDICE REMISSIVO.....	124

ESTABELECIMENTO DE MODELO EXPERIMENTAL ANIMAL PARA AVALIAÇÃO DA CARCINOGENESE MAMÁRIA PELO DMBA UTILIZANDO A TÉCNICA DA RT-QPCR

Data de aceite: 01/09/2020

Data da submissão: 05/06/2020

Alice Maria de Souza-Kaneshima

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Ciências Básicas da
Saúde; Maringá-PR. [http://lattes.cnpq.
br/2642062503039424](http://lattes.cnpq.br/2642062503039424)

João Paulo Salvaterra Pasquini

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Biomedicina; Maringá-PR.
<http://lattes.cnpq.br/8377834644520519>

Sheila Alexandra Belini Nishiyama

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Ciências Básicas da
Saúde; Maringá-PR. [http://lattes.cnpq.
br/3278930039148520](http://lattes.cnpq.br/3278930039148520)

Tania Cristina Alexandrino Becker

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Ciências Básicas da
Saúde; Maringá-PR. [http://lattes.cnpq.
br/1536135079919278](http://lattes.cnpq.br/1536135079919278)

Edilson Nobuyoshi Kaneshima

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Medicina; Maringá-PR. [http://
lattes.cnpq.br/7618525126292006](http://lattes.cnpq.br/7618525126292006)

RESUMO: Mecanismos moleculares de genes e a interação dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) têm sido relacionados com a carcinogênese mamária. O 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA) é um

HAPs utilizado para induzir o desenvolvimento do câncer de mama em modelos experimentais animais. A técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real precedida por transcrição reversa (RT-qPCR) pode ser utilizada para avaliar a expressão de genes em resposta ao tratamento à determinada substância química. Foram utilizados 21 ratos *Wistar* fêmeas divididas em dois grupos: Grupo Controle Positivo (com DMBA) e Grupo Controle Negativo (sem DMBA). Após noventa dias de experimentação foi realizada a eutanásia dos animais e remoção cirúrgica das mamas. O RNA foi extraído e o cDNA foi obtido para a análise genética. Utilizando a técnica da RT-qPCR, verificou-se um aumento na expressão de quinze genes no Grupo Controle Positivo (tratado com DMBA), enquanto dois genes apresentaram a expressão diminuída. Dez genes da classe dos proto-oncogenes apresentaram aumento da expressão gênica, demonstrando uma possível relação com o processo carcinogênico. E cinco genes supressores de tumor, também apresentaram aumento da expressão gênica. O estabelecimento da técnica da RT-qPCR permitiu a avaliação do potencial carcinogênico do DMBA, abrindo a perspectiva da realização de análises de outras substâncias, como por exemplo, extratos de plantas medicinais.

PALAVRAS - CHAVE: 7,12-dimetilbenzantraceno (DMBA), câncer de mama, RT-qPCR.

ESTABLISHMENT OF EXPERIMENTAL ANIMAL MODEL TO EVALUATE DMBA-INDUCED BREAST CARCINOGENESIS USING A RT-QPCR TECHNIQUE

ABSTRACT: Molecular mechanisms of genes and interaction of polycyclic aromatic hydrocarbons (PAHs) have been related to breast carcinogenesis. 7,12-dimethylbenzanthracene (DMBA) is a PAH used to induce the development of breast cancer in experimental animal models. The Real-Time Polymerase Chain Reaction technique preceded by reverse transcription (RT-qPCR) can be used to evaluate gene expression in response to treatment with a given chemical substance. Twenty one female *Wistar* rats were divided into two groups: Positive Control Group (with DMBA) and Negative Control Group (without DMBA). After ninety days of experimentation the animals were euthanized and their breasts surgically removed. RNA was extracted and cDNA was obtained for genetic analysis using the RT-qPCR technique. There was an increase in gene expression of fifteen genes in the Positive Control Group (treated with DMBA), while two genes presented a decreased expression. Ten genes from proto-oncogene class showed increased gene expression, demonstrating a possible relationship with the carcinogenic process. And five tumor suppressor genes also showed increased gene expression. The establishment of RT-qPCR technique allowed the evaluation of the carcinogenic potential of DMBA, opening the perspective of carrying out analyses of other substances, such as medicinal plant extracts.

KEYWORDS: 7,12 - dimethylbenzanthracene (DMBA), breast cancer, RT-qPCR.

INTRODUÇÃO

Poluentes químicos, principalmente hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP), estão presentes no meio ambiente, sendo responsáveis por diferentes tipos de câncer em animais e humanos (IARC, 2010). Evidências crescentes demonstram que além da predisposição genética, as substâncias carcinogênicas presentes no meio ambiente também podem contribuir para o desenvolvimento do câncer (Song et al., 2011). Os HAPs são formados pela combustão incompleta de derivados do petróleo, madeira, tabaco e outros materiais orgânicos, como carnes defumadas, sendo relacionados ao risco do desenvolvimento de vários tipos de câncer, inclusive o de mama (IARC, 2010). O 7,12-dimetilbenzanthraceno (DMBA) é um HAP comumente utilizado em laboratórios de pesquisa que estudam o câncer de mama, por ser considerado um potente agente carcinogênico (Macejová & Brtko, 2001).

O estudo dos mecanismos moleculares e a participação dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs) na carcinogênese mamária é de grande relevância dentro do contexto atual em termos de saúde da mulher (Song et al., 2011). Para isso, a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real precedida por transcrição reversa (RT-qPCR) pode ser utilizada na análise da expressão gênica, permitindo a distinção de sequências específicas dentro de uma mistura complexa de DNA, sendo capaz de avaliar a expressão do gene-alvo em resposta ao tratamento com uma determinada substância química, podendo assim auxiliar na avaliação do potencial carcinogênico (De Chaisemartin

& Lorient, 2005; Provenzano & Mocellin, 2007; Ma et al., 2010).

Diante do exposto, o objetivo deste trabalho foi utilizar um modelo experimental com animais de laboratório submetidos ao tratamento com o DMBA para avaliar a expressão de genes relacionados com o processo de carcinogênese mamária, utilizando a técnica RT-qPCR para o estabelecimento de um painel genético constituído por diferentes genes relacionados com o desenvolvimento do câncer.

MATERIAIS E MÉTODOS

Modelo animal experimental:

Este estudo foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual de Maringá (CEUA nº 4816181115), sendo utilizados vinte e um ratos *Wistar* fêmeas com 55 dias de idade que foram obtidos junto ao Biotério Central da Universidade Estadual de Maringá. Todos os animais foram acomodados em condições laboratoriais padronizadas de temperatura, umidade relativa e ciclo dia-noite com livre acesso à ração e água e divididos em dois grupos: Grupo Controle Negativo (sem DMBA) composto por nove animais em que foi administrado 1 mL de óleo de milho e Grupo Controle Positivo (com DMBA) composto por doze animais que receberam dose única de 65 mg/Kg de DMBA diluído em 1 mL de óleo de milho. Durante o período de 90 dias foram observados sinais de morbidade ou mortalidade entre os animais que também foram apalpados diariamente para avaliar possíveis alterações, lesões ou presença de massas tumorais no tecido mamário. Após 90 dias, todos os animais 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). O tecido mamário foi dissecado e imediatamente seccionado e transferido para tubo de microcentrífuga contendo solução de Trizol Plus RNA Purification Kit (Invitrogen, California, EUA). A extração do RNA total foi realizada, conforme instruções do fabricante. Para a síntese de cDNA foram utilizadas as enzimas SuperScript III Reverse Transcriptase (Invitrogen) e RNase Out (Invitrogen), com o emprego de OligodT (Invitrogen) e Random Primers (Invitrogen), também seguindo as instruções do fabricante. Os cDNAs sintetizados foram quantificados por espectrofotometria no NanoDrop® (Thermo Fischer Scientific, Massachusetts, EUA) e todas as amostras foram diluídas até que atingissem a concentração de 25 ng/ μ L.

Estabelecimento da técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real precedida por transcrição reversa (RT-qPCR).

As reações de amplificação foram otimizadas conforme orientações de Nolan et al. (2006), sendo realizados testes de gradientes de temperaturas de anelamento (variação de 54°C a 60°C), utilizando-se os oligonucleotídeos iniciadores (*primers*) relacionados na Tabela 1 (Sigma-Aldrich, Missouri, EUA) e o kit Platinum SYBR Green Qpcr Super Mix UGG (Invitrogen). De acordo com as instruções do fabricante e de Nolan et al., (2006), o volume

final da reação de amplificação foi de 10 µL contendo SYBR Green qPCR Super Mix 1X, 10 pmol de cada oligonucleotídeo iniciador (Forward/Reverse), 25 ng de cDNA e água ultrapura. Todas as reações foram realizadas em triplicata e com a adição de controles negativos sem material genético (branco), utilizando o equipamento StepOne™ Real-Time PCR System (Thermo Fischer Scientific) com a seguinte programação um ciclo de ativação da enzima Taq DNA

Gene	Identificação	Sequência
<i>RPL10A</i>	<i>ribosomal protein L10a</i>	F: 5'-GATGAAGAAGGTGCTGTG R: 5'-ATTGGAGCGTCTAATACAG
<i>PGK1</i>	phosphoglycerate kinase 1	F: 5'-GGAGATGTCTATGTCAATGATG R: 5'-TTTAGCTCCTCCCAAGATAG
<i>PTEN</i>	phosphatase and tensin homolog	F: 5'-CAAAGCAAACAAGACAAGG R: 5'-AGTCAGTGGTGTGAGAATATC
<i>MAPK1</i>	mitogen-activated protein kinase 1	F: 5'-CCATTGATATTTGGTCTGTGG R: 5'-ATCCAAGAATACCCAGGATG
<i>MYC</i>	MYC proto-oncogene	F: 5'-CGACTCTGAAGAAGAACAAG R: 5'-CATAATTGTGCTGGTGAAGTAG
<i>ESR1</i>	estrogen receptor 1	F: 5'-ATATGATCAACTGGGCAAAG R: 5'-CATTTACCTTGATTCCTGTCC
<i>MAPK3</i>	mitogen-activated protein kinase 3	F: 5'-CAAATCCATTGACATCTGGTC R: 5'-CAGTATACCTAGAATGTGGTTG
<i>TP53</i>	tumor protein P53	F: 5'-AGGATTCACAGTCGGATATG R: 5'-GGAGGAAGAAGTTCCAT
<i>CTNNB1</i>	catenin beta 1	F: 5'-CATCAGGAAGGAGCTAAAATG R: 5'-AGAATGATGAGCTTGCTTTC
<i>RB1</i>	RB transcriptional corepressor 1	F: 5'-AGCTAAAGGAGAAGTAGTACAG R: 5'-GGCGAGAGCTTGATAAAATAG
<i>SERPINE</i>	serpin family E member 1	F: 5'-CAATCCAACAGAGACAATCC R: 5'-GGTTGGAAAGATTACCAGTG
<i>CCND1</i>	cyclin D1	F: 5'-AAAAACAACCAACAAAGACG R: 5'-AATTTTCCTCAGTTTGATGG
<i>AR</i>	androgen receptor	F: 5'-CCTTGTTCCCTTTTCAGATG R: 5'-GTAAAGAGGCAGAGAAGAAG
<i>BRCA1</i>	breast cancer 1	F: 5'-ATGCAGAAAATCTTGGAGTG R: 5'-GTAGGCTCCTTTTGGTTATC
<i>CDH1</i>	cadherin 1	F: 5'-CGAGAGAGTTACCCTACATATAC R: 5'-GGAGCGTTGTCAATTAATATCC
<i>ERBB2</i>	erb-b2 receptor tyrosine kinase 2	F: 5'-ATAGTGGTATCTGTGAGCTG R: 5'-GTAGACAGGTAGTTGTAGGG
<i>ESR2</i>	estrogen receptor 2	F: 5'-GGAAATCTTTGACATGCTCC R: 5'-GGTACATACTGGAGTTGAGG
<i>FOXA1</i>	forkhead box A1	F: 5'-CAGGAGAGAAAAACCAACAG R: 5'-CAGATATCTCTGTATGTGTGTG
<i>CDKN2A</i>	cyclin dependent kinase inhibitor 2A	F: 5'-CGATACAGGTGATGATGATG R: 5'-GTACTACCAGAGTGTCTAGG

<i>IGF1</i>	insulin like growth factor 1	F: 5'-GCACCTCCAATAAAGATACAC R: 5'-TGGGCTTGTTGAAGTAAAG
<i>HPRT1</i>	hypoxanthine phosphoribosyltransferase 1	F: 5'-ACTGGTAAAACAATGCAGAC R: 5'-CCTGAAGTGCTCATTATAGTC

Tabela 1: Identificação dos genes e sequências específicas (*Forward/Reverse*) dos oligonucleotídeos iniciadores.

F: Sequência *Forward*; R: Sequência *Reverse*

Polimerase Termo-Start a 95°C por 5 minutos e seguido por 40 ciclos de amplificação a 95°C por 20 segundos, a 54-60°C por 30 segundos e 72°C por 20 segundos. A especificidade da amplificação foi avaliada para cada amostra, de forma que apenas o produto de interesse foi amplificado em cada reação, observando-se a formação da curva de fusão (*melting curve*). As orientações do MIQE *guidelines* descritas por Bustin et al. (2009) foram consideradas para o estabelecimento da técnica da RT-qPCR, sendo amplificado o cDNA de nove amostras do Grupo Controle Negativo utilizando o par de oligonucleotídeos iniciadores do gene *HPRT1* (gene endógeno ou normalizador). Após o estabelecimento das condições para a reação de amplificação, utilizou-se o cDNA de três amostras do Grupo Controle Negativo (sem DMBA) e também três amostras do Grupo Controle Positivo (com DMBA), sendo avaliados 20 pares de oligonucleotídeos iniciadores para o estudo da expressão gênica e sua relação com a carcinogênese mamária em ratas.

O par de oligonucleotídeo iniciador do gene endógeno ou normalizador (*HPRT1*) sempre foi utilizado em todas as análises por servir como referência para comparação entre todas as amostras analisadas. A análise comparativa foi realizada utilizando o *software* do equipamento StepOne™ Real-Time PCR System que determinou os valores referente ao ΔCT de cada gene em estudo e de $2^{-\Delta\Delta CT}$.

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o *software* estatístico Prism 8 (Graph Pad Software, California, EUA), aplicando o teste t paramétrico. Os resultados foram apresentados na forma de gráficos que possibilitaram a determinação da expressão relativa dos genes, tanto do Grupo Controle Negativo (sem DMBA) como também do Grupo Controle Positivo (com DMBA) o que possibilitou a análise comparativa entre os grupos

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste estudo foram utilizados ratos *Wistar* fêmeas com idade de 55 dias, pelo fato de que nesta idade as glândulas mamárias apresentam baixo grau de diferenciação, sendo mais suscetível à indução da carcinogênese mamária pelo DMBA (Russo & Russo, 1996).

Na Figura 1, a amplificação de parte do gene *HPRT1* (gene de referência) pode ser observada pela formação da curva de fusão, demonstrando que a amplificação ocorreu de forma satisfatória, e a linha *threshold* foi traçada pelo *software* do equipamento StepOne™

Real-Time PCR System, e faz uma interceptação na curva de fusão que encontra-se na fase exponencial de amplificação de todas as amostras analisadas. A partir deste ponto de interceptação é possível estabelecer o valor do ciclo threshold (CT) que corresponde ao número de ciclos que foram necessários para detectar um sinal fluorescente real, correspondendo à amplificação do cDNA das amostras. Valores de CT abaixo de 29 ciclos indicam grande quantidade de sequência alvo, enquanto que valores de CT acima de 38 ciclos podem significar uma quantidade insatisfatória de ácido nucleico para análise (Nolan et al., 2006).

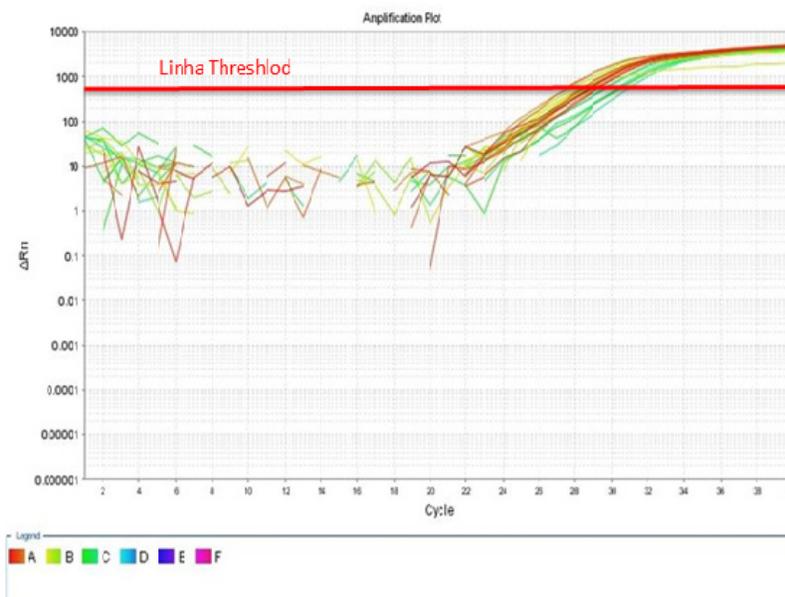


Figura 1: Amplificação de parte do gene *HPRT1* de nove amostras do Grupo Controle Negativo (sem DMBA) pela técnica da RT-qPCR, para o estabelecimento das condições de amplificação, principalmente em relação à quantidade de sequências alvo e componentes da reação de amplificação.

Na Tabela 2 estão apresentados os valores da média dos CTs das nove amostras analisadas, sendo demonstrado que a quantidade de sequência alvo foi suficiente para a análise (Provenzano & Mocellin, 2007) e a expressão do gene *HPRT1* foi homogênea entre as amostras analisadas. Todos oligonucleotídeos iniciadores relacionados na Tabela 1 foram submetidos às reações de amplificação, e verificou-se que os oligonucleotídeos correspondentes aos genes *FOXA1*, *CDKN2A* e *IGF1* não foram responsivos, ou seja, não ocorreu a amplificação da sequência alvo em nenhuma das condições pré-estabelecidas (gradiente de temperatura de anelamento e quantidade de reagentes e de cDNA contendo a sequência alvo).

Animal	CT médio	Desvio padrão
1	27,791	±0,243
2	27,946	±0,035
3	27,641	±0,395
4	27,242	±0,331
5	27,887	±0,135
6	27,832	±0,133
7	27,496	±0,307
8	27,240	±0,015
9	27,189	±0,159

Tabela 2: Valores de CT médio e desvio-padrão dos valores de CT provenientes da amplificação de parte do gene *HPRT1* de nove animais do Grupo Controle Negativo utilizando a técnica da RT-qPCR.

Os oligonucleotídeos iniciadores correspondentes aos genes *AR*, *BRCA1*, *CDH1* e *ERBB2* apresentaram melhor eficiência na reprodutibilidade dos resultados com a temperatura de anelamento em 58°C, e os demais genes (*RPL10A*, *RB1*, *MAPK1*, *ESR1*, *TP53*, *PTEN*, *SERPINE*, *CTNNB1*, *MYC*, *PGK1*, *CCND1*, *MAPK3*, *ESR2*) com a temperatura de anelamento em 60°C. O *software* do equipamento StepOne™ Real-Time PCR System realizou a análise comparativa dos valores de CT dos genes analisados com os valores obtidos com o gene *HPRT1*, tornando possível a determinação dos valores de ΔCT de cada gene em estudo, e também de valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ que estão apresentados na Tabela 3.

Os valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ foram analisados pelo *software* estatístico Prism8 e pela aplicação do teste t paramétrico foi possível a comparação da expressão gênica relativa de entre o Grupo Controle Positivo (com DMBA) com o Grupo Controle Negativo (sem DMBA), conforme observado nas Figuras 2 e 3, além da determinação do significado estatístico.

Na Tabela 3 e Figura 2A é possível observar que os genes *RPL10A* e *RB1* apresentaram diferenças estatisticamente significantes quanto a expressão gênica relativa que foi maior no Grupo Controle Positivo quando comparado com o Grupo Controle Negativo. Este aumento na expressão do gene *RPL10A* pode estar relacionado ao fato deste gene codificar uma proteína pertencente à subunidade 60S dos ribossomos de eucariotos que pode ter a atividade aumentada devido ao processo de carcinogênese (Kumar et al., 2010). O gene *RB1* é considerado um gene supressor de tumor, sendo responsável por codificar a proteína RB1 que modula a atividade de fatores de transcrição da família E2F relacionados com a progressão do ciclo celular e com a apoptose mediada pela proteína p53 (Bremmer et al., 2010). No entanto, quando ocorre o evento de carcinogênese, há um aumento na multiplicação celular, sendo possível que também ocorra aumento na expressão do gene *RB1*, visando o controle do ciclo celular.

Gene	Média dos valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ do Grupo Controle Negativo	Média dos valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ do Grupo Controle Positivo
<i>RPL10A</i> *	0,012	0,034
<i>RB1</i> *	623,053	1.622,778
<i>MAPK1</i>	24,035	13,561
<i>ESR1</i>	116,275	26,773
<i>BRCA1</i>	40,987	1.431,595
<i>TP53</i>	108,921	256,602
<i>PTEN</i>	8,119	21,825
<i>SERPINE</i>	1.145,725	1.281,495
<i>CTNNB1</i>	10,310	159,117
<i>MYC</i>	95,496	147,550
<i>PGK1</i>	0,621	3,556
<i>CCND1</i>	961,104	1.384,772
<i>AR</i>	434,509	1.335,835
<i>MAPK3</i>	24,417	115,349
<i>CDH1</i>	150,842	1.931,782
<i>ERBB2</i>	6.982,162	108.853,669
<i>ESR2</i>	6.760,909	1.233.045,97

Tabela 3: Valores de $2^{-\Delta\Delta CT}$ obtido a partir da comparação entre o Grupo Controle Negativo (sem DMBA) e o Grupo Controle Positivo (com DMBA).

* resultado com significância estatística.

A Tabela 3 e Figura 2B mostram que a expressão relativa dos genes *MAPK1* e *ESR1* foi menor no Grupo Controle Positivo quando comparado como o Grupo Controle Negativo. Muitos componentes ativos da via MAPK podem ter funções pró-tumorigênicas e antitumorigênicas (Kamiyama et al., 2015). No câncer de mama, o Receptor Estrogênico 1 ou α (RE α) pode sofrer fosforilação induzida por quinases como MAPK e Akt, desregulando as funções biológicas deste receptor (Campbell et al., 2001).

Especificamente neste trabalho, verificou-se que a expressão gênica de *MAPK1* e *ESR1* de ambos os genes estava diminuída no Grupo Controle Positivo em relação ao Negativo, sugerindo uma possível relação entre estes dois genes. Além disso, o gene *ESR1* é responsável por codificar proteínas do receptor de estrogênio 1 ou α (RE α) que atua no desenvolvimento da glândula mamária, regulando a morfogênese ductal na puberdade e a alveologênese durante a gravidez e lactação (Lee et al., 2012). A expressão diminuída do gene *ESR1* no Grupo Controle Positivo pode estar relacionado com o aumento da expressão dos genes *BRCA1* e *TP53* também observado neste grupo, a exemplo do que foi descrito por Caldón (2014).

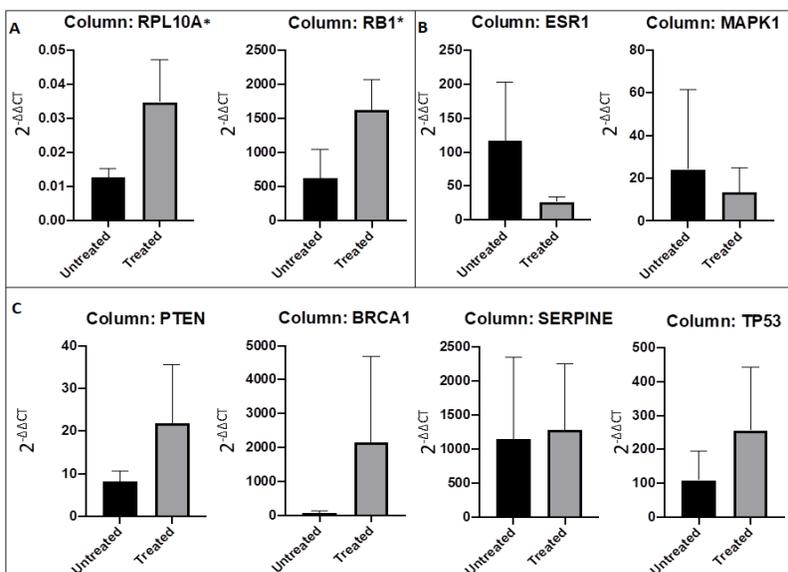


Figura 2: Representação gráfica da expressão relativa dos genes a partir de uma análise comparativa entre o Grupo Controle Negativo sem DMBA (untreated) e o Grupo Controle Positivo com DMBA (treated). A- Expressão relativa aumentada no grupo controle positivo em relação ao grupo controle negativo dos genes *RPL10A* e *RB1* com diferença estatística significativa. B- Expressão relativa diminuída no grupo controle positivo em relação ao grupo controle negativo dos genes *MAPK1* e *ESR1*. C- Expressão relativa aumentada no grupo controle positivo em relação ao grupo controle negativo dos genes supressores de tumor: *PTEN*, *BRCA1*, *SERPINE* e *TP53*

Na Tabela 3 e Figura 2C, observa-se que o Grupo Controle Positivo (com DMBA) apresentou um aumento na expressão dos genes supressores de tumores (*PTEN*, *BRCA1*, *SERPINE* e *TP53*). Provavelmente, este aumento na expressão está relacionado com a molécula do DMBA que tem potencial carcinogênico, e pode causar danos no material genético que por sua vez ativa as vias supressoras tumorais. O aumento na expressão dos genes *BRCA1*, *p53*, *PTEN*, *SERPINE*; *RB1* está relacionado com a regulação dos pontos de verificação do ciclo celular, inibindo a proliferação e progressão tumoral, além de induzir a apoptose como resposta aos eventos de estresse celular devido à hipóxia ou lesão na molécula do DNA (Khalkhali-Ellis et al., 2004; Liu et al. 2007; Guo et al., 2015; Peng et al., 2016).

Na Tabela 3 e Figura 3, observa-se que a expressão relativa dos proto-oncogenes *ERBB2*, *MYC*, *CDH1*, *ESR2*, *CCND1*, *PGK1*, *CTNNB1*, *AR* e *MAPK3* também foi maior no Grupo Controle Positivo (com DMBA) em relação ao Grupo Controle Negativo (sem DMBA).

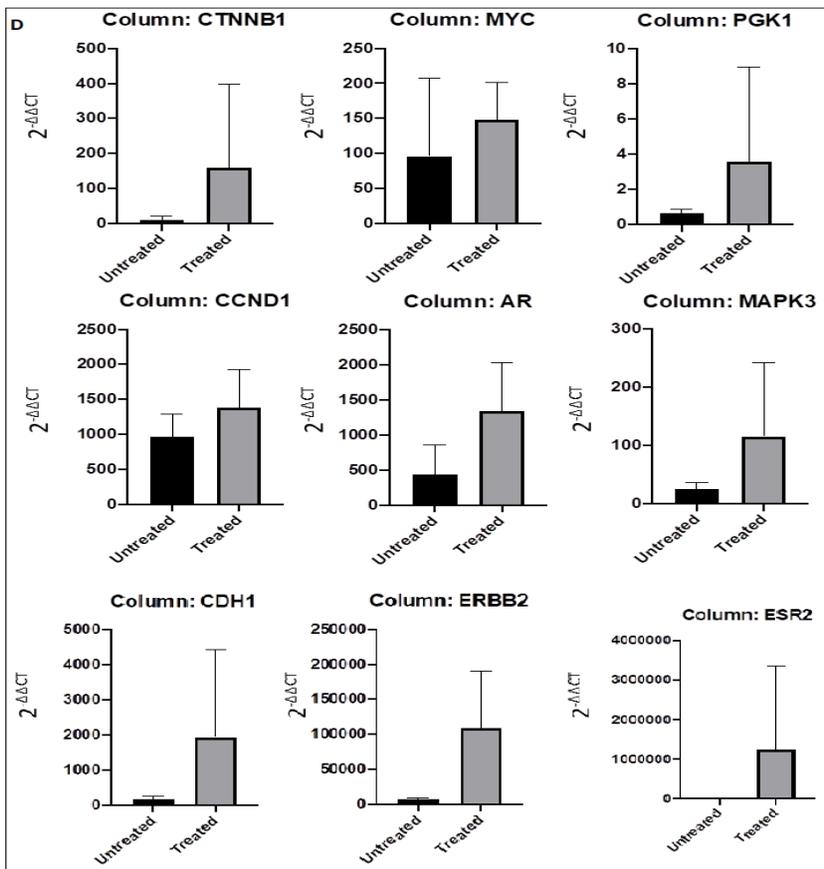


Figura 3: Representação gráfica do aumento da expressão relativa dos proto-oncogenes *ERBB2*, *MYC*, *CDH1*, *ESR2*, *CCND1*, *PGK1*, *CTNNB1*, *AR* e *MAPK3* a partir de uma análise comparativa entre o grupo controle negativo sem DMBA (*untreated*) e o grupo controle positivo com DMBA (*treated*).

O gene *ERBB2* está super-expresso em aproximadamente um terço dos cânceres de mama invasivos, sendo responsável por codificar o receptor de membrana tirosina quinase ERBB2 (HER2) presente em vários carcinomas, no entanto, em tecidos adultos normais a sua expressão é baixa ou ausente (Treekitkarmongkol & Suthiphongchai, 2010). No presente estudo, acredita-se que o carcinógeno DMBA acarretou em mutações no gene *ERBB2* e conseqüentemente um aumento na expressão gênica, a exemplo do que foi relatado por Ma et al. (2018) onde demonstraram que o DMBA tem efeito sinérgico na ativação do gene *ERBB2* e conseqüente na tumorigênese, pelo fato de aumentar os níveis de mRNA de *MYC* e *CCND1* nas glândulas mamárias pré-malignas.

O aumento da expressão gênica relativa destes dois genes também foi observado na Tabela 3 e Figura 3, reforçando a ideia de que o aumento da quantidade das proteínas

ciclina D1 (produto de codificação do gene *CCND1*) e c-Myc realmente têm um papel crucial na carcinogênese causada pelo DMBA (Currier et al., 2005; Ma et al., 2018). Kok et al. (2002) estabeleceram uma relação entre a entrada da β -catenina no núcleo celular com a transcrição dos genes *MYC* e *CCND1*, esta situação também é condizente com o aumento na expressão relativa dos genes *CCNTB1* (responsável por codificar a β -catenina), *MYC* e *CCND1* (ciclina D1) que são responsáveis pela proliferação celular, principalmente em situações de carcinogênese.

Há ainda alguns estudos que relatam uma mudança na expressão de E-caderina (proteína codificada pelo gene *CDH1*) que pode estar relacionado com a perda de adesão celular, contribuindo para a proliferação de células e inibição da apoptose (von Zeidler et al., 2014). O gene fosfoglicerato quinase 1 (*PGK1*) é um gene glicolítico, cuja proteína pode atuar como cofator da polimerase alfa que está envolvida na síntese de DNA, e portanto relacionada com o processo de carcinogênese em curso (Altenberg & Greulich, 2004).

O gene *ESR2* que codifica o Receptor de Estrogênio 2 ou β (RE β) possui expressão permanente nas células da glândula mamária, mas neste caso em particular foi observado um aumento na expressão relativa do gene *ESR2*. Portanto, é bem provável que a codificação dos receptores estrogênicos esteja aumentada e a ligação do estrogênio venha a ativar os fatores de crescimento que por sua vez aumentam os níveis de atividade da MAPK (Santen et al., 2002). Com a ativação do receptor ERBB2 (HER2) diversas vias de sinalização, incluindo a via MAPK também são ativadas podendo auxiliar na explicação do aumento da expressão relativa do gene *MAPK3* que transfere sinais mitogênicos dos fatores de crescimento para o núcleo (Iqbal & Iqbal, 2014; Schadendorf et al., 2015). O receptor androgênico (RA) está presente no epitélio da glândula mamária normal e em aproximadamente 70 a 90% dos cânceres de mama invasivos, o papel da RA no câncer de mama ainda não está claro, mas parece depender de eventos celulares, uma vez que quando ocorre o bloqueio da conversão de andrógenos em estrógenos houve proteção contra a progressão do câncer de mama em pacientes (Hu et al., 2011).

CONCLUSÕES

O estudo realizado demonstrou que o DMBA foi capaz de induzir alterações na expressão da maioria dos genes analisados que estão relacionados com o processo de carcinogênese mamária. Muitos genes que apresentaram aumento da expressão gênica são da classe dos proto-oncogenes e alguns são supressores de tumor, demonstrando uma possível relação com o desenvolvimento de um processo carcinogênico, mas indicando também a ativação de um sistema de defesa celular. Deste modo, o estabelecimento da técnica da RT-qPCR permitiu a avaliação do potencial carcinogênico do DMBA, abrindo a perspectiva para que sejam realizadas análises de outras substâncias, como por exemplo, extratos de plantas medicinais.

REFERÊNCIAS

- ALTENBERG, B.; GREULICH, K. O. **Genes of glycolysis are ubiquitously overexpressed in 24 cancer classes.** Genomics, San Diego, v. 84, n. 6, p. 1014-20, Dec. 2004.
- BREMNER, R.; ZACKSENHAUS, E. Cyclins, **Cdks, E2f, Skp2 and more at the first international RB tumor suppressor meeting.** Cancer Research, Philadelphia, v. 70, n. 15, p. 6114-6118, 2010.
- BUSTIN, S. A.; BENES, V.; GARSON, J. A.; HELLEMANS, J.; HUGGETT, J.; KUBISTA, M.; MUELLER, R.; NOLAN, T.; PFAFFL, M. W.; SHIPLEY, G. L.; VANDESOMPELE, J.; WITTEWER, C. T. **The MIQE Guidelines: Minimum Information for Publication of Quantitative Real-Time PCR Experiments.** Clinical Chemistry, Baltimore, v. 55, n. 4, p.611-622,, Apr. 2009.
- CALDON, C. E. Estrogen **signaling and the DNA damage response in hormone dependent breast cancers.** Frontiers in oncology, Lausanne, v. 4, n. 106, p. 1-9, may 2014.
- CAMPBELL, R. A.; BHAT-NAKSHATRI, P.; CONSTANTINIDOU, D.; NAKSHATRI, H.; ALI, H. **Phosphatidylinositol 3-kinase/AKT-mediated activation of estrogen receptor alpha: a new model for anti-estrogen resistance.** The Journal of Biological Chemistry, Baltimore, v. 276, n. 13, p. 9817-24, Mar. 2001.
- CURRIER, N, SOLOMON, SE, DEMICCO, E. G; CHANG, D. L.; FARAGO, M.; YING, H., DOMINGUEZ, I., SONENSHEIN, G. E.; CARDIFF, R. D. ; XIAO, Z. X.; SHERR, D. H.; SELDIN, D. C.. **Oncogenic signaling pathways activated in DMBA-induced mouse mammary tumors.** Toxicologic pathology, Newark, v. 33, n. 6, p. 726-37, Dec. 2005.
- DE CHAISEMARTIN, L.; LORIOT, M. A. **Pharmacogenetics of anticancer drugs.** Pathologie et Biologie, Paris, v. 53, n.2, p.116-24, Mar. 2005.
- GUO, Y.; CHANG, H.; LI, J.; XU, X. Y.; SHEN L.; YU, Z. B.; LIU, W. C. **Thymosin alpha 1 suppresses proliferation and induces apoptosis in breast cancer cells through PTEN-mediated inhibition of PI3K/Akt/mTOR signaling pathway.** Apoptosis, Londres, v. 20, n. 8, p. 1109-21, Aug. 2015.
- HU, R.; DAWOOD, S.; HOLMES, M. D.; COLLINS, L. C.; SCHNITT, S. J.; COLE, K.; MAROTTI, J. D.; HANKINSON, S. E.; COLDITZ, G. A.; TAMIMI, R. M. **Androgen receptor expression and breast cancer survival in postmenopausal women.** Clinical cancer research, Denville, v. 17, n.7, p. 1867–1874, Feb. 2011.
- IARC **Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans.** Some non-heterocyclic polycyclic aromatic hydrocarbons and some related exposures. IARC. Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, Geneva, v. 92, n.1, 853p., 2010.
- IQBAL, N.; IQBAL, N. Human **epidermal growth factor receptor 2 (HER2) in cancers: overexpression and therapeutic implications.** Molecular biology international, London, v. 2014, Article ID 852748, p. 1-9, Sep. 2014.
- KAMIYAMA, M.; NAGURO I.; ICHIJO H. **In vivo gene manipulation reveals the impact of stress-responsive MAPK pathways on tumor progression.** Cancer science, Tokyo, v. 106, n. 7, p.785–796., July 2015.

KHALKHALI-ELLIS, Z.; CHRISTIAN, A. L.; KIRSCHMANN, D. A.; EDWARDS, E. M.; REZAIETHOMPSON, M.; VASEF, M. A.; GRUMAN, L. M.; SEFTOR, R. E.; NORWOOD, L. E.; HENDRIX, M. J. **Regulating the tumor suppressor gene maspin in breast cancer cells: a potential mechanism for the anticancer properties of tamoxifen.** *Clinical Cancer Research*, Denville, v. 10, n. 2, p. 449–454, Jan. 2004.

KOK, S. H.; LEE, J. J.; HSU, H. C.; CHIANG, C. P.; KUO, Y. S.; KUO, M. Y. **Mutations of the adenomatous polyposis coli gene in areca quid and tobacco-associated oral squamous cell carcinomas in Taiwan.** *Journal of oral pathology & medicine*, Copenhagen, v. 31, n. 7, p. 395–401, Aug. 2002.

KUMAR, V.; ABBAS, A. K.; FAUSTO, N.; ASTER, J. C. **Robbins e Cotran: Bases patológicas das doenças.** Rio de Janeiro: Elsevier, 2016. 1421 p.

LEE, H. R.; KIM, T. H.; CHOI, K. C. **Functions and physiological role of two types of estrogen receptors, ER α and ER β , identified by estrogen receptor knockout mouse.** *Laboratory animal research*, Chungbuk, v. 28, n. 2, p.71-6, June 2012.

LIU, X.; HOLSTEGE, H.; VAN DER GULDEN, H.; TREUR-MULDER, M.; ZEVENHOVEN, J.; VELDS, A.; KERKHOVEN, R.M.; VAN VLIET, M.H.; WESSELS, L.F.A.; PETERSE, J.L.; BERNS, A.; JONKERS, J. **Somatic loss of BRCA1 and p53 in mice induces mammary tumors with features of human BRCA1-mutated basal-like breast cancer.** *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Washington, DC, v. 104, n. 29, p. 12111–12116, July 2007

MA, B. B.; HUI, E. P. MOK, T. S. **Population-based differences in treatment outcome following anticancer drug therapies.** *The Lancet. Oncology*, London, v. 11, n. 1, p. 75-84, Jan. 2010

MA, Z.; KIM, Y. M.; HOWARD, E. W.; FENG, X.; KOSANKE, S. D.; YANG, S.; JIANG, Y.; PARRIS, A. B.; CAO, X.; LI, S.; YANG, X. **DMBA promotes ErbB2-mediated carcinogenesis via ErbB2 and estrogen receptor pathway activation and genomic instability.** *Oncology Reports*, Athens, v. 40, n. 3, p. 1632-1640, Sep. 2018.

MACEJOVÁ, D.; BRTKO, J. **Chemically induced carcinogenesis: A comparison of 1-methyl-1-nitrosourea, 7,12- dimethylbenzanthracene, diethylnitroso-amine and azoxymethan models (minireview).** *Endocrine Regulations*, Bratislava, v. 35, n. 1, p. 53-59, Mar. 2001.

NOLAN, T.; HANDS, R. E.; BUSTIN, S. A. **Quantification of mRNA using real-time RT-PCR.** *Nature Protocols*, London V. 1, n. 3, p. 1559-1582, 2006.

PENG, L.; XU, T.; LONG, T.; ZUO, H. **Association between BRCA status and P53 status in breast cancer: A meta-analysis.** *Medical science monitor*, Warsaw, v. 8, n. 22, p. 1939-1945, June 2016.

PROVENZANO, M.; MOCELLIN, S. **Complementary techniques: validation of gene expression data by quantitative real time PCR.** *Advances in experimental medicine and biology*, New York, v. 593, p. 66-73, 2007.

RUSSO, J.; RUSSO, I. H. **Experimentally induced mammary tumors in rats.** *Breast cancer research and treatment*, Boston, v. 39, n. 1, p. 7-20, 1996.

SANTEN, R. J.; SONG, R.X.; MCPHERSON, R.; KUMAR, R.; ADAM, L.; JENG, M.H.; YUE,W. **The role of mitogen-activated protein (MAP) kinase in breast cancer.** The Journal of steroid biochemistry and molecular biology, Oxford, v. 80, n. 2, p. 239–256, Feb. 2002.

SCHADENDORF, D.; FISHER, D. E.; GARBE, C.; GERSHENWALD, J. E.; GROB, J. J.; HAPER, A.; HERLYN, M.; MARCHETTI, M. A.; MCARTHUR, G.; RIBAS, A.; ROESCH, A.; HAUSCHILD, A. **Melanoma.** Nature Reviews Disease Primers, London, v. 1, p. 15003, Apr. 2015.

SONG, M.; LEE, K. M.; KANG, D. **Breast cancer prevention based on gene-environment interaction.** Molecular carcinogenesis, New York, v. 50, n.4, p. 280-290, Apr. 2011.

TREEKITKARNMONGKOL, W.; SUTHIPHONGCHAI, T. **High expression of ErbB2 contributes to cholangiocarcinoma cell invasion and proliferation through AKT/p70S6K.** World journal of gastroenterology, Beijing, v. 16, n. 32, p. 4047–54, Aug. 2010.

VON ZEIDLER S. V.; BOTELHO T. S.; MENDONÇA E. F.; BATISTA A. C. **E-cadherin as a potential biomarker of malignant transformation in oral leukoplakia: a retrospective cohort study.** BioMed Central cancer, London, v. 14, n. 972, p. 1-7, Dec. 2014.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Adenocarcinoma 1, 2
Antimicrobiano 4, 5, 6, 10
Aspectos Clínicos 73, 75, 77, 78, 79, 80

B

Bacilo 16, 17, 25, 26
Biologia Molecular 7, 119, 121, 123
Busca Ativa 16, 17, 19, 20, 22, 23

C

Câncer de Mama 47, 48, 54, 57
Cirrose 77, 78, 79, 80, 81
Clínica 25, 31, 61, 62, 63, 66, 68, 72, 74, 77, 78, 79, 80, 81, 89, 93, 94, 119
Clostridium Tetani 25, 26, 27
Coronavírus 86, 87, 88, 89, 90, 94, 95, 96, 97, 99, 100

D

Diabetes Mellitus 29, 30, 34, 39, 83, 87, 90
Diagnóstico 16, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 36, 37, 39, 42, 43, 44, 45, 68, 71, 72, 73, 75, 80, 82, 83, 84, 87, 89, 91, 94, 119, 120, 121
Divertículo de Zenker 42, 43, 44, 45
Doença de Parkinson 102, 103, 113

E

Educação em Saúde 16, 18, 19, 20, 22, 23, 85, 86, 97
Endósporo 26

F

Febre Amarela 97, 119, 120, 121, 122
Fitoterápico 5
Flavonoides 102, 103, 104, 108, 109, 112, 113, 116

G

Gastroenterologia 43, 46
Gastrointestinal 25, 26, 29, 30, 33, 43, 66, 67, 71, 115

Gestantes 85, 86, 88, 92, 93, 95
Glioblastoma 61, 62, 63, 64, 65
Glioma 61, 62, 64
Grupos de Risco 85, 86, 88, 89, 97

H

Hanseníase 16, 17, 18, 19, 20, 21, 22, 23, 24
Hipertensão 29, 30, 34, 35, 37, 40, 87, 88, 89, 90, 91

I

Imunofenotipagem 82, 83
Imunoterapia 1, 2
Infecções 10, 29, 31, 32, 33, 37, 38, 68, 80, 87, 88, 120
Insuficiência Renal Crônica 29, 30, 40

L

Leishmaniose Visceral 66, 67, 68, 69, 71, 72, 73, 74, 75
Lesão Renal Aguda 77, 78, 79
Linfoma 82

N

Neoplasia 2, 62, 82, 83, 84
Neurodegenerativas 102, 104, 112

P

Polifenóis 102, 104, 108, 111, 112
Produtos Naturais 5, 7, 106

R

RT-PCR 59, 119, 120, 121
RT-qPCR 47, 48, 49, 51, 52, 53, 57, 121

S

SARS-CoV-2 85, 86, 87, 88, 89, 90, 91, 92, 93, 94, 95, 97, 98, 99, 101
Síndrome Hepatorrenal 77, 78, 79, 81

T

Terapêutica 2, 18, 20, 66, 68, 73, 78, 81, 82, 84

Tetania 26

Transplante 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37, 38, 39, 40, 66, 68, 69, 72, 73, 80, 81

Transplante de Rim 29, 39

Tratamento 1, 2, 10, 16, 18, 19, 20, 21, 22, 24, 30, 36, 37, 39, 40, 42, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 61, 63, 66, 69, 80, 81, 85, 87, 89, 91, 102, 103, 106, 109, 110, 111, 112, 113, 120, 121

-  www.atenaeditora.com.br
-  contato@atenaeditora.com.br
-  [@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora)
-  www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Comunicação Científica e Técnica em Medicina

3

 www.atenaeditora.com.br
 contato@atenaeditora.com.br
 @atenaeditora
 www.facebook.com/atenaeditora.com.br

Comunicação Científica e Técnica em Medicina

3