

RODRIGO PEDUTI BATISTA

Efeitos histolíticos do ácido acetilsalicílico

a 10% e 20% em linfonodos –

Estudo experimental em coelhos

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Cirurgia Área de Concentração em Bases Gerais da Cirurgia e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Saad-Hossne

BOTUCATU
2010

RODRIGO PEDUTI BATISTA

Efeitos histolíticos do ácido acetilsalicílico

a 10% e 20% em linfonodos –

Estudo experimental em coelhos

Dissertação apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Cirurgia Área de Concentração em Bases Gerais da Cirurgia e Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina da Universidade Estadual Paulista – UNESP, Campus de Botucatu, para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Rogério Saad-Hossne

**BOTUCATU
2010**

Ficha catalográfica elaborada pela Seção Técnica de Aquisição e Tratamento da Informação
Divisão Técnica de Biblioteca e Documentação - Campus De Botucatu - UNESP
Bibliotecária responsável: Sulamita Selma Clemente Colnago – CRB 8/4716

Batista, Rodrigo Peduti.

Efeitos histolíticos do ácido acetilsalicílico a 10% e 20% em linfonodos :
estudo experimental em coelhos / Rodrigo Peduti Batista. - Botucatu,
2010

Dissertação (mestrado) - Faculdade de Medicina de Botucatu,
Universidade Estadual Paulista, 2010

Orientador: Rogério Saad Hossne

Capes: 40102149

1. Metástase - Tratamento - Estudos experimentais.

Palavras-chave: Ácido Acetilsalicílico; Linfonodo; Metástases; Tratamento

Dedicatória

À minha esposa Andréa,

um exemplo de mãe, esposa e profissional, sempre ao meu lado com muito amor e afeto nos momentos difíceis e em todas as etapas da elaboração desta dissertação. Com seu carinho e apoio pude concretizar este sonho.

Aos meus queridos filhos,

Murilo e Gabriel, meus amores e fonte de vida.

Aos meus pais, Emílio e Sandra,

através de todos os seus exemplos de conduta e de estruturação familiar, sempre com grande valorização dos estudos e da família, fatores que embasaram minha vida.

Aos meus queridos avós Antônio (*in memoriam*) e Lourdes,

pelo apoio e suporte na concretização e complementação de meus estudos aqui em Botucatu, sem os quais nada disso teria sido possível.

Agradecimentos

Agradeço a todas as pessoas que me auxiliaram na concretização deste trabalho, com muita dedicação e qualificação profissionais:

- Ao meu orientador **Prof. Dr. Rogério Saad Hossne**, pelo grande apoio em todas as etapas deste trabalho, com boa vontade e disponibilidade ímpares. Através de suas palavras e condutas de conforto e estímulo foi possível a transposição dos diversos obstáculos surgidos nesta jornada.
 - À **Profa. Dra. Maria Aparecida Custódio Domingues**, pela interpretação das lâminas e análise histológica dos resultados encontrados, com muita simpatia e boa vontade.
 - Aos funcionários do Laboratório de Cirurgia Experimental **Ednelson Henrique Bianchi e Carlos Roberto Gonçalves de Lima** pela grande cooperação no manejo dos animais.
 - À bióloga **Profa. Dra. Glenda Silva** pela ajuda nas etapas iniciais no projeto piloto.
 - À **Profa. Rosa Valéria Ceranto Silva** pela revisão ortográfica da dissertação.
-

- Aos funcionários da Pós Graduação, **Janete Aparecida Herculano Nunes Silva, Andréa Paula Longo Devidé, Lilian Cristina Nadal Bianchi Nunes, Nathanael Pinheiro Salles e Regina Célia Spadin** pelo auxílio nas etapas da pós graduação.
 - À bibliotecária **Sulamita Selma Clemente Colnago** pela confecção da ficha catalográfica.
 - A todos os meus **professores da Disciplina de Cirurgia do Aparelho Digestivo – FMB/UNESP** pelos ensinamentos durante minha residência médica – não apenas cirúrgicos, como também didáticos e de conduta médica e profissional.
-

Lista de Figuras.....	11
Lista de Tabelas.....	13
Lista de Símbolos e Abreviaturas.....	15
Introdução.....	17
Objetivo.....	28
Método.....	30
Resultados.....	38
Discussão.....	50
Conclusão.....	64
Referências Bibliográficas.....	66
Resumo.....	81
Abstract.....	83

Lista de Figuras

Figura 1 –	Fórmula estrutural do ácido acetilsalicílico.....	31
Figura 2 –	Delineamento experimental.....	34
Figura 3 –	Grupo A (AAS a 10% - 24h): focos de necrose de coagulação e hemorragia.....	41
Figura 4 –	Grupo A (AAS a 10% - 24h): apoptose aumentada difusamente na periferia das áreas de necrose.....	41
Figura 5 –	Grupo B (AAS a 20% - 24h) : presença de eosinófilos.....	43
Figura 6 –	Grupo C (AAS a 10% - 7d) : alargamento dos seios medulares com apoptose.....	45
Figura 7 –	Grupo C (AAS a 10% - 7d) : centro germinativo com apoptose.....	45
Figura 8 –	Grupo D (AAS a 20% - 7d) : histiócitos com formação granulomatosa.....	48
Figura 9 –	Grupo D (AAS a 20% - 7d) : células gigantes.....	48
Figura 10 –	Grupo D (AAS a 20% - 7d) : lençóis de histiócitos.....	49
Figura 11 –	Grupo D (AAS a 20% - 7d) : ausência de necrose e hemorragia.....	49
Figura 12 –	Representação esquemática da anatomia do linfonodo normal.....	58

Lista de Tabelas

Tabela 1: Tamanho (cm) dos linfonodos do Grupo A	40
Tabela 2: Tamanho (cm) dos linfonodos do Grupo B.....	42
Tabela 3: Tamanho (cm) dos linfonodos do Grupo C.....	43
Tabela 4: Tamanho (cm) dos linfonodos do Grupo D.....	46
Tabela 5: Resumo das alterações histológicas nos grupos.....	47

Lista de Símbolos e Abreviaturas

ml=	mililitros
% =	porcentagem
X=	vezes
HE=	hematoxilina-eosina
mg/dl=	miligrama por decilitro
24h =	24 horas
7d =	7 dias
D0=	dia inicial
D1=	primeiro dia – 24 horas
D7=	sétimo dia
S=	sacrifício dos animais
Kg=	quilograma
μ=	micra
cm=	centímetro
AAS 10% =	solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a 10%
AAS 20% =	solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a 20%
W=	watt
kHz=	quilo-hertz
CONEP=	Comissão Nacional de Ética em Pesquisa
ATP=	trifosfato de adenosina
DNA=	ácido desoxirribonucleico
AINEs=	anti-inflamatórios não esteróides

A alta incidência mundial do câncer o coloca como um grande problema de saúde pública, tanto em países desenvolvidos como nos em desenvolvimento. Suas particularidades, no que tange à malignidade, geram grandes problemas sociais e psicológicos nos indivíduos acometidos.

O câncer é responsável por mais de 6 milhões de óbitos por ano e chega a 12% de todas as causas no mundo. As maiores taxas de incidência de câncer são encontradas nos países desenvolvidos, no entanto 5 milhões e meio dos 10 milhões de casos novos anuais são diagnosticados em países em desenvolvimento (GUERRA et al., 2005). Conforme dados da Organização Mundial da Saúde de 2008, metade dos casos novos e cerca de dois terços dos óbitos por câncer aconteceram em países de médio e baixo desenvolvimento (INCA, 2010).

Nos últimos dois séculos, a industrialização e posteriormente a globalização, proporcionaram mudanças cabais nas sociedades em geral. A economia favoreceu expressivas melhorias na qualidade de vida, nas condições de trabalho, nutrição, inclusive no acesso aos serviços de assistência à saúde. Esse processo de reorganização global gerou modificações nos padrões mundiais de saúde-doença, conhecida como transição epidemiológica. A transição epidemiológica foi caracterizada pela mudança do perfil de mortalidade com redução das taxas de doenças infecciosas e concomitante aumento das taxas de doenças crônicas degenerativas, principalmente as doenças cardiovasculares e o câncer (LAURENTI, 1990).

Nos países da América Latina ditos em desenvolvimento, essa transição epidemiológica não se deu por completo, pois observa-se simultaneamente o

aumento da ocorrência de doenças crônico degenerativas e doenças infecciosas, tais como malária e dengue, além da desnutrição (LAURENTI, 1990; ALBALA et al., 1997).

No Brasil esta transição epidemiológica é evidenciada com aumento da incidência de câncer usualmente associado a níveis sócio-econômicos mais elevados; como o de mama, reto, próstata e cólon; porém, há ainda grande incidência de tumores associados a níveis sócio-econômicos mais baixos; como o câncer de colo de útero, pênis, estômago e cavidade oral. Estima-se para o ano de 2010 a ocorrência de 489.270 casos novos de câncer no Brasil. Os tumores mais incidentes nos homens brasileiros no referido ano serão devidos ao câncer de pele não melanoma (53 mil casos novos), próstata (52 mil), pulmão (18 mil), estômago (14 mil) e cólon e reto (13 mil). Para o sexo feminino destacam-se os tumores de pele não melanoma (60 mil casos novos), mama (49 mil), colo do útero (18 mil), cólon e reto (15 mil) e pulmão (10 mil) (INCA, 2009).

A distribuição proporcional das mortes por câncer no Brasil entre os anos de 2003 e 2007 para os homens, de acordo com a localização primária do tumor, mostrou os seguintes valores: traquéia, brônquios e pulmões (16%), próstata (12,1%), estômago (11,5%), esôfago (6,6%), cólon e reto (5,7%), fígado e vias biliares intra-hepáticas (4,3%), cavidade oral (4,2%), neoplasia maligna sem especificação de localização (4%), encéfalo (3,9%), leucemias (3,9%), laringe (3,6%), pâncreas (3,6%), tecido linfático (2,9%), vesícula biliar (1,1%), outras localizações (16,7%). Para as mulheres, a distribuição proporcional das mortes por câncer para o mesmo período mostrou: mama (15,7%), traquéia, brônquios e pulmões (8,4%), cólon e reto (7,7%), colo do

útero (7,4%), estômago (7%), neoplasia maligna sem especificação de localização (4,4%), fígado e vias biliares intra-hepáticas (4,2%), pâncreas (4%), encéfalo (4%), leucemias (3,9%), vesícula biliar (2,8%), tecido linfático (2,6%), esôfago (2,2%), cavidade oral (1,2%), laringe (0,6%) e outras localizações (23,9%) (INCA, 2009).

Mediante os dados apresentados, é evidente a necessidade de investimentos no desenvolvimento de ações abrangentes para o controle do câncer, nos diferentes níveis de atuação, como: promoção da saúde, detecção precoce, assistência aos pacientes, vigilância, formação de recursos humanos, comunicação e mobilização social, pesquisa e gestão do Sistema Único de Saúde (INCA, 2009).

A avaliação destas neoplasias citadas explicita alguns aspectos clínicos e evolutivos semelhantes, principalmente relacionados às metástases e prognóstico.

O carcinoma de colo uterino e o câncer de mama são os tumores ginecológicos mais importantes e, nas suas fases mais avançadas, apresentam metástases linfonodais e à distância (fígado, pulmões, ossos e cérebro) (JONES, 1990; TRUFELLI et al, 2008), sendo demonstrado pior prognóstico e queda na sobrevida de pacientes com metástases linfonodais e hepáticas no diagnóstico inicial (MORLEY et al., 1992; TRUFELLI et al., 2008). Em relação ao carcinoma de mama, cerca de 50% das pacientes apresentam doença metastática, principalmente para linfonodos axilares, ainda no diagnóstico inicial (GRIFFITHS et al., 1997; TRUFELLI et al., 2008).

Os cânceres de pulmão, traquéia e brônquios são neoplasias de elevada incidência e com alta taxa de mortalidade, que acarretaram cerca de 160.000

óbitos nos Estados Unidos da América em 2005 (OMS, 2005). São tumores com grande incidência de metástases linfonodais, pulmonares, mediastinais, ósseas, cerebrais e hepáticas (SAAD-HOSSNE, 2001).

Entre as principais causas de metástases hepáticas pode-se considerar os tumores gastrintestinais, sobretudo os colorretais. (ROGIERS et al., 2000).

Em todas as neoplasias acima relacionadas, bem como outras também prevalentes, a presença de metástases associa-se com pior prognóstico e dificuldades terapêuticas, sendo que o prognóstico dos pacientes com neoplasias malignas guarda relação direta e estreita com o estado evolutivo da doença. A presença de metástases mostra a importância do diagnóstico do câncer nas fases iniciais para obtenção de melhores resultados terapêuticos. (SAAD-HOSNE, 2001).

As metástases hepáticas são muitas vezes de difícil diagnóstico em fases precoces, principalmente pela escassez de sinais e sintomas; e são habitualmente diagnosticadas por exames de imagem (como ultrassonografia e tomografia computadorizada) ou mesmo no intraoperatório.

O tratamento destas metástases hepáticas é muitas vezes um desafio terapêutico, no qual são avaliados diversos fatores, como idade e condições clínicas do paciente, estadiamento do tumor primário e o número e localização das mesmas.

São diversas as técnicas terapêuticas empregadas e as principais são: ressecção cirúrgica, ligaduras arteriais, embolização e quimioterapia, ablação e até a terapia genética. (SAAD-HOSSNE, 2001). A ressecção cirúrgica é, até o presente momento, a principal modalidade terapêutica que oferece maiores possibilidades de cura. (SCHLAG et al., 1999; TANIAI et al., 2007).

A técnica do *downstaging* associando-se quimioterápicos como 5 fluoracil, leucovorin e fluorodesoxiuridina, oxacisplatina e mitomicina intra-arterial ou endovenosa à ressecção cirúrgica tem levado a melhorias do prognóstico. (BERLIN et al., 1999; LINK et al, 1999; TAKANISHI et al., 1999; GORNET et al., 2000; SAAD-HOSSNE, 2001; LAU et al., 2004). Diversos trabalhos mostram o uso concomitante de quimioterápicos e anticorpos monoclonais levando a aumento do tempo de progressão livre de doença (HURWITZ et al., 2004; PINHO et al., 2004; SALTZ et al., 2008; HOCHSTER et al., 2008) e mesmo o uso de anticorpos monoclonais em pacientes refratários à quimioterapia (VAN CUTSEM et al., 2007).

O tratamento adjuvante é feito principalmente pela quimioterapia, imunoterapia e ablação, que visam sobretudo a melhora da qualidade de sobrevida, aumento do tempo livre de doença e o tratamento da neoplasia residual.

A ablação da massa tumoral é considerada como o principal método paliativo. As técnicas mais utilizadas são: uso de substâncias citolíticas e necrotizantes como o álcool, a crioterapia, a radiofrequência, o laser e microondas. (SAAD-HOSSNE, 2001).

A radiofrequência conquistou espaço como técnica de ablação. Seu efeito provém da hipertermia, utilizando-se um aparelho de ondas variáveis entre 300 a 500 khz, com potência entre 60 a 200W e uso de agulha/eletrodo introduzida diretamente no tecido hepático, que leva à necrose progressiva local, monitorada por ultrassonografia. (BILCHIK et al., 1999; PEARSON et al., 1999; CURLEY et al., 1999; GAZELLE et al., 2000; CURLEY et al., 2001;

SHIBATA et al., 2002; LENCIONI et al., 2003; FELIBERTI et al., 2006; RATH et al., 2008).

Assim como as metástases hepáticas, a disseminação linfonodal das neoplasias malignas entra como um dos principais fatores de prognóstico e recidiva das neoplasias, bem como a recorrência local e o estadiamento. Os tumores do trato gastrointestinal como os de pâncreas e árvore biliar, estômago, esôfago e os tumores colorretais frequentemente apresentam metástases linfonodais ao diagnóstico. A caracterização do acometimento linfonodal é fundamental na programação terapêutica e, conseqüentemente, nos resultados dos diversos tratamentos disponíveis. Nos tumores colorretais, por exemplo, estima-se que um mínimo de 12 linfonodos devem ser removidos para exame anatomopatológico e adequada avaliação nodal em termos oncológicos (BAXTER et al., 2005; CHANG et al., 2007; BILIMORIA et al., 2008)

A ressecção linfonodal, em algumas situações, reveste-se de fatores limitantes, tais como número e localização dos linfonodos comprometidos e principalmente a aderência a órgãos e estruturas adjacentes. (BERGER et al., 2005; PRINCIPE et al., 2006; MINAGAWA et al., 2006).

A principal modalidade terapêutica para tratamento dos linfonodos metastáticos é indubitavelmente a ressecção cirúrgica, que permite o estadiamento da neoplasia primária e a remoção de eventuais linfonodos comprometidos. Desta forma é a única possibilidade de cura até o presente momento. A ressecção do maior número possível de linfonodos deve ser uma meta a ser atingida e visa melhores resultados em cirurgia oncológica. (OKUNO et al., 2007; KODERA et al., 2009; OVREBO et al, 2010).

Em alguns pacientes, porém, esta exérese cirúrgica não é possível, seja pelo fato dos linfonodos estarem aderidos a estruturas adjacentes e/ou devido à sua localização, que dificulta ou impossibilita a sua retirada. Para estes pacientes a terapêutica fica limitada e compromete sobremaneira o prognóstico. Nestas situações, conforme citado anteriormente, pode-se lançar mão da quimioterapia neoadjuvante ou adjuvante, bem como da radioterapia ou da hormonioterapia, terapêuticas que podem transformar um tumor localmente avançado, muitas vezes irressecável, em um tumor ressecável, aumentando substancialmente os índices de sucesso. (TANVETYANON et al., 2005; MELO & VIOLET, 2007; GILLEN et al., 2010).

Ao considerar tais dificuldades e características da terapêutica das metástases linfonodais, novas opções de tratamento necessitam ser desenvolvidas. Para que estas novas opções terapêuticas tenham aplicabilidade é de se esperar que tenham uma boa taxa de eficácia, um baixo custo, pouca frequência de efeitos colaterais e que sejam de fácil execução.

Com base em pesquisas anteriores desenvolvidas no Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Medicina de Botucatu, nas quais foram estudados os efeitos de diversas substâncias com ação histolítica, surgiu a idéia de avaliar o possível efeito deste tipo de solução em linfonodos (normais ou neoplásicos) em animais de experimentação.

A seguir será sucintamente apresentada a linha de pesquisa iniciada na dedada de 70 e ainda em desenvolvimento no Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu, que permitirá justificar e entender a ideia do uso do ácido acetil salicílico em linfonodos.

Hossne, em 1972, apresentou a possibilidade do uso de “soluções esclerosantes” em cães para o tratamento da hiperplasia prostática benigna, uma vez que era preconizado o emprego da criocirurgia, que favorecia necrose inicial e posterior fibrose, fator que poderia ser reproduzido com estas soluções. Algumas soluções foram testadas inicialmente, porém com resultados insatisfatórios: glicose hipertônica e oleato de monoetanolamina.

Em seguida foi testada uma solução “esclerosante” citada na literatura cuja composição era o fenol, o ácido acético glacial, glicerina e água bidestilada. (TALWAR & PANDE, 1966; SHIPMAN & AKILE, 1967; KALIDAS, 1967; MILROY, 1968; REDDINGTON, 1968; ANGEL, 1969). Foi estudada no Laboratório de Cirurgia Experimental a ação desta droga no tecido prostático, verificou-se necrose tecidual e posterior fibrose (CAMARA, 1973; CAMARA et al, 1976). A seguir, esta solução foi usada no tratamento local do carcinossarcoma de *Walker* 256 implantado no fígado de ratos e mostrou que pode levar à destruição do tecido neoplásico hepático. (MACEDO et al., 1979)

Saad-Hossne estudou em 1992 os efeitos da solução sobre a serosa peritoneal e fígado de cobaias normais. Foram observados no tecido hepático necrose de coagulação e ao exame histopatológico do peritônio não foram observadas alterações. (SAAD-HOSSNE, 1992)

Em 1997 foram pesquisados os efeitos da “solução esclerosante” no tumor ascítico de Ehrlich, *in vitro* e *in vivo*, a fim de se saber se a mesma leva à morte celular. Sua aplicabilidade seria na ascite neoplásica com finalidade terapêutica. Os resultados mostraram *in vitro* a morte das células tumorais e *in vivo* a redução destas células e aumento de células inflamatórias em

suspensão no líquido ascítico, uma resposta dose dependente (SAAD-HOSSNE, 1997).

Com o intuito de identificação dos componentes e as concentrações menos tóxicas desta solução, foi iniciado estudo de cada um dos compostos isoladamente. O ácido acético apresentou bons resultados in vitro.

Com vistas à redução de riscos de toxicidade, iniciaram-se pesquisas in vivo com o ácido acético isoladamente. Alguns autores estudaram efeitos, dose letal e grau de toxicidade em trabalhos experimentais (TAMAI et al., 1997; IAMAMURA et al., 1997). Alguns autores mostraram os efeitos necrotizantes no fígado em humanos (OHNISHI et al., 1993; OHNISHI et al., 1994; IAMAMURA et al., 1995; TAMAI et al., 1997).

A partir destes trabalhos, cogitou-se o uso de outra droga menos tóxica, amplamente utilizada em medicina, semelhante ao ácido acético – o ácido acetilsalicílico - um éster do ácido acético que contém o componente salicílico de efeito sabidamente queratolítico.

Assim, em 2001, foi realizada tese de doutoramento, na qual foram avaliados os efeitos da solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico e da solução aquosa de ácido acético em fígado de animais saudáveis e portadores de tumor, usado como modelo in vitro as células em suspensão de carcinoma VX-2 e in vivo células tumorais VX-2 implantadas em fígado de coelhos (SAAD-HOSSNE, 2001).

Como resultado dessas análises feitas, chegou-se às seguintes conclusões:

1. *In vitro*, a solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico e a solução aquosa de ácido acético causam morte (inviabilidade) das células neoplásicas.
2. *In vivo*, nos animais sadios, ambas as soluções, quando injetadas no fígado acarretam, após 24 horas da injeção, a destruição localizada (necrose de coagulação); após 14 dias as lesões desaparecem ou são substituídas por discreto processo cicatricial (fibrose). Nos animais com carcinoma VX-2 no fígado, ambas as soluções acarretam, após 24 horas, necrose do tecido tumoral; decorridos sete dias as áreas destruídas se mostram livres de tecido tumoral, ocorre regeneração do tecido hepático em focos de fibrose e infiltrado inflamatório.

Estas conclusões de natureza experimental, em especial os efeitos das soluções *in vivo* por destruir tecido hepático tumoral, embasaram a aplicação clínica da solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico no tratamento de metástases hepáticas irressecáveis em seres humanos, projeto aprovado pela CONEP (parecer 946/2006), em fase inicial de implantação em nosso serviço.

Em conformidade com esta linha de pesquisa e mediante resultados anteriormente obtidos, foi iniciado o estudo dos efeitos histolíticos do ácido acetilsalicílico após injeção local em linfonodos de coelhos sadios.

Objetivo

Analisar os efeitos das soluções bicarbonatadas de ácido acetil salicílico a 10% e 20% em linfonodos de coelhos sadios, no intuito de responder os seguintes questionamentos:

1. As soluções teste causam destruição localizada dos linfonodos em 24 horas (efeito histolítico)?
 2. Quais alterações histopatológicas são encontradas nos linfonodos, 7 dias após a injeção das soluções testes (fase mais tardia)? Há regeneração dos linfonodos avaliados em 7 dias em relação às alterações histopatológicas encontradas em 24 horas?
-

1. ANIMAIS DE EXPERIMENTAÇÃO

Para a realização do experimento foram utilizados 20 linfonodos retirados de 20 coelhos machos albinos com 14 a 18 semanas de vida, pesando entre 3400 e 4000 gramas, fornecidos pelo Biotério Central da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu.

2. AMBIENTE DE EXPERIMENTAÇÃO

Estes animais foram mantidos no Biotério do Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia e Ortopedia da Universidade Estadual Paulista (UNESP), Campus de Botucatu. Os animais foram alimentados com ração padrão para coelhos, submetidos a jejum prévio de 6 horas antes dos procedimentos cirúrgicos, receberam água à vontade, permaneceram posteriormente em gaiolas metálicas (um animal em cada gaiola), com período de luz artificial de 12 horas.

Foram submetidos aos procedimentos cirúrgicos em sala de cirurgia do Laboratório de Cirurgia Experimental, em conformidade com as normas de assepsia e antisepsia.

3. SOLUÇÕES TESTE

A droga utilizada foi o ácido acetilsalicílico (com fórmula empírica $C_9H_8O_4$ e fórmula estrutural apresentada na figura 1), manipulado em cápsulas de 500mg pela Farmácia Medicinal (Botucatu-SP). Foram preparadas

soluções bicarbonatadas de ácido acetilsalicílico a 10% e 20% misturando-se, respectivamente, 1g e 2g de AAS a 10 ml de bicarbonato de sódio a 10%. Estas soluções foram preparadas imediatamente antes do seu uso.

O volume utilizado destas soluções foi de 0,5 ml, injetados diretamente nos linfonodos.

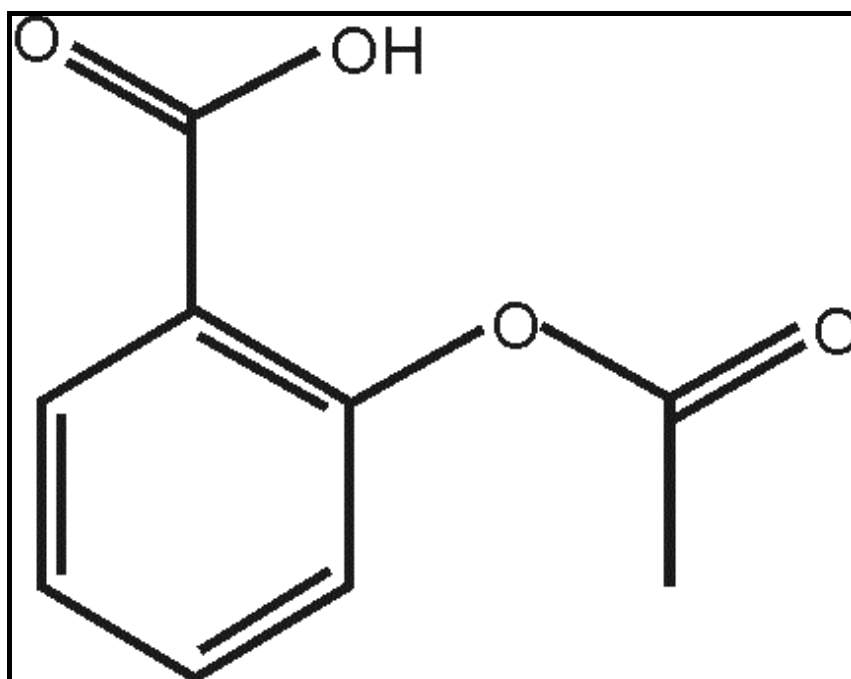


Figura 1 : Fórmula estrutural do ácido acetilsalicílico

4. GRUPOS EXPERIMENTAIS - DELINEAMENTO

Os animais foram aleatoriamente sorteados e divididos em 4 grupos experimentais, denominados grupos A, B, C e D.

Grupo A

Constituído de 5 coelhos que foram submetidos à laparotomia e injeção de solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a **10%** em linfonodos abdominais e, após **24 horas**, submetidos à nova laparotomia para ressecção destes linfonodos e posterior estudo histológico.

Grupo B

Constituído de 5 coelhos que foram submetidos à laparotomia e injeção de solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a **20%** em linfonodos abdominais e, após **24 horas**, submetidos à nova laparotomia para ressecção destes linfonodos e posterior estudo histológico.

Grupo C

Constituído de 5 coelhos que foram submetidos à laparotomia e injeção de solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a **10%** em linfonodos abdominais e, após **7 dias**, submetidos à nova laparotomia para ressecção destes linfonodos e posterior estudo histológico.

Grupo D

Constituído de 5 coelhos que foram submetidos à laparotomia e injeção de solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a **20%** em linfonodos abdominais e, após **7 dias**, submetidos à nova laparotomia para ressecção destes linfonodos e posterior estudo histológico.

O delineamento experimental encontra-se esquematizado na figura 2.

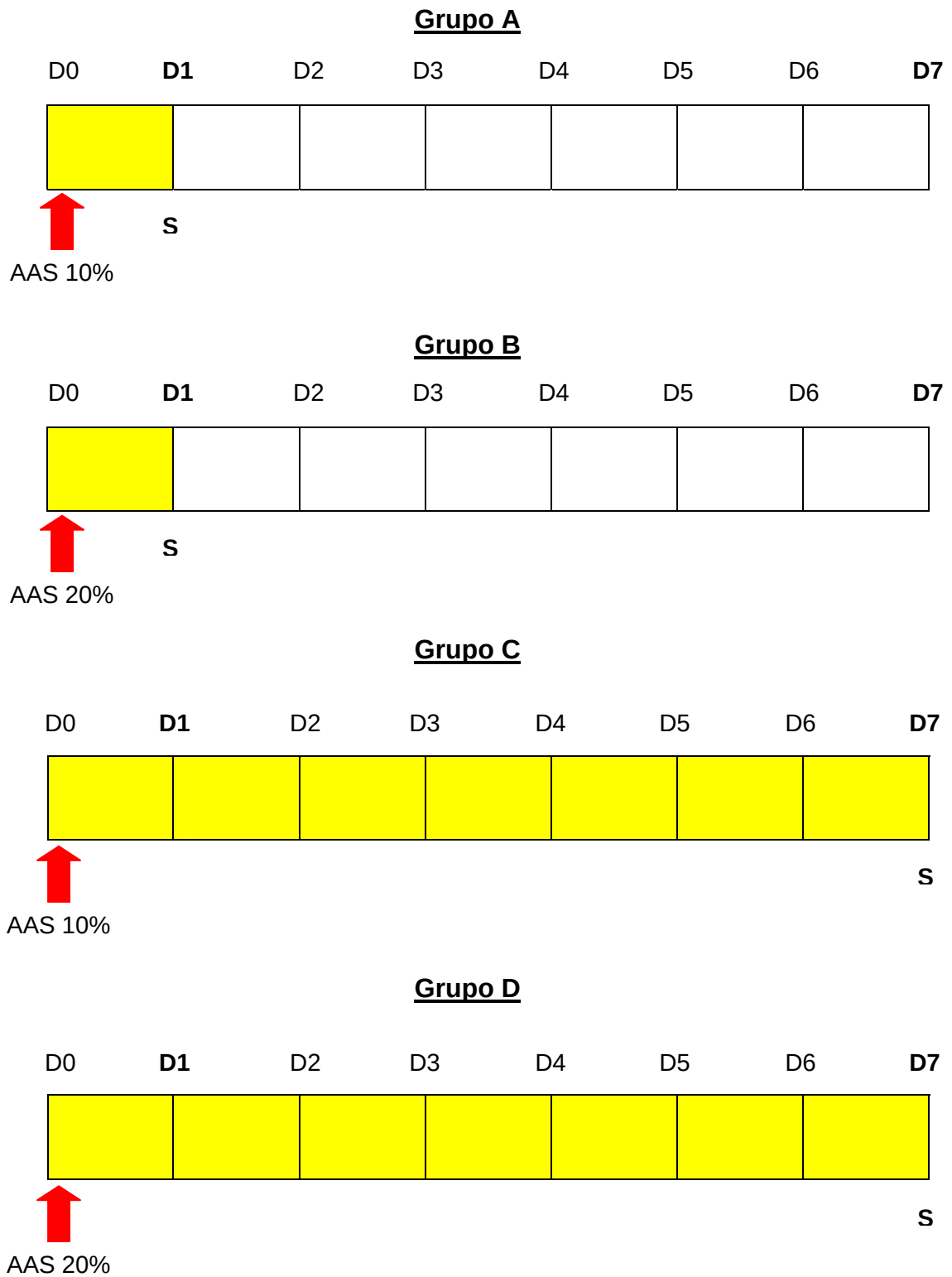


Figura 2: Delineamento experimental

D0: dia inicial do experimento no grupo – injeção da solução teste
D1: 24 horas após injeção da solução teste
D7: 7 dias após injeção da solução teste
AAS: ácido acetilsalicílico
S: sacrifício dos animais

5. ETAPAS DO DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

- 5.1 Ética animal
- 5.2 Anestesia dos animais
- 5.3 Laparotomia e injeção das soluções teste
- 5.4 Observação clínica dos animais
- 5.5 Relaparotomia e coleta dos linfonodos para estudo
- 5.6 Sacrifício
- 5.7 Análise histológica dos linfonodos

5.1 Ética animal

Este protocolo de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Experimentação Animal – CEEA da Faculdade de Medicina de Botucatu – FMB/UNESP em 19/04/2007, parecer de número 599.

5.2 Anestesia dos animais

A anestesia dos coelhos foi realizada utilizando-se Cloridrato de Cetamina a 10% na dose de 100mg/kg de peso – considerando o peso médio dos animais de 3700g foram utilizados 370mg de Cetamina por coelho. Em associação à Cetamina foi utilizado o Cloridrato de Xilazina a 2% na dose de 10mg/kg de peso, correspondendo à média de 37mg por animal. Os animais foram considerados anestesiados quando apresentaram respiração regular, superficial e flacidez da musculatura esquelética com desaparecimento dos reflexos.

5.3 Laparotomia e injeção das soluções teste

Depois de atingido o plano anestésico foi efetuada a tricotomia da parede abdominal, antissepsia com álcool iodado e posteriormente laparotomia mediana supra-umbilical para a realização dos procedimentos cirúrgicos, com injeção da solução teste.

A solução teste foi injetada em 1 linfonodo mesentérico por animal. Após injeção da solução teste, os linfonodos foram “marcados” com um ponto de fio de nylon na gordura adjacente para facilitar sua localização na relaparotomia.

No término do procedimento cirúrgico foi feito fechamento da cavidade abdominal com sutura contínua, por planos anatômicos, com fio inabsorvível sintético (mononylon 3-0).

5.4 Observação clínica dos animais

Os animais foram avaliados clinicamente por meio da verificação de ingestão alimentar e hídrica e da recuperação pós-cirurgia, bem como na ocorrência de óbitos.

5.5 Relaparotomia e coleta dos linfonodos para estudo

A relaparotomia dos animais de cada grupo foi realizada com o uso das drogas anestésicas descritas anteriormente e abertura por planos sobre a incisão prévia. Os linfonodos a serem estudados foram identificados adjacentes aos pontos de nylon usados para marcação, foram dissecados e ressecados e posteriormente colocados em frascos individuais embebidos em formaldeído a 10%, para fixação pré-análise histológica.

5.6 Sacrifício

O sacrifício foi executado com dose letal de anestésico injetada via endovenosa, com o dobro da dose usual, conforme normas da CEEA – Comissão de Ética em Experimentação Animal – UNESP.

5.7 Análise histológica dos linfonodos

Os linfonodos que foram ressecados após sacrifício dos animais e mantidos em solução de formaldeído foram submetidos a estudo histológico.

Os linfonodos foram processados a seguir no processador automático de tecidos (Modelo Leica TP 1020), emblocados em parafina em central de inclusão (Modelo Leica EG 1160), cortados no micrótomo (Leica RM 2145), em cortes 4 μ , aquecidos em estufa (Modelo Fanem – 02EB) a 60°C por 12 horas e corados no colorador automático (Leica Auto-Stainer XL) para hematoxilina-eosina (HE.) por meio de montagem Permacet (Fisher) das lâminas em processador (Modelo Leica CU500).

A análise das lâminas foi feita com o uso de microscópio óptico de campo claro, de maneira aleatória e sem o conhecimento prévio do patologista quanto ao protocolo correspondente ao linfonodo em estudo.

Resultados

1. OBSERVAÇÃO CLÍNICA DOS ANIMAIS

Em todos os grupos (A, B, C e D) os animais apresentaram evolução clínica satisfatória, com manutenção da ingesta alimentar e hídrica após término dos efeitos das drogas anestésicas. Não houve alteração significativa do peso dos animais e sem ocorrência de óbito.

2. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA DA CAVIDADE ABDOMINAL

Nos 4 grupos avaliados (A, B, C e D) não foram encontradas alterações macroscópicas importantes; apenas o surgimento de um discreto hematoma na gordura mesentérica de alguns animais, ao redor dos linfonodos em estudo, no local de passagem do ponto de nylon para demarcação e localização posterior nas relaparotomias.

3. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DESCRITIVA

3.1- Grupo A

Neste grupo foi realizada a injeção de solução bicarbonatada de ácido acetilsalisílico a10% nos linfonodos mesentéricos e o sacrifício e coleta dos linfonodos após 24 horas.

Foram utilizados 5 linfonodos para o estudo histológico, porém um deles foi descartado pois verificou-se claramente ter havido injeção da solução teste apenas no tecido gorduroso ao redor deste linfonodo.

O tamanho dos linfonodos variou conforme a tabela a seguir.

Tabela 1: Tamanho em cm dos linfonodos do Grupo A

LINFONODO	TAMANHO (cm)
1	1,5 X 0,3
2	1,0 X 0,5
3	1,1 X 0,4
4	1,2 X 0,5

As alterações histológicas ou a presença de determinados tipos de células, em todos os grupos, foram graduadas pela patologista em cruzes, sendo o mínimo de uma cruz (+1) e o máximo de quatro cruzes (+4).

A necrose foi verificada em grande intensidade (+3/+4) nas regiões corticais, paracorticais e medulares. Assim como a necrose, a hemorragia foi localizada em todo o linfonodo, porém em menor intensidade (+2/+4).

Na figura 3 podemos ver os focos de necrose de coagulação e hemorragia em linfonodo deste grupo.

Neste grupo também foram encontrados histiócitos e eosinófilos, na intensidade de (+1/+4), ao redor das áreas de necrose.

Os seios medulares dos linfonodos do grupo A estavam alargados e o número de centros germinativos encontrados foi de 11 em todos eles.

A apoptose estava aumentada difusamente, ao redor da área de necrose (figura 4).

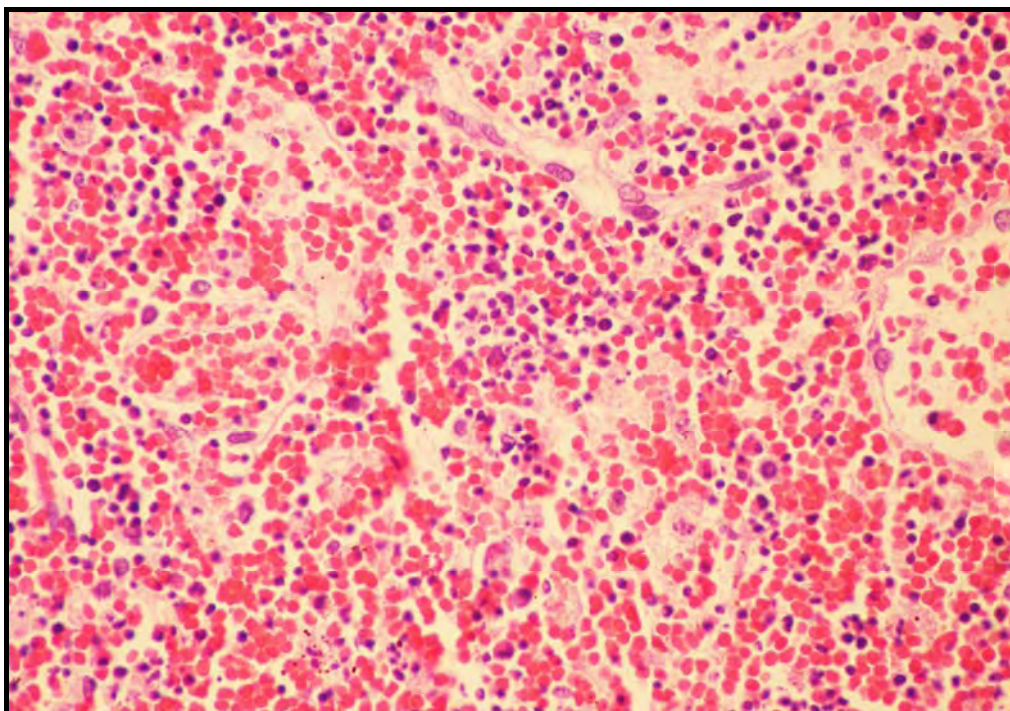


Figura 3 – Grupo A: focos de necrose de coagulação e hemorragia

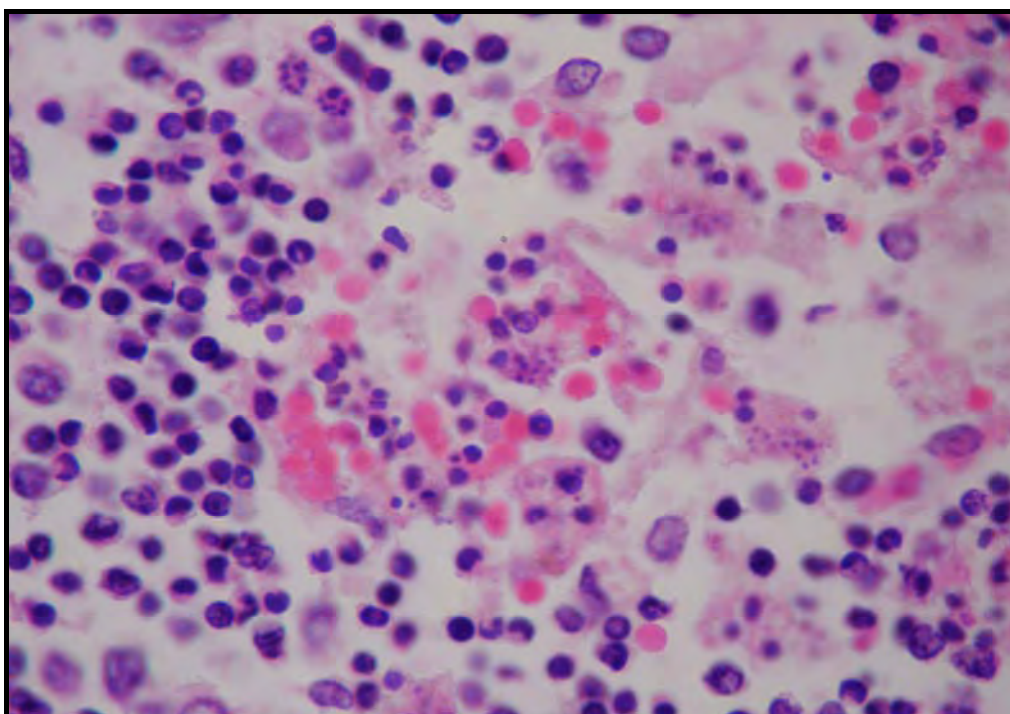


Figura 4 – Grupo A: apoptose aumentada difusamente na periferia das áreas de necrose.

3.2 - Grupo B

No grupo B foi injetada nos linfonodos a solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a 20% e o sacrifício e coleta dos linfonodos feitos após 24 horas.

Foram estudados 5 linfonodos com tamanhos que variaram conforme a tabela a seguir.

Tabela 2: Tamanho em cm dos linfonodos do Grupo B

LINFONODOS	TAMANHO (cm)
6	0,5 X 0,5
7	0,9 X 0,5
8	1,7 X 1,2
9	1,0 X 0,6
10	1,1 X 0,3

Foi verificada neste grupo a presença de necrose, com intensidade de +2/+4, nas regiões medulares e corticais. A hemorragia foi constatada e variou em intensidade de +1 a +2/+4.

Os histiócitos foram encontrados na intensidade de +2/+4.

Neste grupo os eosinófilos variaram em intensidade de +1 a +2/+4, sendo bastante evidentes (Figura 5).

Os seios medulares do grupo B encontravam-se com áreas de necrose. O número de centros germinativos variou de 18 a 28.

Neste grupo foi visualizada apoptose aumentada nos seios medulares e nas regiões corticais, ao redor das áreas de necrose.

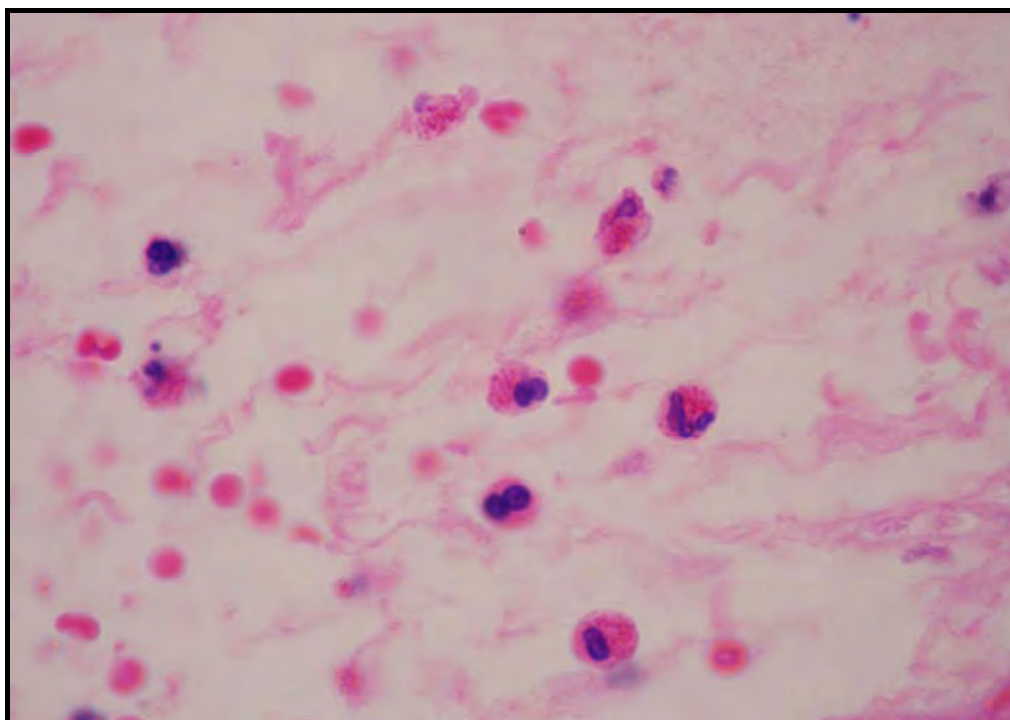


Figura 5 - Grupo B com presença de eosinófilos.

3.3 - Grupo C

No grupo C foi injetada nos linfonodos a solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico a 10% e o sacrifício foi em 7 dias.

Foram 5 os linfonodos avaliados, com os seus respectivos tamanhos evidenciados na tabela 3.

Tabela 3: Tamanho em cm dos linfonodos do Grupo C

LINFONODOS	TAMANHO (cm)
11	1,1 X 1,0
12	1,0 X 1,0
13	1,0 X 0,6
14	1,3 X 1,2
15	1,1 X 1,0

No grupo C a necrose esteve desde ausente a presente, com intensidade de +2/+4, nos seios medulares. Neste grupo a hemorragia foi ausente.

Houve aumento de histiócitos com intensidade de +3/+4, ao redor das áreas de necrose.

Os eosinófilos foram evidenciados, porém com intensidade de apenas +1/+4.

Os seios medulares encontraram-se alargados na intensidade de +2/+4 (Figura 6).

Foram visualizadas células gigantes em 3 casos, com intensidade de +3/+4.

A apoptose estava aumentada, com predomínio em seios medulares, mas também nos centros germinativos (Figuras 6 e 7).

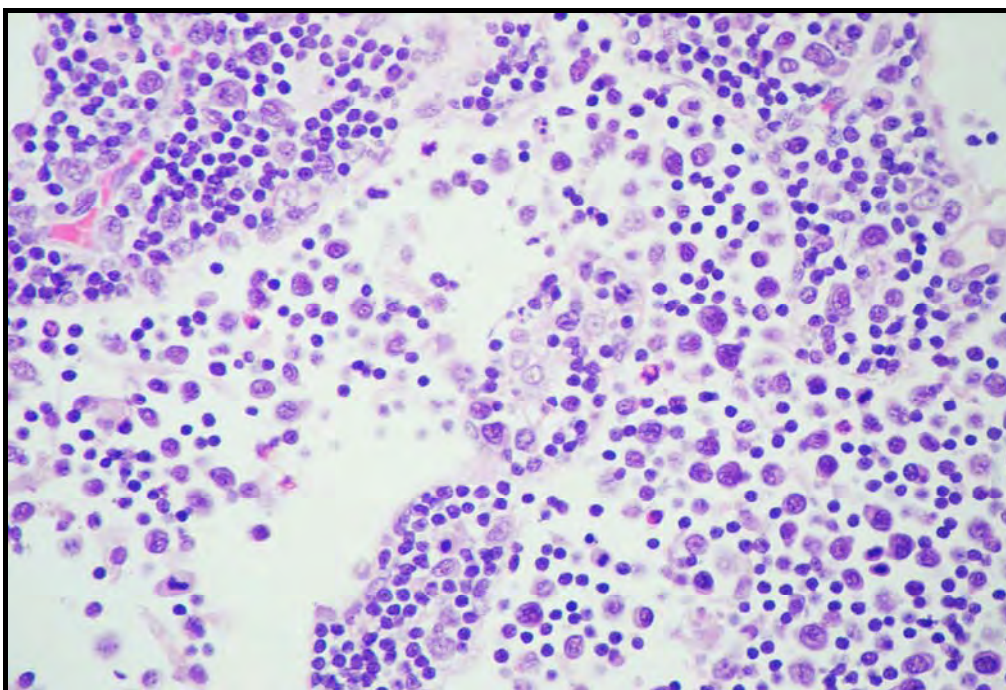


Figura 6 – Grupo C: alargamento dos seios medulares com apoptose.

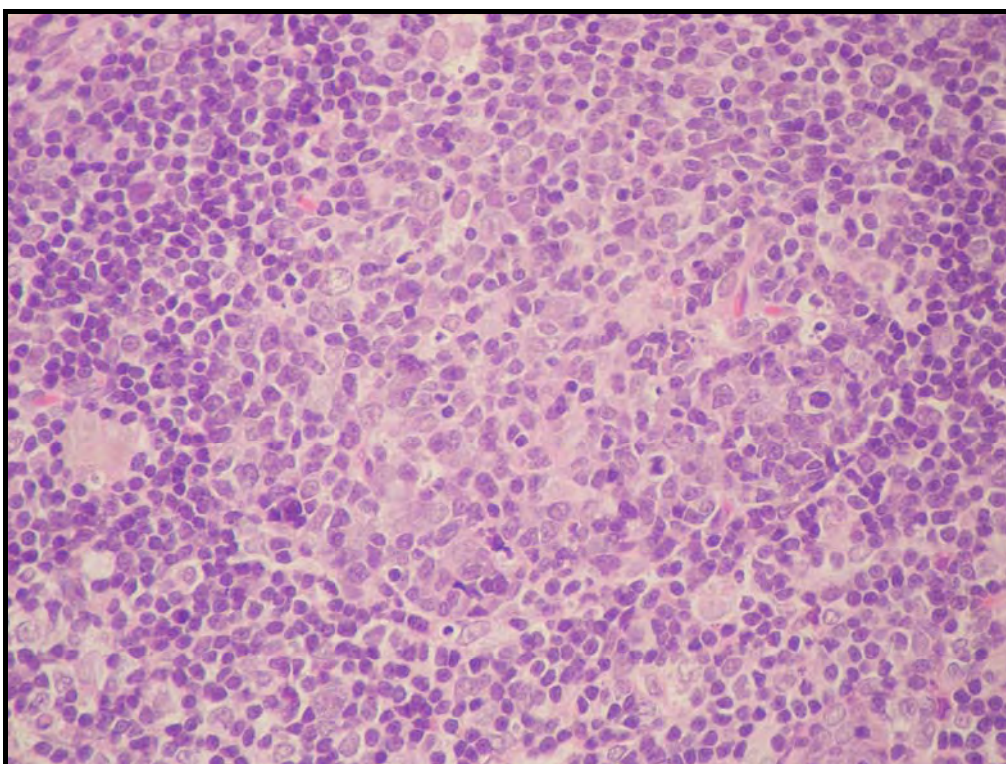


Figura 7 – Grupo C: centro germinativo com apoptose.

3.4 – Grupo D

Neste último grupo foi injetada a solução de ácido acetilsalicílico a 20% com sacrifício e coleta dos linfonodos em 7 dias.

O número de linfonodos avaliados foi de 5, com suas medidas demonstradas na tabela 4.

Tabela 4: Tamanho em cm dos linfonodos do Grupo D

LINFONODOS	TAMANHO (cm)
16	1,0 X 0,8
17	1,0 X 1,0
18	1,5 X 0,5
19	1,0 X 1,2
20	1,1 X 0,5

Houve neste grupo a diminuição da necrose, com variação de ausente até presente, na intensidade de +1/+4, na região medular e gordura perilinfonodo. A hemorragia foi ausente (Figura 11).

Os histiócitos foram bastante evidentes, com variação de intensidade de +3 a +4/+4 (Figuras 8 e 10).

Os eosinófilos passaram de ausentes a presentes, com intensidade de +1/+4.

Assim como no grupo C, neste grupo também foram visualizadas as células gigantes, com intensidadede +3/+4 (Figura 9).

A apoptose foi caracterizada como aumentada, principalmente nos seios medulares e regiões paracorticais, com aumento de vênulas pós-capilares. O número de centros germinativos foi de 6.

A seguir é apresentada tabela com um resumo das alterações histológicas encontradas nos diferentes grupos.

Tabela 5: Resumo dos achados histológicos nos grupos.

	GRUPO A	GRUPO B	GRUPO C	GRUPO D
NECROSE	+++	++	0 a ++	0 a +
HEMORRAGIA	++	+ a ++	AUSENTE	AUSENTE
HISTIÓCITOS	+	++	+++	+++ a ++++
EOSINÓFILOS	+	+ a ++	+	0 a +
APOPTOSE	AUMENTADA DIFUSAMENTE	AUMENTADA SEIOS MEDULARES E CORTICAL	AUMENTADA SEIOS MEDULARES E CORTICAL	AUMENTADA SEIOS MEDULARES E PARACORTICAL
CÉLULAS GIGANTES	AUSENTES	AUSENTES	++	+++

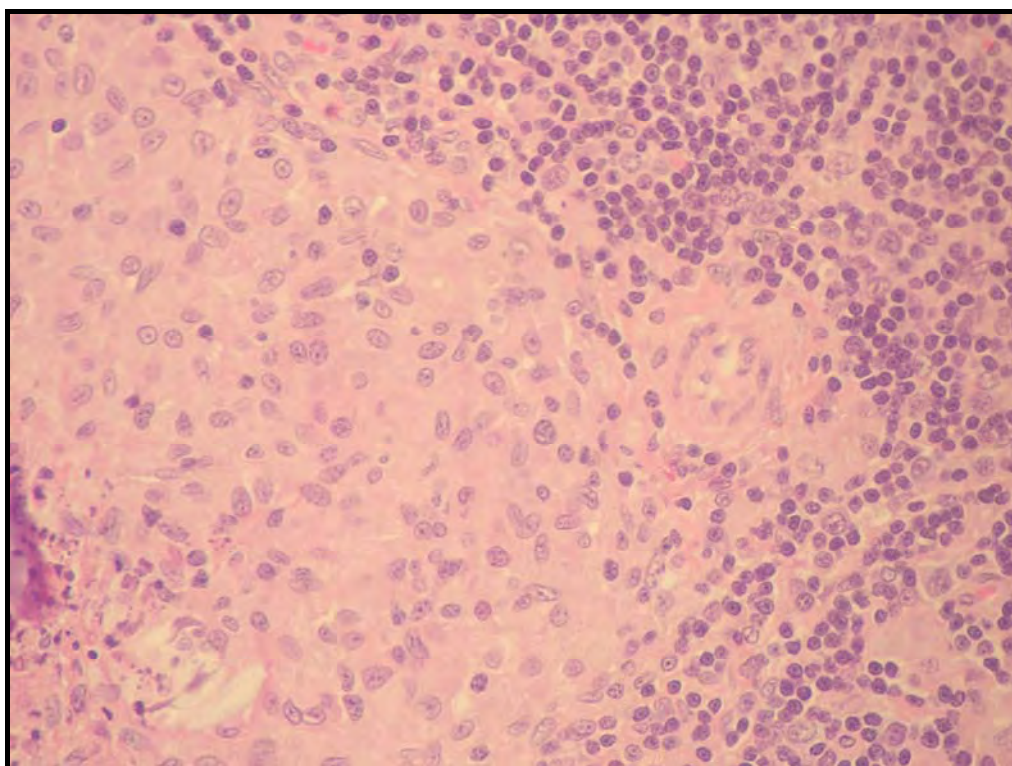


Figura 8 – Grupo D: histiócitos com formação granulomatosa.

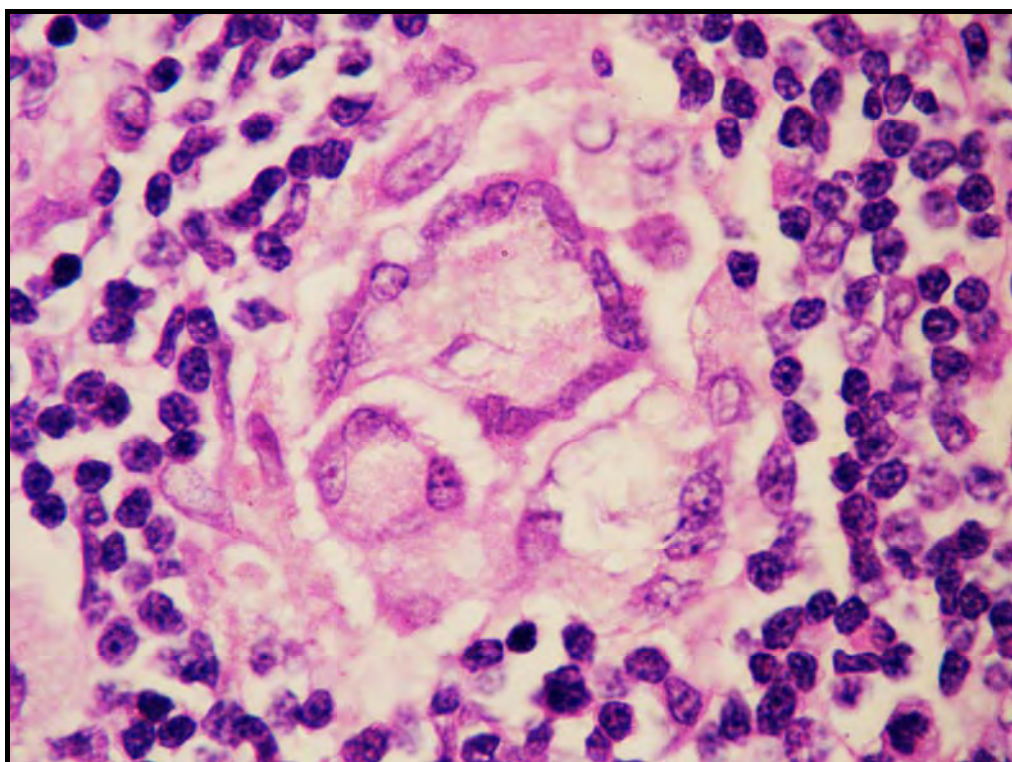


Figura 9 – Grupo D: células gigantes

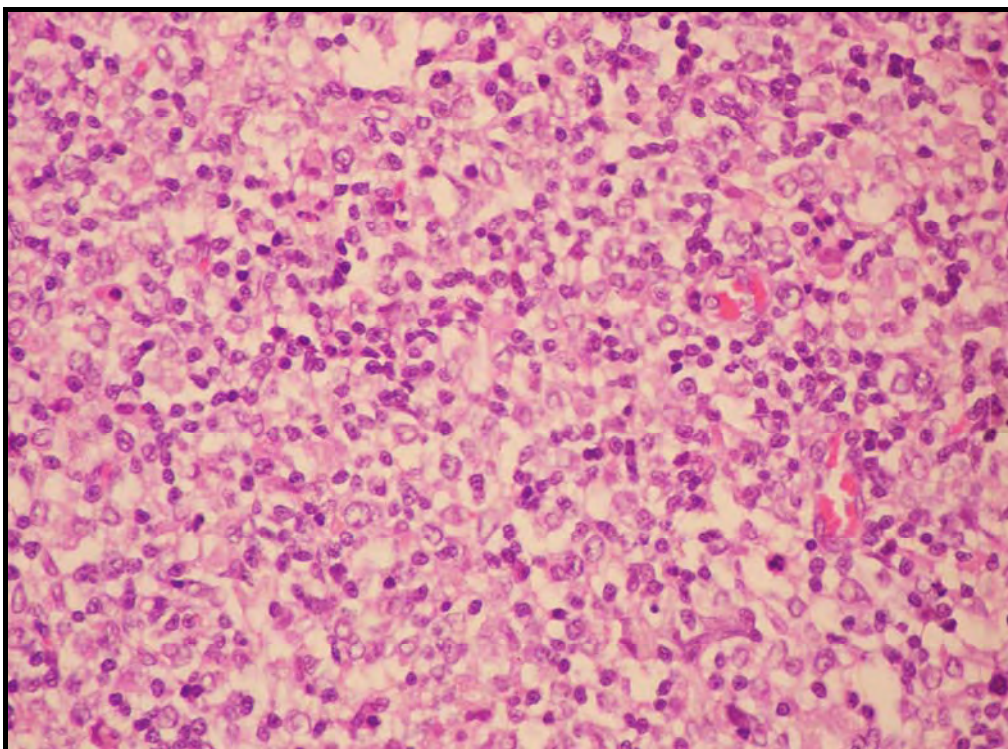


Figura 10 – Grupo D: lençóis de histiócitos

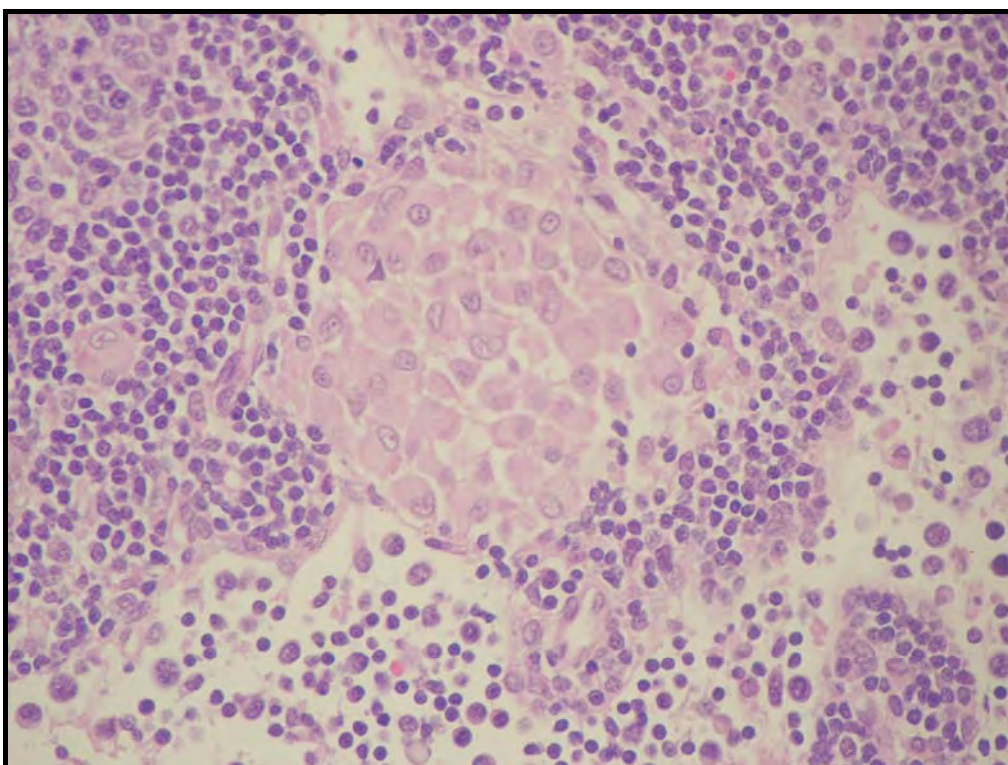


Figura 11 – Grupo D: ausência de necrose e hemorragia.

Discussão

A. DISCUSSÃO DO MÉTODO

1. Animal de experimentação

O coelho é amplamente utilizado como animal de experimentação ao longo da história da medicina experimental, seja em cirurgia, farmacologia ou imunologia, com indiscutível relevância. A escolha deste deve-se, também, à presença de Biotério próprio, que nos permite facilidade na obtenção e uniformidade dos animais em relação ao grau de nutrição, idade e linhagem. É de fácil manuseio e acesso à cavidade abdominal, com suas características anatômicas e biológicas bem conhecidas.

A utilização de coelhos machos teve o objetivo de evitar possíveis interferências relacionadas à prenhez e ciclo estral.

2. Soluções teste

O etanol tem sido usado de longa data como solução de efeito histolítico para destruição de tumores hepáticos, tanto primários como secundários, bem como em tumores extra-hepáticos. Foi usado inicialmente por Sigiura et al (1983) no tratamento do carcinoma hepatocelular, e posteriormente por diversos estudiosos em tumores hepáticos metastáticos, tumores de paratireóide, tumores ou cistos renais e metástases em adrenal (SAAD-HOSSNE, 2001). A sua aplicação é feita por meio de punção guiada por ultrassonografia ou tomografia computadorizada e seu efeito é proveniente do

processo necrótico localizado no tecido infiltrado, sendo um importante método de ablação.

Camara, em 1973, utilizou juntamente com colaboradores uma solução “esclerosante”, empregada no início do século por Sir James Robert, no tratamento da hiperplasia prostática benigna. Verificou; após a injeção da solução composta por fenol, ácido acético, glicerina e água bidestilada; a ocorrência de necrose seguida de fibrose do tecido prostático em cães.

Macedo e colaboradores estudaram os efeitos desta solução em metástases hepáticas (tumor de *Walker*), e os resultados sugeriram que poderia ocorrer destruição do tecido infiltrado (MACEDO et al.,1979).

Saad-Hossne em 1997 utilizou esta mesma solução “esclerosante” no tratamento do tumor ascítico de *Ehrlich*. Foi verificado que in vitro houve destruição das células tumorais e in vivo houve redução de células tumorais e elevação de células inflamatórias. Neste trabalho houve alto índice de óbitos dos animais em estudo provavelmente devido à toxicidade das drogas usadas.

A partir destes trabalhos anteriores Saad-Hossne em 2001 iniciou estudo do ácido acético isoladamente em fígado de coelhos sadios e portadores de tumor VX2. Em estudo piloto verificou que o ácido acético injetado diretamente no fígado tem efeito destrutivo. Após análise de alguns poucos trabalhos citados na literatura (OHNISHI et al. 1993, 1994, 1996 e 1998) com o ácido acético em diferentes concentrações em pacientes com carcinoma hepatocelular, e outros mostrando bons resultados terapêuticos desta droga (SOLBIATI, 1998; TORZILLI et al., 1999; LIANG et al., 2000; HUSSAIN et al., 2001) Saad-Hossne usou o ácido acético em concentração de 5% em seu trabalho experimental. Neste momento foi pensado em se usar

outra droga semelhante ao ácido acético, de largo uso clínico e que pudesse ter efeitos semelhantes. Surgiu, então, a idéia do uso do ácido acetilsalicílico, visto que seu componente acetil tem efeito lítico (pela observação dos efeitos do ácido acético) e o componente salicílico tem efeito citolítico (ácido salicílico e os salicilatos são usados tradicionalmente em aplicações externas como citolíticos). Foi utilizado o ácido acetilsalicílico a 5% em fígado de coelhos saudáveis e portadores de tumor VX2.

Os resultados deste trabalho mostraram que tanto o ácido acético como o ácido acetilsalicílico acarretaram necrose do tecido hepático tumoral após 24 horas da injeção das soluções, bem como após decorridos 7 dias as áreas destruídas se mostraram livres de tecido tumoral, com regeneração do tecido hepático em focos de fibrose e infiltrado inflamatório.

O início da história do ácido acetilsalicílico vem do século V a.c., quando Hipócrates descreveu que o pó ácido da casca do salgueiro (que contém salicilatos) apresentou efeitos analgésicos e antipiréticos. Esta droga também é mencionada em textos de civilizações antigas do Oriente Médio, Suméria, Egito e Assíria.

Em 1763 o reverendo Edmund Stone, de Oxford no Reino Unido, redescobriu as propriedades antipiréticas da casca do salgueiro e as descreveu cientificamente.

O princípio ativo da casca, o ácido salicílico, foi isolado em sua forma cristalina em 1828 pelo farmacêutico francês Henri Leroux e Raffaele Piria, químico italiano.

Em 1897 Felix Hoffman, farmacêutico alemão, conjugou quimicamente o ácido salicílico com acetato, criando o ácido acetilsalicílico (Aspirina), e

descobriram ser este menos tóxico. Esta foi a primeira criação da indústria farmacêutica.

Apenas em 1971, John Vane demonstrou o mecanismo de ação do ácido acetilsalicílico em Londres (VANE, 1971). Descobriu que o principal mecanismo de ação dos anti-inflamatórios não esteróides (AINEs) está ligado à capacidade destas substâncias inibirem as prostaglandinas ao bloquear o sítio ativo da cicloxigenase (enzima catalisadora do processo bioquímico da síntese de prostaglandinas). Este fato pode explicar as ações terapêuticas dos AINEs ao impedir a formação de prostaglandinas, principalmente a PGE2, que é importante mediador das doenças inflamatórias.

Além das indicações clássicas, como analgésico e antipirético, a partir de 1980 o Federal Drug Administration (FDA) aprovou o uso da Aspirina na prevenção de reincidências do infarto agudo do miocárdio e acidentes vasculares encefálicos.

Em 1999, a Sociedade Americana de Câncer relatou risco 50% menor de morte por câncer de cólon em indivíduos com uso crônico de Aspirina (BLANCO, 1999).

Frente aos estudos e constatações dos efeitos terapêuticos do ácido acetilsalicílico, o mesmo tornou-se a medicação mais consumida e conhecida do mundo; o que nos reforçou a idéia de ampliar o seu estudo em linfonodos, visando o tratamento local de linfonodos acometidos por tumor metastático.

Foi utilizado em nossa pesquisa o ácido acetilsalicílico em concentrações de 10% e 20%, soluções preparadas através da diluição desta substância em pó em bicarbonato de sódio a 10%, um produto amplamente usado em clínica. A diluição do ácido acetilsalicílico em água é bastante

difícil o que nos levou ao uso do bicarbonato como diluente, pois os meios alcalinos facilitam bastante sua diluição. Em projeto piloto verificou-se que o bicarbonato de sódio apresentava apenas discreto efeito citolítico em células tumorais em suspensão (SAAD-HOSSNE, 2001).

3. Momentos de estudo

Os momentos de estudo foram estabelecidos com base nos trabalhos realizados previamente, de acordo com a linha de pesquisa em andamento para estudo das alterações histopatológicas relacionadas com os tumores experimentais.

Nos grupos A e B, com injeção de ácido acetilsalicílico a 10% e 20%, respectivamente, o período de 24 horas foi determinado para estudo das alterações agudas causadas pelas soluções nos linfonodos.

Quanto aos grupos C e D, nos quais foi injetado ácido acetilsalicílico a 10% e 20%, respectivamente, a coleta dos linfonodos para estudo histológico foi realizada após 7 dias da injeção das soluções, para determinar as alterações causadas pelas mesmas em uma fase mais tardia.

B. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

1. Características de um linfonodo normal

Os linfonodos são órgãos encapsulados de tecido linfóide presentes em várias partes do corpo, seguindo o trajeto de vasos linfáticos, estando principalmente nas axilas, virilha, região cervical e em grande quantidade no tórax e abdome, sendo neste último mais presente no mesentério. Apresentam-se com a forma de rim ou feijão, com um lado convexo e um lado côncavo, o hilo, por onde entram as artérias nutridoras e saem as veias. Seu tamanho é bastante variável de 1 mm até 2 cm.

A linfa circula pelos linfonodos de maneira unidirecional, entrando pela parte convexa através de vasos aferentes e saindo pelo linfático do hilo, o vaso eferente.

O linfonodo é envolto pela cápsula de tecido conjuntivo que através de trabéculas divide seu interior em compartimentos.

O parênquima é composto pela região cortical, que está abaixo da cápsula, ausente apenas no hilo e pela região medular que está no centro do linfonodo e no hilo. Entre o parênquima e a região medular está a região cortical profunda ou paracortical.

Na região cortical superficial estão os seios subcapsulares, formados por tecido linfóide frouxo, e os nódulos linfáticos ou folículos linfáticos, que são condensações esféricas de linfócitos. Os nódulos linfáticos primários são constituídos por linfócitos B em “repouso”. Através de estímulos antigênicos surgem os nódulos linfáticos secundários, com deslocamento das células do

folículo primário para a sua periferia. A porção central do nódulo linfático secundário constitui o centro germinativo, que apresenta uma parte mais escura com os centroblastos e uma parte mais clara, constituída principalmente por centrócitos. As células mais encontradas na região cortical superficial são os linfócitos B, também são presentes alguns plasmócitos, macrófagos, células reticulares e células foliculares dendríticas. As células dendríticas retêm antígenos em sua superfície e permitem que estes sejam avaliados pelos linfócitos B.

A região cortical profunda ou paracortical não é constituída por nódulos linfáticos e há o predomínio nesta região de linfócitos T, células reticulares e alguns plasmócitos e macrófagos.

A região medular é formada pelos cordões medulares constituídos principalmente por linfócitos B e também por fibras e células reticulares e macrófagos. Os plasmócitos geralmente são mais freqüentes na medular do que na cortical. Os seios medulares separam os cordões medulares, tendo um aspecto de esponja, sendo responsáveis por receber a linfa que vem da cortical e, através de comunicação aos vasos linfáticos eferentes, encaminhá-la para fora dos linfonodos. O espaço irregular dos seios é penetrado por prolongamentos das células reticulares e dos macrófagos (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 2008; SOARES et al., 2006).

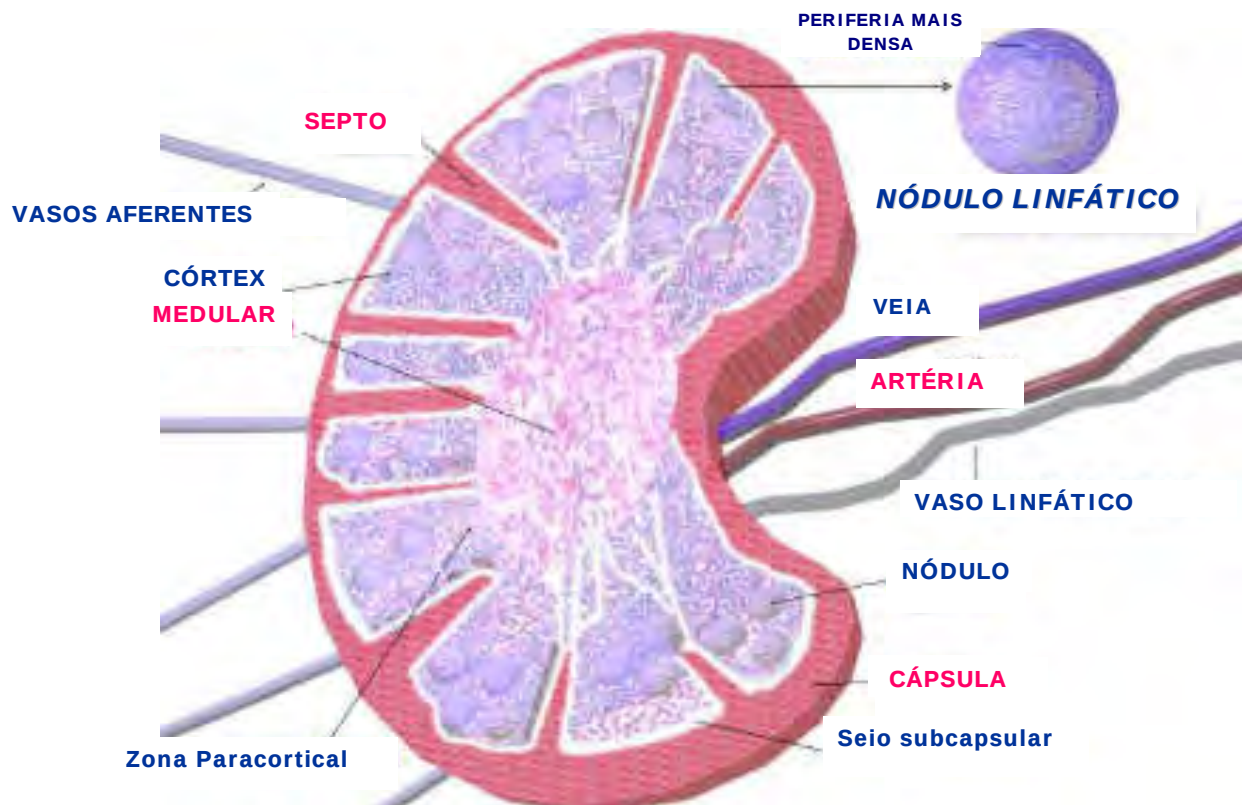


Figura 12: Representação esquemática da anatomia do linfonodo normal.

2. Necrose

A necrose é um tipo de morte celular na qual as células sofrem um insulto, que pode ser uma isquemia, hipóxia, hipertermia, irradiação e a presença de metabólitos tóxicos. Após o insulto celular, algumas das principais alterações morfológicas que ocorrem com a necrose incluem o aumento do volume celular, causado por alterações da função mitocondrial, com drástica diminuição da produção de ATP, interferindo na função da bomba de Na^+/K^+ e levando ao aumento do Na^+ citosólico (ANAZETTI & MELO., 2007); formação de vacúolos citoplasmáticos, distensão dos retículos endoplasmáticos, formação de bolhas citoplasmáticas, condensação, aumento do volume ou ruptura de mitocôndrias, desagregação de ribossomos, ruptura de membrana

de organelas, aumento do volume e ruptura de lisossomos e a ruptura da membrana celular (ELMORE, 2007).

Em sequência ao processo de ruptura celular, ocorre liberação dos constituintes celulares para o meio extracelular, estimulando a resposta inflamatória local e conseqüentemente a lesão tecidual (PAROLIN & REASON, 2001; GRIVICICH et al., 2007).

A necrose é considerada um processo tóxico, na qual a célula é uma vítima passiva, independente do consumo de energia (ELMORE, 2007).

3. Apoptose

O termo apoptose foi usado pela primeira vez em um trabalho clássico de Kerr, Wyllie e Currie em 1972 para descrever a morte celular programada, uma forma fisiologicamente distinta de morte celular (KERR et al., 1972).

A apoptose é um processo ativo, que requer reservas de ATP, com autodigestão controlada dos constituintes celulares, por meio da ativação de proteases endógenas (caspases). É um dos mecanismos para manutenção da homeostasia tecidual nos organismos multicelulares (GRIVICICH et al., 2007).

A deflagração da apoptose pode ser iniciada por estímulos externos através de receptores de superfície chamados receptores de morte ou por estímulos internos causadores de estresse intracelular, como lesão no DNA (via gene p53), alterações nas vias metabólicas (aumento do cálcio intracelular, redução do pH, estresse oxidativo), drogas, toxinas ou privação de fatores de crescimento. Essas vias levam à ativação das caspases e de toda a cascata bioquímica da apoptose (PAROLIN & REASON, 2001; GRIVICICH et al, 2007).

A apoptose é um fenômeno rápido, caracterizado pela retração da célula com perda de aderência com a matriz celular e células vizinhas. As organelas celulares geralmente preservam sua morfologia inalterada, com exceção das mitocôndrias, que em alguns casos apresentam ruptura de suas membranas externas. Ocorrem alterações características no núcleo celular, que se mantém intacto, com condensação da cromatina. A membrana celular passa a formar prolongamentos (blebs) e o núcleo se fragmenta. Os prolongamentos da membrana celular aumentam de número e tamanho e se rompem, originando estruturas com o conteúdo celular, chamados corpos apoptóticos. Estes corpos apoptóticos são fagocitados por macrófagos sem causar um processo inflamatório (GRIVICICH et al, 2007).

Apesar da diversidade de tipos de câncer, é conhecida a importância da apoptose na tumorigênese, sendo a expansão de células transformadas dependente da incapacidade crescente destas células morrerem por apoptose, uma característica marcante dos tumores malignos.

O conhecimento das vias apoptóticas tem grande aplicabilidade clínica no campo da medicina e da farmacologia, seja no desenvolvimento de novas drogas que induzam a apoptose, como estratégia terapêutica, seja na compreensão dos mecanismos de resistência à radioterapia e quimioterapia (GRIVICICH et al, 2007; ELMORE, 2007). As pesquisas relacionadas à apoptose são de grande valia na aplicação prática das descobertas às doenças relacionadas à perda do equilíbrio homeostático das células de um tecido, tais como o câncer e as doenças neurovegetativas (ANAZETTI et al., 2007).

4. Discussão dos resultados histológicos

4.1 Resultados histológicos nos grupos A e B

Como não foram encontradas diferenças significativas nas avaliações histológicas entre os grupos A e B ambos foram agrupados para discussão conjunta.

Nestes grupos foi evidente o efeito necrotizante da solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico, pela presença de necrose, encontrada em todos os linfonodos. OHNISHI et al. (1994) encontraram estas mesmas características de lesão usando o ácido acético e SAAD-HOSSNE (2001) também observou necrose coagulativa no fígado de coelhos após injeção de ácido acético e ácido acetilsalicílico. Em um padrão comum de morte celular resultante da perda de oxigênio as células necróticas exibem um aumento da eosinofilia, no grupo B houve aumento importante de eosinófilos, característico do processo necrótico e resposta inflamatória de fase aguda. Isso ocorre devido ao aumento da ligação da eosina às proteínas citoplasmáticas desnaturadas e, também, à perda da basofilia usualmente conferida pelo ácido ribonucléico (RNA) no citoplasma (KUMAR et al., 2008).

Foi verificado alargamento dos seios medulares, demonstrando aumento progressivo da atividade de macrófagos e resposta celular inflamatória.

Nestes grupos, no qual foram avaliadas as respostas agudas ao estímulo antigênico, foi demonstrado aumento de centros germinativos, mais intenso no grupo B. Este é um achado característico da hiperplasia folicular, com os centros germinativos constituindo o local de transformação e

multiplicação dos linfócitos que reagem à estimulação antigênica. Os centros germinativos reacionais são formados por uma mistura de células, como os centroblastos, centrócitos, células dendríticas foliculares, pequenos linfócitos T CD4+/ CD57+ e macrófagos, bem como os linfócitos B em maturação (SOARES et al., 2006).

O evento considerado como de grande importância neste estudo experimental foi o aumento da apoptose. Nos grupos A e B, o aumento da apoptose ocorreu em todo o linfonodo. Esta avaliação foi subjetiva e realizada pela mesma patologista. Como descrito anteriormente, a indução à apoptose pode ter sido levada por danos ao DNA, seja por lesão direta ou por produção de radicais livres, por lesão mitocondrial e também por aumento do influxo celular de cálcio (ATP dependente) com ativação das caspases. A apoptose ocorre em diversas situações e tem a função de eliminar células prejudiciais e células cuja sobrevivência não tem mais utilidade. Pode ser considerada também uma situação patológica quando as células sofrem lesão além da capacidade de reparo, principalmente quando o DNA ou as proteínas das células são afetados, momento em que a célula lesada é eliminada. (KUMAR et al., 2008).

4.2 Resultados histológicos nos grupos C e D

Nos grupos C e D, cujos efeitos da solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico foram avaliados em 7 dias e observadas as alterações compatíveis com processos inflamatórios mais tardios, sem diferenças significantes entre ambos.

Houve diminuição importante da necrose, com processo regenerativo, porém sem a presença de fibrose.

Assim como nos grupos A e B houve aumento da apoptose, principalmente nos seios medulares, cujos locais são de maior concentração de macrófagos.

Como consequência da elevação da apoptose, o número de histiócitos também se encontrou elevado. Os histiócitos sinusais são macrófagos presentes no baço e linfonodos. Os macrófagos são as células dominantes na inflamação crônica, responsáveis pelo processo de fagocitose e retirada de células mortas (KUMAR et al., 2008).

Ainda compatíveis com fases mais tardias do processo inflamatório, nestes dois grupos a hemorragia e os eosinófilos foram ausentes.

Por fim foi visualizado aumento de células gigantes, com os agregados de macrófagos epitelióides circundados por um colar de linfócitos, os quais caracterizam um processo inflamatório crônico do tipo corpo estranho.

Conclusão

Com base no método empregado e no modelo experimental utilizado, com vista ao objetivo estabelecido, chegamos às seguintes conclusões:

- 1) Nos grupos avaliados em 24 horas as soluções bicarbonatadas de ácido acetilsalicílico a 10% e 20% causam necrose do tecido linfonodal (efeito histolítico) e aumento da apoptose.

- 2) Em uma avaliação mais tardia, em 7 dias, houve regeneração do tecido linfonodal, com redução intensa de necrose tecidual e aumento importante da apoptose constatado.

As conclusões obtidas por meio da avaliação experimental do uso da solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico em linfonodos embasam eventual aplicação clínica no tratamento de metástases linfonodais, uma vez que a apoptose aumentada evidente neste estudo é um dos pilares do tratamento de muitas drogas antineoplásicas atualmente em uso.

Referências Bibliográficas

ALBALA, C., VIO, F., YANES, M. Transición epidemiológica en America Latina: comparación de cuatro países. **Rev. Med. Chil.**, v. 125, p. 719-27, 1997.

ANAZETTI, M.C., MELO, P.S. Morte celular por apoptose: uma visão bioquímica e molecular. **Metrocamp pesquisa**, v.1, p. 37-58, 2007.

ANGELL, J.C. Treatment of benign prostatic hyperplasia by phenol injection. **Br. J. Urol.**, v. 41, p. 735-8, 1969.

BAXTER, N.N., VIRNIG, D.J., ROTHEMBERGER, D.A., MORRIS, A.M., JESSURUM, J., VIRNIG, B.A. Lymph node evaluation in colorectal cancer patients: a population-based study. **J. Natl. Cancer Inst.**, v. 97, p. 219-25, 2005.

BERGER, A.C., SIGURDSON, E.R., LEVOYER, T., HANLON, A., MAYER, R.J., MACDONALD, J.S., CATALANO, P.J., HALLER, D.G. Colon cancer survival is associated with decreasing ratio of metastatic to examined lymph nodes. **J. Clin. Oncol.**, v.23, p. 8706-12, 2005.

BERLIN, J., MERRICK, H.W., SMITH, T.J., LERNER, H. Phase II evaluation of treatment of complete resection of hepatic metastases from colorectal cancer and adjuvant hepatic arterial infusion floxuridine. **Am. J. Clin. Oncol.**, v. 22, p. 291-3, 1999.

BILCHIK, A.J., ROSE, D.M., ALLEGRA, D.P., BOSTICK, P.J., MORTON, D.L. Radiofrequency ablation: a minimally invasive technique with multiple applications. **Cancer J. Sci. Am.**, v.5, p. 356-61, 1999.

BILIMORIA, K.Y., BENTREM, D.J., STEWART, A.K., TALAMONTI, M.S., WINCHESTER, D.P., RUSSEL, T.R., KO, C.Y. Lymph node evaluation as a colon cancer quality measure: a national hospital report card. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.100, p. 1320-7, 2008.

BLANCO, A. Aspirina é eleita a 4^a melhor invenção. **Folha de São Paulo**, São Paulo, 28 fev. 1999. Cotidiano, p.3.

BRASIL. Ministério da Saúde. Instituto Nacional de Câncer. **Estimativa 2010: incidência de câncer no Brasil**. Rio de Janeiro, INCA, 2009. 98p. il.

CAMARA, F.R. **Injeção prostática de solução esclerosante. Estudo experimental no cão**. Botucatu, 1973. 115p. Tese (Doutorado em Bases Gerais e Cirurgia Experimental) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.

CAMARA, F.R., HOSSNE, W.S., MONTENEGRO, M.R.G. Injeção prostática de solução esclerosante. Estudo experimental no cão. **J. Bras. Urol.**, v.2, p. 278-81, 1976.

-
- CHANG, G.J., RODRIGUEZ-BIGAS, M.A., SKIBBER, J.M., MOYER, V.A. Lymph node evaluation and survival after curative resection of colon cancer: systematic review. **J. Natl. Cancer Inst.**, v.99, p. 433-41, 2007.
- CURLEY, S.A., IZZO, F., DELRIO, P., ELLIS, L.M., FIORE, F., DANIELE, B., CREMONA, F. Radiofrequency ablation of unresectable primary and metastatic hepatic malignancies. **Ann. Surg.**, v. 230, p. 1-7, 1999.
- CURLEY, S.A. Radiofrequency ablation of malignant liver tumors. **Oncologist**, v. 6, p. 14-23, 2001.
- ELMORE, S. Apoptosis: a review of programmed cell death. **Toxicol. Pathol.**, v. 35, p. 495-516, 2007.
- FELIBERTI, E.C., WAGMAN, L.D. Radiofrequency ablation of liver metastases from colorectal cancer. **Cancer Control.**, v.13, p. 48-51, 2006.
- GAZELLE, G.S., GOLDBERG, S.N., SOLBRATI, L., LIVRAGHI, T. Tumor ablation with radiofrequency energy. **Radiology**, v. 217, p. 633-46, 2000.
- GILLEN, S., SCHUSTER, T., MEYER ZUMBUSCHENFELDE, C., FRIESS, H., KLEEFF, J. Preoperative/ neoadjuvant therapy in pancreatic cancer: a systematic review and meta-analysis of response and resection percentages. **PLoS. Med.**, e10000267, 2010.
-

GORNET, J.M., AZOULAY, D., LEVI, F., GOLD WASSER, F. Dramatic tumor response of bulky liver metastases in a colorectal cancer patient. **Anticancer Drugs**, v. 11, p. 263-8, 2000. (Abstract)

GRIFFITHS, C.T., SILVERSTONE, A., TOBIAS, J.S., BENJAMIN, E. Introdução. In: ____ **Oncologia ginecológica**. São Paulo: Artes Médicas, 1997. cap. 1, p. 1-8.

GRIVICICH, I. REGNER, A. ROCHA, A.B. Morte celular por apoptose. **Rev. Bras. Canc.**, v. 53, p. 335-343, 2007.

GUERRA, M.R., GALLO, C.V.M., MENDONÇA, G.A.S. Risco de câncer no Brasil: tendências e estudos epidemiológicos mais recentes. **Rev. Bras. Canc.**, v. 51, 227-34, 2005.

HOCHSTER, H. S., HART, L. L., RAMANATHAN, R. K., CHILDS, B. H., HAINSWORTH, J. D., COHN, A. L., WONG, L., FEHRENBACHER, L., ABUBAKR, Y., SAIF, W., SCHWARTZBERG, L., HEDRICK, E. Safety and efficacy of oxaliplatin and fluoropyrimidine regimens with or without bevacizumab as first-line treatments of metastatic colorectal cancer: results of the TREE study. **J. Clin. Oncol.**, v. 26, p. 3523-9, 2008.

HURWITZ, H., FEHRENBACHER, L., NOVOTNY, W., CATWRIGHT, T., HAINSWORTH, J., HEIM, W., BERLIN, J., BARON, A., GRIFFING, S., HOLMGREN, E., FERRARA, N., FYFE, G., ROGERS, B., ROSS, R., KABBINAVAR, F. Bevacizumab plus irinotecan, fluoracil and leucovorin for metastatic colorectal cancer. **N. Engl. J. Med.**, v. 350, p. 2335-42, 2004.

HUSSAIN, S.A., FERRY, D.R., MIRZA, D.F., KERR, D.J. Hepatocellular carcinoma – Review. **Ann. Oncol.**, v.12, p. 161-72, 2001.

IAMAMURA, S.A., TOSHIHITO, S., NAKATANI, S., SHIRO, T., INOUE, K. Development of local necrosis and side effects after hepatic injections of acetic acid solution. **Int. Hepatol. Commun.**, v.3, p. 213-6, 1995.

JONES, H.W. Título do capítulo. In: KASE, N.G., WEINGOLD, A.B. **Ginecologia clínica**. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1990. cap 52, p. 604-27.

KALIDAS, C. Injection treatment for enlargement of prostate. **Antiseptic**, v. 64, p. 565-73, 1967.

KERR, J.F.R., WYLLIE, A.H., CURRIE, A.R. Apoptosis. A basic biological phenomenon with wide-ranging implications in tissue kinetics. **Br. J. Cancer**, v. 26, p. 239-57, 1992.

KODERA, E., FUJIWARA, M., ITO, Y., ONASHI, N., NAKAYAMA, G., KOIKE, M., NAKAO, A. Radical surgery for gastric carcinoma: it is not an issue of whether to perform D1 or D2. Dissect as many lymph nodes as possible and you will be rewarded. **Acta. Chir. Belg.**, v.109, p. 27-35, 2009.

KUMAR, V., ABBAS, A.K., FAUSTO,N., MITCHELL, R. N. **Robbins Patologia Básica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. cap. 1: Lesão celular, morte celular e adaptações. p. 1-32.

KUMAR, V., ABBAS, A.K., FAUSTO,N., MITCHELL, R. N. **Robbins Patologia Básica**. Rio de Janeiro: Elsevier, 2008. cap. 2: Inflamação aguda e crônica. p. 33-62.

LAU, W., HO, S.K.W., YU, S.C.H., LAI, E.C.H., LIEW, C., LEUNG, T.W.T. Salvage surgery following downstaging of unressectable hepatocellular carcinoma. **Ann. Surg.**, v. 240, p. 299-305, 2004.

LAURENTI, R. Transição demográfica e transição epidemiológica. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE EPIDEMIOLOGIA, 1, 1990, Campinas. **Anais...** Rio de Janeiro: ABRASCO, 1990. p. 143-65.

-
- LENCIONI, R.A., ALLGAIER, H.P., CIONI, D., OLSCHESKI, M., DEIBERT, P., CROCETTI, L. Small hepatocellular carcinoma in cirrhosis: randomized comparison of radiofrequency thermal ablation versus percutaneous ethanol injection. **Radiology**, v. 228, p. 235-40, 2003.
- LIANG, H.L., YANG, C.F., PAN, H.B., LO, G.H., LAI, P.H. Small hepatocellular carcinoma: safety and efficacy of single high dose percutaneous acetic acid for treatment. **Radiology**, v. 214, p. 769-74, 2000.
- LINK, K.H., KORMANN, M., FOMENTINI, A., LEDER, G., SUNELAITIS, E., SCHATZ, M., BEGER, H.G. Regional chemotherapy of non-resectable liver metastases from colorectal cancer – literature and institutional review. **Langenbeckd Arch. Surg**, v. 384, p. 344-53, 1999.
- MACEDO, A.R., HOSSNE, W.S., FAIFER, J.G. Resulti della terapia sclerosanti locale nel trattamento del carcinossarcoma di Walker 256 unoriabtato nel fígado. **Chir. Patol. Sper.**, v. 27, p. 444-55, 1979.
- MC GAHAN, J.P., BRAWNING, P.D., BROCK, J.M., TESLUK, H. Hepatic ablation using radiofrequency eletrocautery. **Invest. Radiol.**, v. 25, p. 267-70, 1990.
-

-
- MELO, M.A.C., VIOLET, C. Quimioterapia neoadjuvante torna ressecável carcinoma de cabeça de pâncreas. **Rev. Col. Bras. Cir.**, v. 34, p. 277-8, 2007.
- MILROY, E.J. Treatment of enlarged benign prostate using local injections: a preliminary report. **West Indian Med. J.**, v.17, p. 241-5, 1968.
- MINAGAWA, M., YAMAMOTO, J., MIWA, S., SAKAMOTO, Y., KOKUDO, N. KOSUGE, T., MIYAGAWA, S., MAKUU CHI, M. Selection criteria for simultaneous resection in patients with synchronous liver metastasis. **Arch. Surg.**, v. 141, p. 1006-12, 2006.
- MORLEY, G.W., LESKI, J.C. Radical pelvic surgery versus irradiation therapy for stage I carcinoma of the cervix. **Am. J. Obstet. Gynecol.**, v.126, p. 785-9, 1992.
- OHNISHI, K., CHIN, N., ITO, S. Percutaneous acetic acid injection therapy for hepatocellular carcinoma less than 3 cm in diameter. **Acta Hepatol. Jpn.**, v. 34, p. 504-16, 1993. (Abstract)
- OHNISHI, K., OHYAMA, N., ITO, S., FUJIWARA, K. Ultrasound guided intratumor injection of acetic acid for the treatment of small hepatocellular carcinoma. **Radiology**, v. 193, p. 743-52, 1994.
-

OHNISHI, K., NOMURA, F., ITO, S., FUJIWARA, K. Prognosis of small hepatocellular carcinoma after percutaneous acetic acid injection: study of 91 cases. **Hepatology**, v. 23, p. 994-1002, 1996.

OHNISHI, K., YASHIOKA, H., ITO, S., FUJIWARA, K. Prospective randomized controlled trial comparing percutaneous acetic acid injection and percutaneous ethanol injection for small hepatocellular carcinoma. **Hepatology**, v. 27, p. 67-72, 1998. (Abstract)

OKUNO, K. Surgical treatment for digestive cancer. Current issues – colon cancer. **Dig. Surg.**, v. 24, p. 108-14, 2007.

OVREBO, K., ROKKE, O. Extended lymph node dissection in colorectal cancer surgery. Reliability and reproducibility in assessments of operative reports. **Int. J. Colorectal Dis.**, v. 25, 213-22, 2010.

PAROLIN, M.B., REASON, I.J.M. Apoptose como mecanismo de lesão nas doenças hepatobiliares. **Arq. Gastroenterol.**, v. 38, p. 138-44, 2001.

PEARSON, A.S., IZZO, F., FLEMING, R.Y., ROH, M.S., GRANCHI, J., CURLEY, S.A. Intraoperative radiofrequency ablation on cryoablation for hepatic malignancies. **Am. J. Surg.**, v.178, p. 592-9, 1999.

-
- PINHO, M. S. L. Anticorpos monoclonais no tratamento do câncer colorretal: fundamentos e estudo atual. **Rev. Bras. Coloproct.**, v. 24, p. 382-4, 2004.
- PRINCIPE, A., DELGAUDIO, M., ERCOLANI, G., GOLFIERI, R., CUCCHETTI, A., PINNA, A.D. Radical surgery of gallbladder carcinoma: possibilities of survival. **Hepatogastroenterology**, v. 53, p. 660-4, 2006.
- RATH, G. K., JULKA, P. K., THULKAR, S., SHARMA, D. N., BAHL, A., BHATNAGAR, S. Radiofrequency ablation of hepatic metastasis: results of treatment in forty patients. **J. Can. Res. Ther.**, v.4, p. 14-7, 2008.
- REDDINGTON, B. Retention of urine due to simple prostatic enlargement treatment by prostatic injection. **Nurs. Times**, v. 64, p.1171-2, 1968.
- ROGIERS, X., BRUNKEN, C. Surgical management of hepatic metastatic diseases. **Saudi Med. J.**, v. 21, p. 519-22, 2000.
- SAAD-HOSSNE, R. Ação necrotizante da solução de fenol, ácido acético e glicerina. Instilação peritoneal. Alterações bioquímicas e anatomopatológicas. In: CONGRESSO MÉDICO ACADÊMICO, 1, 1992. Botucatu. **Resumos...** Botucatu, 1992.
-

SAAD-HOSSNE, R. **Efeitos da solução aquosa de fenol, ácido acético e glicerina sobre a celularidade no líquido ascítico do tumor de Ehrlich em camundongo.** Botucatu, 1997. 114 p. Dissertação (Mestrado em Bases Gerais da Cirurgia e Cirurgia Experimental) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.

SAAD-HOSSNE, R. **Efeito histolítico da injeção de solução bicarbonatada de ácido acetilsalicílico e da solução aquosa de ácido acético em fígado de coelhos normais, em portadores de tumor VX-2 e citolítico in vitro.** Botucatu, 2001. 216 p. Tese (Doutorado em Bases Gerais e Cirurgia Experimental) – Faculdade de Medicina, Universidade Estadual Paulista.

SALTZ, L.B., CLARKE, S., DIAZ-RUBIO, E., SCHEITHAUER, W., FIGER, A., WONG, R., KOSKI, S., LICHINITSER, M., YANG, T. S., RIVERA, F., COUTURE, F., SIRZEN, F., CASSIDY, J. Bevacizumab in combination with oxaliplatin-based chemotherapy as first-line therapy in metastatic colorectal cancer: a randomized phase III study. **J. Clin. Oncol.**, v. 26, p. 2013-9, 2008.

SANCHEZ, H., VAN SONNENBERG, E., D'AGOSTINE, H. Percutaneous tissue ablation by radiofrequency thermal energy as a preliminary to tumor ablation. **Minim. Invasive Ther.**, v.2, p. 229-305, 1993.

-
- SCHLAG, P.M., BENHIDJEB, T., KILPERT, B. Surgical and multimodality treatment of colorectal liver metastases. **Onkologie**, v.22, p. 92-7, 1999.
- SHIBATA, T., LIMURO, Y., YAMAMOTO, Y., MAETANI, Y., AMETANI, F., ITOH, K. Small hepatocellular carcinoma: comparison of radiofrequency ablation and percutaneous microwave coagulation therapy. **Radiology**, v. 223, 331-3, 2002.
- SHIPMAN, J. J., AKILE, A. N. Treatment by prostatic injection of acute urinary retention due to prostatic hyperplasia. **Br. J. Med.**, v. 2, p. 418-9, 1967.
- SIGIURA, N., TAKARA, K., OHTO, M., OKUDA, K. Treatment of small hepatocellular carcinoma by percutaneous injection of ethanol into tumor with real-time ultrasound monitoring. **Acta Hepatol. Japonica**, p. 920-24, 1983. (Abstract)
- SOARES, F. A., VASSALO, J., PAES, R. P. Sistema hemolinfopoético. In: BRASILEIRO FILHO, G. **Bogliolo Patologia**. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006. cap. 24, p. 803-11.
- SOLBIATI, L. New applications of ultrasonography – interventional ultrasound. **Eur. J. Radiol.**, v. 27, p. 200-6, 1998.
-

-
- TAKANISHI, K., MATSUMOTO, J., MINAMI, T. Management after hepatectomy of colorectal cancer metastases to the liver-intrahepatic arterial infusion chemotherapy and repeated hepatectomy. **Jpn. J. Cancer Chemother.**, v. 26, p. 1747-51, 1999.
- TALWAR, G. L., PANDE, S. K. Injection treatment of enlarged prostate. **Br. J. Surg.**, v. 53, p. 421-7, 1966.
- TAMAI, T., INOUE, J., KOHATIRO, F., FUJI, O. Development of local necrosis, side effects and histopathological study after hepatic injection of acetic acid solution. **Int. Hepatol. Commun.**, v. 6, p. 153-7, 1997.
- TANVETYANON, T., CLARK, J. I., CAMPBELL, S.C., LO, S.S. Neoadjuvant therapy: an emerging concept in oncology. **South Med. J.**, v. 98, 338-44, 2005.
- TORZILLI, G., LIVRAGHI, T., OLIVARI, N. Interstitial percutaneous therapy of the primary and metastatic liver tumors. **Ann. Ital. Chir.**, v. 70, p. 185-94, 1999. (Abstract)
- TRUFELLI, D. C., MIRANDA, V. C., SANTOS, M. B. B., FRAILE, M. P., PECORONI, P. G., GONZAGA, S. F. R., RIECHELMANN, R., KALIKS, R., GIGLIO, A. Análise do atraso no diagnóstico e tratamento do câncer de mama de um hospital público. **Rev. Assoc. Med. Bras.**, v. 54, 72-6, 2008.
-

VAN CUTSEM, E., PEETERS, M., SIENA, S., HUMBLET, Y., HENDLIZ, A., NEYNS, B., CANON, J. L., VAN LAETHEM, J. L., MAUREL, J., RICHARDSON, G., WOLF, M., AMADO, R. G. Open-label phase III trial of panitumumab plus best supportive care compared with best supportive care alone in patients with chemotherapy refractory metastatic colorectal cancer. **J. Clin. Oncol.**, v. 25, p. 1658-64, 2007.

VANE, J. R. Inhibition of prostaglandin synthesis as a mechanism of action for the aspirin-like drugs. **Nature**, v. 231, p. 232-5, 1971.

Resumo

BATISTA, R. P. Efeitos histolíticos do ácido acetilsalicílico a 10% e 20% em linfonodos. Estudo experimental em coelhos. Botucatu, 2010, 84p. Dissertação (Mestrado em Cirurgia) – Faculdade de Medicina, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

A alta incidência mundial do câncer o coloca como um grande problema de saúde pública, tanto em países desenvolvidos como em desenvolvimento. Suas particularidades, no que tange a malignidade, geram grandes problemas sociais e psicológicos nos indivíduos acometidos. O câncer é responsável por mais de 6 milhões de óbitos por ano, chegando a 12% de todas as causas no mundo. Grande número de pacientes já apresenta metástases à distância e em linfonodos adjacentes ao tumor no diagnóstico inicial. Assim como as metástases hepáticas, a disseminação linfonodal das neoplasias malignas entra como um dos principais fatores de prognóstico e recidiva das neoplasias. A ressecção cirúrgica linfonodal é considerada a principal modalidade terapêutica curativa, porém, em algumas situações, reveste-se de fatores limitantes, tais como número e localização dos linfonodos comprometidos e principalmente a aderência a órgãos e estruturas adjacentes. Ao considerar tais dificuldades e características da terapêutica das metástases linfonodais, novas opções de tratamento necessitam ser desenvolvidas. Para que estas novas opções terapêuticas tenham aplicabilidade é de se esperar que tenham uma boa taxa de eficácia, um baixo custo, pouca frequência de efeitos colaterais e que sejam de fácil execução. Neste sentido, seguindo a linha de pesquisa do Laboratório de Cirurgia Experimental da Faculdade de Medicina de Botucatu-FMB/UNESP surgiu a ideia de avaliação dos efeitos do ácido acetilsalicílico em linfonodos normais em animais de experimentação para posterior embasamento e uso em linfonodos acometidos por tumor. No presente trabalho foram utilizadas as soluções bicarbonatadas de ácido acetilsalicílico a 10% e 20% injetadas em linfonodos mesentéricos de coelhos sadios, sendo seus efeitos avaliados em 24 horas e também em 7 dias. Nos grupos avaliados em 24 horas foi verificada intensa necrose e hemorragia, aumento importante da apoptose em todo o linfonodo, com alargamento dos seios medulares e aumento dos centros germinativos. Nos grupos avaliados em 7 dias da injeção das soluções houve também aumento da apoptose, com maior elevação de histiócitos e diminuição importante da necrose; foi ausente a hemorragia e foi visualizado aumento de células gigantes, conferindo processo inflamatório crônico do tipo corpo estranho. As conclusões de natureza experimental embasam eventual aplicação clínica das soluções bicarbonatadas de ácido acetilsalicílico no tratamento de metástases linfonodais, uma vez que o aumento da apoptose encontrado é um dos pilares dos tratamentos antineoplásicos.

Palavras-chave: ácido acetilsalicílico, linfonodo, metástase, tratamento.

Abstract

BATISTA, R. P. Histolytic effects of acetylsalicylic acid at 10% and 20% in lymph nodes. Experimental study in rabbits. Botucatu, 2010, 84p. Dissertation (Masters in Surgery) – Faculdade de Medicina, Campus de Botucatu, Universidade Estadual Paulista "Julio de Mesquita Filho".

The high incidence of cancer worldwide poses as a great public health problem both in developed and developing countries. Its peculiarities with respect to malignancy generate great social and psychological problems for affected individuals. Cancer is responsible for more than six million deaths per year reaching 12% of all causes in the world. A large number of patients already have distant metastases in lymph nodes adjacent to the tumor at initial diagnosis. As well as liver metastases, the lymph node spread of malignant neoplasm comes in as one of the major factors of prognostic and recurrence of neoplasm. The lymph node resection surgery is considered the main type of treatment for cure but in some situations it presents limiting factors such as number and location of lymph nodes involved and especially the adherence to adjacent organs and structures. Considering such difficulties and therapeutic characteristics of lymph node metastases, new treatment options need to be developed. In order to have applicability it's expected that these new treatment options have effectiveness, low cost, low frequency of side effects and they should be easily executed. Following the line of research at the Laboratory of Experimental Surgery of Botucatu School of Medicine FMB / UNESP, it came up the idea of evaluating the effects of aspirin in normal lymph nodes in experimental animals on a trial basis for later use in lymph nodes affected by tumor. The present work used bicarbonate acetylsalicylic acid solution at 10% and 20% injected into lymph nodes of healthy rabbits and had its effects evaluated at 24 hours and at 7 days. In the groups evaluated at 24 hours it was observed extensive necrosis and hemorrhage, a significant increase in apoptosis throughout the lymph node with medullary sinuses enlargement and an increase in germinal centers. In the groups evaluated at 7 days of solution injection there was also an increase in apoptosis with higher elevation of histiocytes and a significant decrease of necrosis; there was no bleeding and an increase of giant cells was noticed causing a foreign body chronic inflammation. The findings of experimental character underlie eventual clinical application of bicarbonate acetylsalicylic acid solutions in the treatment of lymph node metastases, since the increase in apoptosis found is one of the pillars in cancer treatment.

Keywords: acetylsalicylic acid, lymph nodes, metastases, treatment
