

Avaliação do potencial carcinogênico da somatotropina bovina recombinante (BST-r) em *Drosophila melanogaster*

*Evaluation of the carcinogenic potential of recombinant bovine somatotropin (r-BST) in *Drosophila melanogaster**



Leonardo Bruno Borges Gonçalves

Acadêmico do curso de Medicina Veterinária do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). e-mail: leoboorges@hotmail.com

Priscila Capelari Orsolin

Doutora em Genética e Bioquímica pela Universidade Federal de Uberlândia. Docente dos cursos de Ciências Biológicas, Medicina e Odontologia do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM). e-mail: priscilaco@unipam.edu.br

RESUMO: A somatotropina bovina recombinante (BST-r) é um análogo sintético do hormônio do crescimento (GH). A sua descoberta ocorreu em 1920, porém, apenas na década de 80, pôde-se produzir a somatotropina recombinante bovina em escala industrial pela técnica de DNA recombinante. A BST-r é um medicamento que vem sendo bastante utilizado e que promove alguns resultados favoráveis, como o aumento da divisão celular, a amplificação do metabolismo de lipídios, carboidratos e o aumento na produção de leite. A ampla utilização desse hormônio de forma exógena, associado aos possíveis riscos de seu uso, justificam a realização do presente trabalho, que tem como objetivo principal analisar o efeito carcinogênico da BST-r em *Drosophila melanogaster*, utilizando o teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*wts*). Para realização do experimento foram utilizadas três concentrações diferentes de BST-r, sendo estas: 0,25; 0,50 e 1,0 mg/mL; um controle negativo (água ultrapura) e um controle positivo (doxorubicina 0,4 mM). O tratamento foi realizado com larvas de 72 horas descendentes do cruzamento de fêmeas *wts/TM3* com machos *mwh/mwh*. Os resultados revelam que a BST-r apresentou efeito carcinogênico nas três concentrações testadas, uma vez que as frequências de tumores foram estatisticamente superiores à frequência do controle negativo. Conclui-se, portanto, que nas presentes condições experimentais, a BST-r possui efeito carcinogênico.

PALAVRAS-CHAVE: Carcinogênese. Organismo teste. DNA recombinante. Gene marcador.

Abstract: The recombinant bovine somatotropin (r-BST) is a synthetic analogue of growth hormone (GH). Its discovery occurred in 1920, but it was only in the 1980s that the recombinant bovine somatotropin could be produced on an industrial scale by the recombinant DNA technique. r-BST is a medicine that has been quite used and promotes some results,

among which we can mention the increase of cellule division, the amplification of lipid metabolism, carbohydrates and increase in milk production. The broad use of this hormone in an exogenous manner, associated with the possible risks of its use, justifies the accomplishment of the present work, whose main goal is to analyze the carcinogenic effect of r-BST on *Drosophila melanogaster*, using the detection of clones of epithelial tumors test (*wts*). To the accomplishment of the experiment three different concentrations of r-BST were used: 0.25; 0.50 and 1.0 mg/mL; a negative control (ultrapure water) and a positive control (doxorubicin 0.4 mM). The treatment was carried out with larvae of 72 hours descended from the crossing of *wts*/TM3 females with *mwh*/*mwh* males. The results show that r-BST brought up a carcinogenic effect in the three concentrations tested, since tumor frequencies were statistically higher than the frequency of the negative control. It is concluded, therefore, that in the present experimental conditions, the r-BST has carcinogenic effect.

KEYWORDS: Carcinogenesis. Test organism. Recombinant DNA. Gene marker.

1. INTRODUÇÃO

As neoplasias têm aumentado em frequência, não só em humanos, mas também em outros animais, sendo apontadas como uma das maiores causas de óbitos em cães e gatos (BALDIN *et al.*, 2005). A cada ano, cresce o número de pessoas e de animais domésticos acometidos por algum tipo de neoplasia. O estilo de vida da sociedade moderna contribui para aumentar a exposição da população a fatores ambientais, nutricionais, químicos e hormonais potencialmente carcinogênicos. Certamente, a interferência do homem nos hábitos alimentares dos animais e no seu ambiente também os coloca sob o mesmo risco. Essa é, provavelmente, uma das explicações pela qual a frequência de algumas neoplasias se equivale no homem e nos animais (MOULTON, 2002).

Embora o câncer pareça ser essencialmente genético, os fatores ambientais podem aumentar a frequência das mutações. Portanto, esses fatores, incluindo dieta, radiações ionizantes, agentes químicos, físicos e biológicos, presentes no meio, também desempenham um papel nas alterações genéticas causadoras de câncer (JORDE; CAREY; BAMSHAD, 2010). Os hormônios estão entre os vários fatores indutores ou promotores da carcinogênese. Sejam endógenos ou exógenos, eles estimulam a proliferação celular, predispondo às alterações genéticas (HENDERSON; FEIGELSON, 2000). Dentre esses hormônios, cresce o interesse pelo estudo da somatotropina recombinante bovina (BST-r).

A somatotropina é nomeada também como hormônio do crescimento (GH), ele é sintetizado e secretado pela adenohipófise, sendo constituído por uma cadeia simples de polipeptídeos que contém 191 aminoácidos (BARBOSA *et al.*, 2002). É possível obter o GH sinteticamente pela abordagem do DNA recombinante, dando origem a somatotropina bovina recombinante (BST-r) (RODRIGUES, 2008a). Este hormônio foi reconhecido primeiro por sua eficiência em estimular o crescimento do esqueleto e o desenvolvimento do peso corporal em animais jovens, além de conter

grandes efeitos no metabolismo de carboidratos (ALEIXO, 2004).

Segundo Lucy (2000), a BST-r também é capaz de atuar diretamente sobre o sistema reprodutor, pois no útero e nos ovários são observados receptores ao BST-r, mas, sem dúvida, sua maior influência na reprodução se dá de forma indireta, por meio do IGF-1 (*insulin-like growth factor*). Além dos efeitos já mencionados, a BST-r tem um efeito singular no estímulo do crescimento e do desenvolvimento do aparelho glandular mamário e na lactação (GÜLAY; HATIPOGLU, 2005).

A ampla utilização desse hormônio de forma exógena, associado aos possíveis riscos de seu uso, justificam a realização do presente trabalho, que tem como objetivo principal analisar o efeito carcinogênico da somatotropina recombinante bovina (BST-r) em *Drosophila melanogaster*, utilizando o teste para detecção de clones de tumores epiteliais (*wts*).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. CARCINOGENESE

A carcinogênese resulta do acúmulo de mutações genéticas herdadas ou adquiridas pela ação de agentes ambientais, químicos, hormonais, radioativos ou virais, denominados carcinógenos (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000). Além dos agentes carcinogênicos, os tumores podem ocorrer como consequência do acúmulo de alterações genéticas que interferem no controle normal do crescimento e na diferenciação celular, pela transformação de uma célula maligna por meio de múltiplas etapas, em um processo denominado progressão tumoral (FETT-CONTE; SALLES, 2002).

O desenvolvimento do câncer compreende quatro estágios básicos: a iniciação, a promoção, a progressão e a conversão. A primeira fase é decorrente da exposição das células aos carcinógenos, resultando nas mutações e na formação de clones celulares atípicos. Já na fase de promoção, ocorre a multiplicação desses clones celulares já iniciados; nessa fase, a retirada do contato com os carcinógenos pode interromper o processo (PERATONI, 1998). No terceiro e quarto estágios, a carcinogênese ocorre devido à progressão e à conversão das células saudáveis em malignas. Neles, as células modificadas apresentam autonomia para se multiplicarem e, pela perda da coesão e conquista da mobilidade, tornam-se invasivas (MAREEL; LEROY, 2003).

Os grandes alvos de modificação genética são os proto-oncogenes, os genes supressores tumorais e os genes que regulam a morte celular programada, ou apoptose (DELFINO *et al.*, 1997). Os oncogenes, produtos de proto-oncogenes alterados, codificam proteínas que promovem a perda do controle sobre o ciclo mitótico e levam as células a se tornarem cancerosas; esses genes resultam de mutações somáticas e são dominantes (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2000). Acredita-se que os genes reparadores do DNA também contribuam para que ocorra o processo de carcinogênese, pois qualquer anormalidade nesses genes acarretaria mutações no genoma resultando no surgimento de neoplasias (COTRAN; KUMAR; ROBBINS, 2000). Apesar

da enorme variabilidade do câncer, evidências demonstram que a resistência a apoptose é uma das características mais marcantes da maioria dos tumores malignos (OKADA; MAK, 2004).

Em 2001, pesquisadores da Harvard School of Public Health avaliaram que 35% das mortes ocasionados pelo câncer no mundo estavam relacionadas ao efeito combinado de nove fatores de risco, sendo estes separados em cinco grupos: dieta e inatividade física; substâncias aditivas (tabaco e álcool); saúde sexual e reprodutiva (infecções sexualmente transmissíveis); riscos ambientais (poluição do ar, combustíveis, tabagismo passivo) e contaminação por vírus (hepatite B e C) (INCA, 2006).

2.2. SOMATOTROPINA BOVINA RECOMBINANTE (BST-R)

O hormônio do crescimento (GH) também pode ser chamado de hormônio somatotrópico ou somatotropina (ST), por ser uma molécula pequena e de caráter proteico, pode ainda ser denominada de hormônio proteico (GUYTON; HALL, 2011).

O GH é fabricado pelos somatotrófos da adenohipófise e, em sua forma predominante, corresponde a aproximadamente 75% do GH circulante. É formado por uma cadeia única contendo 198 aminoácidos com duas pontes dissulfídicas internas, o que lhe atribui um peso molecular de 22 kDa. Por isso, 5% a 10% correspondem a uma molécula menor de 20 kDa, resultado de *splicing* alternativo, e o restante é representado por formas denominadas N-acetiladas ou oligômeros de GH (ROSENFELD; COHEN, 2002).

A descoberta da BST ocorreu em 1920 pelos pesquisadores Evans e Simpson, porém, apenas na década de 80, após incontáveis pesquisas, pôde-se produzir a somatotropina recombinante bovina em escala industrial pela técnica de DNA recombinante a partir da bactéria *Escherichia coli* (SPINOSA; GORNIK; BERNARDI, 2006). Santos (2001) e Crooker *et al.* (2005) reafirmam que, com o advento da biotecnologia, a qual envolve a tecnologia do DNA recombinante, tornou-se possível produzir, a partir de genes removidos de bovinos e inseridos em plasmídeos da bactéria *E. coli*, a somatotropina bovina, atualmente conhecida como somatotropina bovina recombinante (BST-r). Esta passou a ser controlada em condições laboratoriais e produzida em escala industrial, o que tornou possível sua utilização comercial. Este fato teve grande impacto na indústria leiteira, uma vez que o desenvolvimento da BST-r promoveu uma fonte ilimitada para pesquisa, permitindo que pesquisadores conduzissem muitos estudos sobre seu funcionamento.

A somatotropina recombinante bovina encontrada no mercado nos dias de hoje contém, em 1 seringa de 2 mL, 500 mg de somatotropina. Sua liberação ocorre de forma lenta, injetável e deve ser administrada em intervalos de 14 dias. Essa liberação lenta é necessária, pois sua remoção da corrente sanguínea acontece de forma rápida e por ela não ser armazenada no corpo (BOOSTIN®, 2009).

Várias são as funções desempenhadas pelo GH, e este atua em diversas partes do organismo, incluindo os ovários, no processo de foliculogênese. Estudos *in*

vitro e *in vivo* têm revelado a importância deste hormônio durante o desenvolvimento folicular (MAGALHÃES *et al.*, 2012). Porém, a principal função desencadeada por este hormônio é a promoção do crescimento de todo o corpo por meio da sua ação interventiva na formação proteica, na multiplicação celular e na diferenciação celular. Além da ação sobre o crescimento corporal, o GH exerce específicas funções metabólicas, podendo promover elevação da mobilização de lipídeos para produção de energia e redução da utilização da glicose celular (GUYTON; HALL, 2011). É preciso ressaltar ainda que, quando há descontrole na secreção e/ou ação desse hormônio, graves consequências podem ser ocasionadas, dentre elas, pode-se citar o câncer.

O primeiro indício de uma eventual associação entre GH e câncer surgiu em 1950, com a demonstração de que doses suprafisiológicas do GH, quando aplicadas em ratos, ocasionavam alterações neoplásicas em diversos órgãos, enquanto a hipofisectomia revertia um quadro de leucemia ou protegia o animal de potencializar a doença (MOON *et al.*, 1950 *apud* CASTRO; GUERRA JÚNIOR, 2005).

Nos últimos anos, vasta quantidade de publicações descreve a ligação entre o GH e o câncer, tanto em organismos animais quanto em humanos. Tais descrições englobam a alta incidência de câncer em pacientes com acromegalia, alteração do risco de câncer juntamente com polimorfismos dos genes hGH/IGF-1 (WAGNER *et al.*, 2006; GUEDES *et al.*, 2008) e aumento da expressão de hGH em anormalidades proliferativas (GUEDES *et al.*, 2008).

A BST-r é um medicamento que vem sendo bastante utilizado, promovendo alguns resultados satisfatórios, dentre os quais podem-se citar o aumento da divisão celular e a amplificação do metabolismo de lipídios e carboidratos. Outra função desempenhada por ela (muitos produtores têm utilizado quase que exclusivamente para este fim) é sua capacidade de promover o aumento na produção de leite. Essas alterações acontecem devido à ação direta da BST-r em alguns tecidos (hepático e adiposo) e, indiretamente, por meio do aumento de IGF-I sanguíneo, atuando em tecidos como o mamário, muscular e ósseo (MOREIRA *et al.*, 2002a; NASCIMENTO *et al.*, 2003; RODRIGUES *et al.*, 2008b).

Nagano *et al.* (2004) concluíram que o uso de BST-r aumenta o número total de embriões e ovócitos viáveis e melhora o desenvolvimento embrionário, mas não altera o número de embriões degenerados e infertilizados, nem altera a manifestação do estro em novilhas superovuladas. Já Moreira *et al.* (2002b), atribuíram à BST-r o aumento da taxa de fertilização e melhoria na qualidade de embriões. Enquanto que Marques *et al.* (2009) observaram, em vacas receptoras de embrião, melhora na taxa de gestação após administração da BST-r no dia do estro, mas não detectaram aumento na concentração sérica de progesterona desses animais.

2.3. O USO DE *DROSOPHILA MELANOGASTER* COMO MODELO BIOLÓGICO EM PESQUISAS GENÉTICAS

A *Drosophila melanogaster*, também conhecida por mosca da fruta ou mosca-do-vinagre, pertence à ordem *Diptera*, à família *Drosophilidae* e ao gênero

Drosophila. Suas características biológicas são muito favoráveis para o desenvolvimento de trabalhos experimentais em genética, sendo elas: dimensões reduzidas (3 a 4 mm); fácil conservação, alimentação e manuseio; ciclo de vida curto; descendência em número elevado; fácil distinção dos sexos; e cariótipo com apenas 4 pares de cromossomos (PEREIRA *et al.*, 2008). Além de serem organismos de fácil cultivo em laboratório, com poucas exigências nutricionais e baixo custo (IBMC/INEB, 2008).

À semelhança do que se observa na grande parte dos seres vivos, o ciclo de vida da *D. melanogaster* está sujeito às condições ambientais. O tempo médio de vida das fêmeas é de 26 dias e de 33 para o macho; os mutantes podem mostrar um tempo de vida mais breve. Sua forma selvagem (*wild tipe* – wt) é a mais predominante e apresenta olhos vermelhos, corpo cinzento e asas longas (PEREIRA *et al.*, 2008).

A existência de conservação evolutiva entre genes supressores de tumor entre *Drosophila* e mamíferos tem fomentado estudos na indução e no desenvolvimento de tumores em *Drosophila*, estudos estes que podem colaborar diretamente para o entendimento de cânceres em outros animais (POTTER; TURENCHALK; XU, 2000). Diversos proto-oncogenes e supressores de tumores de mamíferos são conhecidos nesse organismo teste (EEKEN *et al.*, 2002). Dentre eles, o gene *wts*, que foi identificado baseado na sua habilidade para ação como um supressor de tumor em *Drosophila* (NISCHIYAMA *et al.*, 1999). A deleção desse gene resulta na formação de clones de células que são circulares e consideravelmente invasivas, chamadas literalmente de verrugas, que podem se desenvolver por todo o corpo da mosca (JUSTICE *et al.*, 1995).

3. METODOLOGIA

3.1. AGENTES QUÍMICOS

3.1.1. Somatotropina Bovina Recombinante (BST-r)

Boostin® é uma formulação de BST-r indicada para aumentar a produção de leite em vacas em lactação. Cada seringa (dose) contém 500 mg de somatotropina recombinante bovina, 1.200 mg de vitamina E (acetato) e 300 mg de lecitina. Este fármaco deve ser administrado em vacas leiteiras no período de lactação, sendo, 1 seringa de 2 mL (500 mg de BST-r) a cada 14 dias, por via subcutânea, na fossa isquio-retal previamente desinfetada, alternando-se os lados esquerdo e direito a cada aplicação. Este deve ser conservado entre temperaturas de 2° a 8° C, não podendo sofrer processo de congelamento e devendo estar protegido da luz. Sua comercialização é feita sob prescrição do médico veterinário, com retenção obrigatória da notificação de receita. Cada caixa contém 25 seringas com 500 mg de somatotropina bovina recombinante (BOOSTIN®, 2009).

Para realização do experimento, foram utilizadas 03 (três) concentrações

diferentes de BST-r (Boostin®, número de partida: 039/2016; data de fabricação: julho/2018 e data de validade: julho/2018), sendo estas: 0,25; 0,50 e 1,0 mg/mL. As concentrações foram baseadas em estudo desenvolvido por Laurence, Grimison e Gonenne (1992).

3.1.2. Doxorubicina (DXR)

Adriblastina® RD (cloridrato de doxorubicina) pó liofilizado injetável tem sido usada para produzir regressão em várias neoplasias, tais como carcinoma da mama, pulmão, bexiga, tireoide e ovário; e sarcomas ósseos e de tecidos moles. É um antibiótico usado como quimioterápico com ação nas células tumorais, diminuindo sua multiplicação e interferindo nas suas funções (ADRIBLASTINA®, 2013). A capacidade da DXR de se ligar à membrana celular pode afetar uma variedade de funções. Ela também parece estar envolvida nas reações de oxidação/redução, com a produção de radicais livres altamente reativos e altamente tóxicos. Células tratadas com este medicamento têm manifestado alterações nas características morfológicas associadas a apoptose, o que pode ser um dos seus mecanismos de ação (DOXORRUBICINA®, 2013).

Adriblastina® RD deve ser conservada em temperatura ambiente (entre 15 e 30° C), protegida da luz. É registrada, importada e distribuída por Laboratórios Pfizer Ltda. (ADRIBLASTINA®, 2013). No presente experimento foi utilizada Adriblastina® (lote de fabricação: 5PL5111; data de fabricação: 09/2015 e data de validade: 09/2019), na concentração de 0,4 mM, concentração reconhecidamente carcinogênica em *D. melanogaster* (VASCONCELOS *et al.*, 2017). Esta foi utilizada isoladamente, como controle positivo, e em associação às concentrações de Boostin® testadas (0,25; 0,50 e 1,0 mg/mL).

3.2. TESTE PARA DETECÇÃO DE CLONES DE TUMORES EPITELIAIS EM *DROSOPHILA MELANOGASTER*

3.2.1. Linhagens estoque

Para realização do teste *wts* foram utilizadas duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* (*wts* e *mwh*), estocadas no Laboratório de Citogenética e Mutagenese do Centro Universitário de Patos de Minas. Tais linhagens são mantidas em frascos de vidro contendo meio de cultura próprio para *D. melanogaster* e conservadas dentro de uma incubadora (temperatura de 25° C e 60% de umidade, aproximadamente).

3.2.2. Cruzamento

Para acasalamento, machos (*mwh/mwh*) e fêmeas virgens (*wts/TM3, Sb¹*) foram colocados juntos, em frascos contendo meio de cultura próprio e, posteriormente, foram transferidos para frascos de postura, onde as fêmeas depositaram

seus ovos, por um período médio de 8 horas. A partir desse cruzamento foram obtidas larvas heterozigotas (*wts +/+ mwh*) de 72 horas, que foram tratadas com Boostin® (em diferentes concentrações) e os respectivos controles (positivo e negativo).

3.3. PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

3.3.1. Tratamento e análise das moscas

As larvas de 3º estágio (72 horas) resultantes do cruzamento mencionado anteriormente foram transferidas para frascos contendo 1,5 g de purê de batata e 5 mL do agente testado: Boostin® (0,25; 0,50 e 1,0 mg/mL); controle positivo, Doxorrubicina (0,4 mM); ou controle negativo, água ultrapura. Após o tratamento, todos os tubos de ensaio foram vedados e mantidos na incubadora por aproximadamente uma semana, período necessário para o desenvolvimento das larvas em moscas adultas.

Concluído o tratamento, foram armazenadas as moscas que haviam sido coletadas em frascos contendo etanol 70%. Feito isso, elas foram separadas quanto ao fenótipo (apenas moscas cujas características continham pelos finos e longos apresentavam o gene *wts*, sendo assim, as moscas com fenótipo de pelo curto e grosso foram descartadas). Lupas estereoscópicas e pinças entomológicas foram utilizadas para a análise das moscas.

3.4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

As diferenças estatísticas entre as frequências de tumores das concentrações testadas de somatotropina e os controles foram calculadas utilizando-se o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney (α 0,05).

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

É possível visualizar os tumores nos diferentes segmentos do corpo da *Drosophila melanogaster* quando submetida ao tratamento com a BST-r (nas diferentes concentrações) e aos controles, positivo e negativo, por meio da Tabela 1 (na página seguinte).

É notório que as concentrações isoladas da BST-r apresentam frequências de tumores que diferem significativamente ($p < 0,05$) do controle negativo, uma vez que alcançaram valores mais elevados que a frequência obtida no respectivo controle, revelando presença do efeito carcinogênico da BST-r nas três concentrações testadas (0,25, 0,50 e 1,0 mg/mL). Nessas concentrações, as frequências totais de tumores foram, respectivamente, 1,55; 3,47 e 0,37 tumores por mosca.

Em relação aos indivíduos submetidos ao tratamento com o controle positivo, é possível observar uma frequência de 5,23 tumores por mosca, demonstrando que a DXR responde de forma expressiva à indução tumoral nas linhagens utilizadas no teste, visto que o número de tumores foi significativamente maior nesta concentração ($p < 0,05$), quando comparado ao controle negativo, o que justifica a sua utilização no presente estudo como controle positivo. Cardoso e Nepomuceno (2015) e Bontempo e Orsolin (2016) também evidenciaram em seus estudos aumentos significativos nas frequências de tumores em todos os segmentos corporais da *D. melanogaster* adulta ao utilizar a DXR como controle positivo no teste *wts*. Buscando reafirmar o efeito carcinogênico da DXR, Alves e Nepomuceno (2012) relataram que a substância é capaz de agir de forma sistêmica e pode induzir alterações nas células saudáveis, desencadeando o efeito pró-tumoral.

TABELA 1. Frequências de clones tumorais observados em *Drosophila melanogaster*, heterozigota para o gene supressor de tumor *wts*, tratadas com doxorrubicina e diferentes concentrações de somatotropina bovina recombinante (BST-r).

Tratamentos			Número de tumores analisados							Frequência (nº de tumores/ mosca)
BST-r (mg/mL)	DXR (mM)	nº de moscas	olho	cabeça	asa	corpo	perna	halter	total	
0	0	200	0	3	9	10	0	1	23	0,11
0	0,4	200	1	42	748	68	160	27	1046	5,23*
0,25	0	200	2	30	192	53	26	6	309	1,55*
0,50	0	200	0	13	500	71	102	7	693	3,47*
1,0	0	200	0	3	24	25	17	2	74	0,37*

Diagnóstico estatístico de acordo com o Teste de Mann-Whitney Teste. Nível de significância $p \leq 0,05$

* Valor considerado diferente do controle negativo ($p \leq 0,05$).

Observando as concentrações testadas e o número de tumores nos indivíduos tratados em cada concentração, nota-se que, na medida em que aumenta a concentração, aumenta também a frequência tumoral, porém, o valor referido na última concentração (1,0 mg/mL) difere das outras concentrações analisadas (0,25 e 0,50 mg/mL), uma vez que, embora também seja carcinogênica, apresenta frequência tumoral inferior às demais concentrações. Este fato pode estar relacionado à capacidade do medicamento de causar a morte celular, sendo assim, a célula não é capaz de desenvolver células tumorais e, quando esta é capaz, ocorre em baixa quantidade em vista das demais concentrações. Esse fato é explicado pelos autores Dubin e Stoppani (2000), pois eles relatam que, quando o índice de apoptose se apresenta alto, o tumor cresce muito lentamente e, se estiver baixo, o tumor cresce rapidamente. Em alguns casos, a exposição crônica a fármacos capazes de provo-

car lesão do DNA pode predominar sobre esses mecanismos de reparo, ocasionando mutagênese, carcinogênese ou morte celular. Conforme a gravidade da agressão tóxica, uma célula pode acabar sofrendo apoptose, também conhecida como morte celular programada (GOLAN *et al.*, 2009).

Para o INCA (2008), a oncogênese química é um processo sequencial, dividido em duas fases principais, a iniciação e a promoção. Na fase de iniciação, é necessário um fator iniciador ou carcinogênico capaz de causar algum tipo de dano ou mutação celular, sendo que a mutação dos ácidos nucleicos refere-se ao fenômeno principal na etapa de iniciação da carcinogênese. As células que foram “iniciadas” ficam latentes até que agentes promotores atuem sobre elas. Já a fase de promoção ocasiona o crescimento da célula que passou pelo processo de mutação, sendo que a mesma pode acontecer a qualquer momento, posteriormente ao início da transformação celular. Agentes químicos como o asbesto, o processo inflamatório e os hormônios são considerados fatores de promoção que atuam no crescimento celular normal.

Meuten (2002) afirma que a carcinogênese hormonal é diferente daquela induzida por vírus ou agentes químicos, pois a proliferação celular não necessita de um agente iniciador específico, sendo assim, a somatotropina bovina recombinante, sintetizada artificialmente a partir do hormônio do crescimento, é capaz de atuar em grande parte das células, desta forma, tem capacidade de acelerar o processo mitótico e desencadear algum tipo de neoplasia no organismo animal. Para ele, os hormônios induzem proliferação celular com consequentes mutações genéticas que darão origem à célula neoplásica.

Ao longo dos últimos anos, a utilização da somatotropina bovina recombinante tem sido contestada devido aos prováveis efeitos colaterais decorrentes do seu uso desmedido. Dentre eles, podemos destacar a possibilidade do surgimento de câncer e diabetes, visto que ambos os efeitos se encontram relacionados ao IGF-1, cuja quantidade se eleva nos tecidos animais pela ação da somatotropina (JECFA, 1999).

Jenkins e Bustin (2005) relatam a existência de grandes evidências, considerando que o GH humano, pelo aumento da expressão de IGF-1, provê maior ligação entre esses fatores e o desenvolvimento de câncer por meio da sua influência na regulação da proliferação, da diferenciação e da apoptose celular. Sua expressão inapropriada parece contribuir para o crescimento, a manutenção e a progressão da maioria das neoplasias, incluindo câncer de mama, pulmão e cólon.

De acordo com Felipe (2005), a exposição crônica a altos níveis de insulina e de IGF-1 aumenta o risco de câncer dos mais variados tipos, sendo que a insulina funciona de um modo integrado com o IGF-1, promovendo a proliferação celular maligna.

Baserga, Peruzzi e Reiss (2003), bem como Yakar, Leroith e Brodt (2005) reafirmam os dizeres dos autores supracitados. Segundo eles, o papel do gene IGF-1 e seu receptor IGF-1R na oncogênese é bem documentado. Estes autores afirmam

ainda que diversos estudos epidemiológicos relataram a elevação dos níveis séricos de IGF-1 associada ao aumento do risco de câncer de mama e próstata e do câncer colorretal em humanos.

Sabe-se que o IGF-1 não é produzido exclusivamente pelo fígado, e outros tecidos, como, por exemplo, o muscular, também são capazes de sintetizá-lo. Quando os receptores do GH presentes no fígado são ativados, ocorre um aumento nos níveis de IGF-1; desta forma, segundo o autor McGuire *et al.* (1992), diferentes respostas podem ser relatadas sobre a atividade das proteínas ligadas, e o papel do IGF-I circulante por um mediador de BST sobre as respostas de estímulo de crescimento não é completamente conhecido.

Ulanet *et al.* (2010) e Braun, Bitton-Worms e Leroith (2011) afirmam que o envolvimento do sistema IGF no câncer é apoiado por evidências experimentais de uma série de estudos que têm investigado o papel do IGF-1R na transformação celular mediada por vários oncogenes potentes, bem como na sobrevivência da célula, na proliferação, invasão e metástase.

Tais evidências servem como pressuposto para dizer, mesmo que hipoteticamente, devido à escassez de recursos bibliográficos sobre o assunto acertado, que a carcinogenicidade provocada pela BST-r está intimamente relacionada ao IGF-1, por se tratar de um hormônio que atua indiretamente por meio desta via. Tal fato é confirmado pelos autores Lucy (2000) e Bilby *et al.* (2004), pois seus estudos mostraram que a injeção de BST-r aumenta as concentrações séricas de IGF-1.

Portanto, a fim de proporcionar uma maior qualidade de vida aos animais, faz-se necessário saber dos efeitos deletérios e da gravidade deste produto para a saúde animal, pois, tendo conhecimento de seus malefícios, é possível buscar outros métodos para se chegar ao resultado esperado.

5. CONCLUSÃO

O potencial carcinogênico da somatotropina recombinante bovina foi evidenciado, uma vez que, nas condições experimentais adotadas no presente experimento, verificou-se aumento na frequência de células tumorais em *D. melanogaster* tratadas com diferentes concentrações de BST-r. Acredita-se que tal efeito possa estar associado ao papel do gene IGF-1 e seu receptor IGF-1R.

Este estudo oferece oportunidades para que demais pesquisas sejam desenvolvidas (envolvendo outras metodologias e outros organismos testes), pois o uso recorrente e demasiado deste medicamento pelos produtores rurais, principalmente em rebanhos leiteiros, pode acarretar problemas à saúde dos animais submetidos ao uso da BST-r, independentemente da finalidade que se objetiva.

REFERÊNCIAS

ADRIBLASTINA®: frasco-ampola. Responsável técnico: José Cláudio Bumerad. Fabricado por: Actavis Italy S.p.A. Nerviano, Milão e registrado, importado e distribuído por: Laboratórios Pfizer Ltda. Guarulhos, SP. 2013. Bula de remédio.

ALEIXO, M. A. *A somatotropina recombinante bovina (bst) e a dinâmica folicular em bovinos leiteiros*. 2004. 36 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Medicina Veterinária, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.

ALVES, E. M.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação do efeito anticarcinogênico do látex do avelós (*Euphorbia tirucalli*), por meio do teste para detecção de clones de tumor (warts) em *Drosophila melanogaster*. *Perquirere*, 9(2): 125-140, 2012.

BALDIN, J. C. *et al.* Importância do estudo das neoplasias em medicina veterinária: Conceitos atuais. *Anuário da Produção de Iniciação Científica Discente*, 3(9): 9-13, 2005.

BARBOSA, P.G. *et al.* Uso da Somatotropina Bovina Recombinante – rbST como alternativa para a produção de leite de cabra na entressafra. *R. Bras. Zootec.*, 31(5): 2011-2023, 2002.

BASERGA, R.; PERUZZI, F.; REISS, K. The Igf-I Receptor in Cancer Biology. *Int J Cancer*, 107 (2003): 873-877.

BILBY, T. R. *et al.* Pregnancy and Bovine Somatotropin in Nonlactating Dairy Cows: I. Ovarian, Conceptus, and Insulin-Like Growth Factor System Responses. *Journal of Dairy Science*, 87 (2004): 3256-3267.

BOOSTIN®: seringa. Responsável técnico: Dr. Leonardo B. R. Costa. CRMV-SP 15.790. Proprietário e fabricante: LG Life Sciences Ltd. 129, Seokam-ro, Iksan-si, Jeollabuk-do, Korea. Representante exclusivo no Brasil, distribuidor e importador: Merck Sharp & Dohme Saúde Animal Ltda. Cruzeiro, SP. 2009. Bula de remédio.

BONTEMPO, N. J. S.; ORSOLIN, P. C. Avaliação do efeito anticarcinogênico do extrato de folhas de manga (*Mangifera indica* L.) por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. *Perquirere*, 13(1): 238-254, 2016.

BRAUN, S.; BITTON-WORMS, K.; LEROITH, D. The Link between the Metabolic Syndrome and Cancer. *Int J Biol Sci.*, 7(7): 1003-1015, 2011.

CARDOSO, A. C. M.; NEPOMUCENO, J. C. Avaliação do efeito modulador do óleo de alho (*Allium sativum* L.) sobre a carcinogenicidade da doxorubicina em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. *Perquirere*, 12(1): 160-175, 2015.

CASTRO, A. M. S.; GUERRA-JÚNIOR, G. GH/IGF e neoplasia: o que há de novo nesta associação. São Paulo: *Arq. Bras. Endocrinol. Metab.*, 4(5): 833-842, 2005.

COTRAN, R. S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S. L. *Patologia estrutural e funcional*. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

CROOKER, B. A., *et al.* *Dairy Research and Bovine Somatotropin*, 2005. Disponível em: <<http://www.extension.umn.edu/distribution/livestocksystems/DI6337.html>> Acesso em: 27 jul. 2017.

DELFINO, A. B. *et al.* O envolvimento de genes e proteínas na regulação da apoptose-carcinogênese. *Rev. Bras. Cancerol.*, 43(3): 173-186, 1997.

DOXORRUBICINA®: frasco-ampola. Responsável técnico: Luciana Righetto. Fabricado por: Laboratórios IMA S.A.I.C. Ciudad de Buenos Aires - Pcia. De Buenos Aires – Argentina. Embalado por: Glenmark Generics S.A. – Pilar, Parque Industrial – Buenos Aires, Argetina. Importado por: Glenmark Farmacêutica Ltda. 2013. Bula de remédio.

DUBIN, M.; STOPPANI, A. O. M. Muerte celular programada y apoptosis función de las mitocondrias. *Medicina*, 60 (2000): 375-86.

EEKEN, J. C. J. *et al.* Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor supressor gene wts. *Enviromental and Molecular Mutagenesis*, 40 (2002): 277-282.

FELIPPE, J. J. A insulinemia elevada possui papel relevante na fisiopatologia do infarto do miocárdio, do acidente vascular cerebral e do câncer. *Revista Eletrônica da Associação Brasileira de Medicina Complementar*, 2005. Disponível em: <<http://www.medicinacomplementar.com.br/biblioteca/pdfs/Cancer/ca-0365.pdf>>. Acesso em: 18 jan. 2018.

FETT-CONTE, A. C.; SALLES, A.B.C.F. A importância do gene p53 na carcinogênese humana. *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, 24(2): 85-89, 2002.

GOLAN, D. E. *et al.* *Princípios de Farmacologia: a base fisiopatológica da farmacoterapia*. 2. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2009.

GUEDES, A. D. *et al.* O Hormônio de Crescimento na Síndrome de Turner: Dados e Reflexões. *Arq. Bras Endocrinol Metab.*, 52(5): 757-764, 2008.

GÜLAY, M. S.; HATIPOGLU, F.S. Use of bovine somatotropin in management of transition dairy cows. *Turkish Journal of Veterinary and Animal Sciences*, 29(3): 571-580, 2005.

GUYTON, A. C; HALL, J. E. *Tratado de fisiologia médica*. 8.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2011.

HENDERSON, B. E.; FEIGELSON, H.S. Hormonal carcinogenesis. *Carcinogenesis*, 21(3): 427-433, 2000.

IBMC/INEB. *Estaleiro da ciência: guia prático*. Porto: Universidade do Porto, IBMC, INEB, 2008.

INCA: Instituto Nacional do Câncer. Ministério da Saúde. *A situação do câncer no Brasil*. Rio de Janeiro, 2006. Disponível em: <http://www1.inca.gov.br/situacao/arquivos/causalidade_cancer.pdf>. Acesso em: 03 de mar. 2017.

INCA: Instituto Nacional de Câncer. Ministério da Saúde. *Ações de enfermagem para o controle do câncer: uma proposta de integração ensino-serviço*. 3.ed. Rio de Janeiro. 2008, cap. 2.

JECFA. Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain veterinary drug residues in food. *WHO Technical Report Series 888*. World Health Organization, 108p., 1999.

JENKINS, P. J.; BUSTIN, S.A. Evidence For a Link Between Igf-I and Cancer. *Eur J Endocrinol.*, 151(2004): 17-22.

JORDE, L. B; CAREY, J. C; BAMSHAD, M. J. *Genética Médica*. 4 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2010.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. *Biologia celular e molecular*. 7 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2000.

JUSTICE, R. W. *et al.* The *Drosophila* tumor suppressor gene warts encodes a homolog of human myotonic dystrophy kinase and is required for the control of cell shape and proliferation. *Genes & Development*, 9(1995): 534-546.

LAURENCE, B. J.; GRIMISON, B.; GONENNE, A. Effect of Recombinant Human Growth Hormone on Acute and Chronic Human Immunodeficiency Virus Infection In Vitro. *Blood*, 79(2): 467-472, 1992.

LUCY, M. C. Regulation of follicular growth by somatotropin and insulin-like growth factors in cattle. *Journal Dairy Science*, Savoy, 83(2000): 1635-1647.

MAGALHÃES, D. M. *et al.* Hormônio do crescimento (GH) e fator de crescimento semelhante à insulina-I (IGF-I): importantes reguladores das foliculogêneses *in vivo* e *in vitro*. *Rev. Bras. Reprod. Anim.*, 36(1): 32-38, 2012.

MAREEL, M.; LEROY, A. Clinical, cellular, and molecular aspects of cancer invasion. *Physiol. Rev.*, 83(2003): 337-376.

MARQUES, P. A. F. *et al.* Inovulação de embriões bovinos recém-colhidos em receptoras tratadas com rBST no dia do estro. *Revista Bras. Zootec.*, 38(3): 462-466, 2009.

MCGUIRE, M. A. *et al.* Insulin-Like growth factors and binding proteins in ruminants and their nutritional regulation. *J. Anim.Sci.*, 70(1992): 2901-2910.

MEUTEN, D. J. *Tumors in domestic animals*. 4 ed. Iowa State: Univ. California, 2002.

MOREIRA, P. S. A. *et al.* Somatotropina bovina recombinante (rBST) no desempenho e características corporais de bezerros mestiços alimentados em creep-feeding. *Acta Scientiarum*, 24(4): 1093-1097, 2002a.

MOREIRA, F. *et al.* Bovine somatotropin increases embryonic development in superovulated cows and improves post-transfer pregnancy rates when given to lactating recipient cows. *Theriogenology*, 57 (2002b): 1371-1387.

MOULTON, J. E. *Tumors in Domestic Animals*. 4 ed. Ames: Iowa State Press, 2002.

NASCIMENTO, W. G. *et al.* Somatotropina bovina recombinante (rbst) sobre o desempenho e a digestibilidade aparente de novilhas (½ Nelore x ½ Red Angus) em confinamento. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 32(2): 456-464, 2003.

NAGANO, A. Y. *et al.* A somatotropina bovina recombinante (rbST) na superovulação de fêmeas bovinas. *Archives of Veterinary Science*, 9(2): 101-106, 2004.

NISHIYAMA, Y. *et al.* A human homolog of *Drosophila* warts supressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. *Febs Letters*, 459 (1999): 159-165.

OKADA, H.; MAK, T. W. Pathways of apoptotic and nonapoptotic death in tumour cells. *Nat Rev Cancer.*, 4(2004): 592-603.

PERATONI, A. O. "Carcinogenesis", in: McKINNEL, R. G. *et al.* (ed.). *The biological basis of cancer*. Cambridge: Cambridge University, 1998, pp. 75-114.

PEREIRA, G. S. *et al.* Relatório I: Observação de indivíduos de *Drosophila melanogaster*. Porto: Escola Secundária Garcia de Orta – Área de Projecto 07/08, 2008. 15 p. Disponível em: <http://www.mokidros.ibmc.up.pt/materiais_grupo_garcia/Relatorio_1_Observacao_de_individuos.pdf> Acessado em: 04 de mar, 2017.

POTTER, C. J.; TURENCHALK, G. S.; XU, T. *Drosophila* in cancer research, an expanding role. *Trends in Genetics*, 16(2000): 33-39.

RODRIGUES, M. *Impacto da utilização da somatotropina bovina (bST) sobre a produção de leite e a avaliação genética de bovinos da raça Holandesa*. 2008. 80 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Ciências Biológicas, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, 2008a.

RODRIGUES, E. *et al.* Características físicas e químicas da carne de novilhas de diferentes grupos genéticos no modelo biológico superprecoce. *Revista Brasileira Saúde Produção Animal*, 9(3): 594-604, 2008b.

ROSENFELD, R. G.; COHEN, P. "Disorders of growth hormone/insulinlike growth factor secretion and action", in: SPERLING, M. A. *Pediatric endocrinology*. 2 ed. Philadelphia: Saunders, 2002, pp. 211-288.

SANTOS, R. A. Efeito de diferentes doses de somatotropina bovina (bST) na produção e composição do leite. *Ciência e Agrotecnologia*, 25(6): 1435-1445, 2001.

SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNADI, M. M. *Farmacologia Aplicada à Medicina Veterinária*. 4. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

ULANET, D. B. *et al.* Insulin receptor functionally enhances multistage tumor progression and conveys intrinsic resistance to IGF-1R targeted therapy. *Proc Natl Acad Sci*, 107(24): 10791-8, 2010.

VASCONCELOS, M. A. *et al.* Assessment of the carcinogenic potential of high intense sweeteners through the test for detection of epithelial tumor clones (warts) in *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, 101 (2017): 1-7.

WAGNER, K. *et al.* Polymorphism in the growth hormone receptor: a case-control study in breast cancer. *Int J Cancer*., 118(11): 2903-2906, 2006.

YAKAR, S.; LEROITH, D.; BRODT, P. The Role of Growth Hormone/Insu-Line-Like Growth Factor Axis in Tumor Growth and Progression: Lessons From Animal Models. *Cytokine Growth Factor Rev.*, 16(2005): 407-20.