

A SOBREVIDA DE RATOS COM TUMOR DE WALKER

Fausto Ivan Pinheiro VILLAS-BÔAS*
Magda Helena MONICO**
Lúcia Massako TAKEHARA**
Antonio Carlos CORTEZ MAURO**

RESUMO: Quarenta e quatro ratos foram injetados com uma suspensão de células neoplásicas por via intramuscular na coxa e observou-se o crescimento neoplásico até a morte dos animais, sem qualquer tipo de tratamento ou dieta específica. Praticou-se necrópsia em todo o lote para exames histopatológicos. Os resultados obtidos foram calculados pela "mediana". O índice de "pega" obtido foi de 95,65% e sobrevida média de 19 dias.

UNITERMOS: Tumor de Walker; sobrevida.

INTRODUÇÃO

O tumor de Walker é uma neoplasia maligna observada, em 1928, na região da glândula mamária de ratas albinas prenhes⁹. Ele vem sendo largamente utilizado na investigação experimental de neoplasias, principalmente por ser excelente modelo de tumor transplantável com alta reproducibilidade, por transplante de células neoplásicas pelas vias intramuscular, intraperitoneal e intrapleural, em ratos albinos adultos^{1,2,3,4}.

Através de passagens sucessivas em animais de laboratório, foi reconhecido serem três as variantes histopatológicas do tumor de Walker, conforme o local de implantação: carcinoma, carcinosarcoma e sarcoma⁹. O tumor apresenta crescimento local e progressivo em 100% dos ratos transplantados. Autores^{6,7,8} que avaliaram níveis de respostas imunitárias durante a evolução do tumor, em ratos transplantados com as formas ascítica e muscular do carcinosarcoma 256 de Walker, não constataram, em nenhum dos animais portadores de tumor, a presença de anticorpos circulantes, pela reação de imunodifusão dupla. Essas diferentes fontes em animais sensibilizados com derivados hematóporfirínicos injetados intraperitonealmente aceleram ou retardam o óbito dos ratos portadores do tumor.

O objetivo deste trabalho é a reprodução experimental de tumor de Walker por transplante de suspensão contendo células neoplásicas e observar a sobrevida de ratos, isto é, quanto tempo os ratos resistem sem qualquer espécie de tratamento, já que nenhum trabalho publicado faz referências sobre a sobrevida de ratos com tumor de Walker. A observação da sobrevida serve de parâmetro para analisar se um determinado medicamento ou droga está fazendo efeito acelerador ou retardador da morte, ou se está curando o animal.

* Departamento de Ciências Fisiológicas – Disciplina de Fisiologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12200 – São José dos Campos – SP.

** Acadêmicos do 4º ano do Curso de Odontologia – Faculdade de Odontologia – UNESP – 12200 – São José dos Campos – SP.

MATERIAL E MÉTODOS

Material biológico: Foram utilizados 46 ratos machos, adultos, albinos, da linhagem Wistar, com peso médio 258 ± 52 g, para transplante da forma muscular do carcinossarcoma 256 de Walker. O tumor originário da linhagem Christ Hospital Line, National Cancer, Institute Bank, foi mantido por transplantas sucessivos em ratos Wistar no laboratório de Patologia da Faculdade de Medicina de Botucatu. Ratos portadores de tumor de Walker foram cedidos para reprodução experimental no Biotério da Faculdade de Odontologia de São José dos Campos.

Material cirúrgico, reagentes e aparelhos: Luva cirúrgica esterilizada, balança analítica (marca Sauter), instrumental para pequena cirurgia, graal pequeno e pistilo esterilizados, soro fisiológico esterilizado (0,9% de NaCl), gaze esterilizada, azul de metileno, lâmina de microscópio, gaiolas, microscópio óptico.

Obtenção da suspensão neoplásica: Os animais portadores foram sacrificados através de anestesia com éter. Fragmentos do tumor foram extraídos da coxa do rato, pesados e imersos em soro fisiológico (1g/10ml). Procedia-se, a seguir, à maceração do fragmento em graal e à filtração em gaze, conforme técnica descrita por IWAMA *et alii*⁵, mas por nós modificada. O filtrado obtido foi utilizado como suspensão neoplásica.

Para evidenciação das células nas suspensões neoplásicas foram preparadas lâminas por esfregação e coradas com azul de metileno.

Transplante do tumor de Walker: Os animais receptores eram triados, pesados, examinados e injetados com 1ml de suspensão neoplásica na pata posterior, via intramuscular, utilizando-se para isso uma seringa tipo "Luer". Todas as etapas do transplante foram realizadas com material esterilizado para evitar a contaminação da suspensão neoplásica e infecções secundárias do animal receptor.

Os animais foram mantidos numa mesma gaiola e alimentados "ad libitum", procedendo-se diariamente à pesagem e à observação do comportamento, funções digestivas e aspectos do crescimento tumoral. Após a morte foram realizadas necrópsias em todos os ratos. Fragmentos de fígado, pulmão e rim foram encaminhados para exames histopatológicos, visando a confirmação da suspeição metastásica.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Histopatológico: O exame macroscópico dos órgãos removidos nas necrópsias, após a morte natural dos animais que receberam transplante tumoral, já evidenciava, muitas vezes, uma disseminação neoplásica pela identificação de áreas ou nódulos consistentes à palpação e sugerindo metástase. Áreas hemorrágicas difusas ou em pontos também foram identificadas.

O exame microscópico desse material mostrou, em todos os casos examinados, a existência de metástase e, em muitos deles, a presença de êmbolos tumorais indicativos de que o mecanismo da disseminação metastásica foi vascular, principalmente venoso.

Em muitos casos foi evidente a hemorragia e o edema dos pulmões bem como a existência de áreas de necrose, principalmente nos nódulos cuja estrutura foi sempre substituída pela neoplasia.

Aspectos do crescimento tumoral: A observação da evolução do tumor no animal evidenciou que por volta do 7º dia o tumor já se encontrava bastante desenvolvido e alguns ratos já apresentavam ulcerações na superfície da pata, isto provavelmente por instalação de isquemia devido ao aumento do volume do tumor. Quarenta e um ratos, ao morrerem, apresentavam ulcerações na pata com tumor.

Comportamento: Percebeu-se um nítido paralelismo entre a evolução macroscópica do volume da formação tumoral na coxa do rato transplantado e uma progressão no apatismo, na falta de apetite, no arrepiamento dos pelos e na falta de agressividade peculiar a estes animais. Observou-se ainda que os ratos apáticos atacavam e devoravam as porções tumorais daqueles mortos ou mesmo vivos, porém, inertes. O interessante é que devoravam as partes moles dos tumores, conservando suas partes ósseas.

Sobrevida dos ratos após transplante do tumor de Walker: Em quarenta e cinco ratos injetados com suspensão neoplásica observamos sobrevida mínima de 14 dias em 5 animais, 25% das mortes ocorreram entre o 14º dia e 15º dia; 50% entre o 14º dia e 19º dia; 75% entre o 14º e 20º dias. Apenas 25% dos animais sobreviveram após o 20º dia (Tabela 1).

TABELA 1 – Sobrevida de ratos após transplante do tumor de Walker

Sobrevida (dias) (xi)	Frequência (fi)	Xifi
14	5	70
15	7	105
16	2	32
17	2	34
18	6	108
19	6	114
20	4	80
21	3	63
22	2	44
23	2	46
24	1	24
26	1	26
27	1	27
28	1	28
36	1	36
	44	837

Média (\bar{x}) = 19,02 \cong 19 dias

Q₁ (25%) = 15 dias

Q₂ (50%) = Mediana = 18,5 \cong 19 dias

Q₃ (75%) = 20 dias

Q₄ (100%) = 36 dias

Exames necroscópicos: Os exames necroscópicos de todos os ratos revelaram, macroscopicamente, a presença de linfonodo inguinal homolateral ao tumor comprometido, e em 23 ratos, linfonodo inguinal contralateral. Raramente foram encontrados linfonodos axilares comprometidos (11 ratos): em 8 ratos somente o homolateral; em 2 ratos, os contralaterais, e em 1 rato, ambos os lados axilares tiveram comprometimento dos linfonodos.

CONCLUSÕES

1. Em ratos machos, adultos, albinos da linhagem Wistar, o índice de "pega" para a forma muscular do tumor de Walker é de 95,65%.
2. A sobrevida média e mediana é de 19 dias.
3. A causa da morte dos animais pode ser atribuída a metástase tumoral generalizada, em muitos casos coincidente com processos hemorrágicos pulmonares (edema agudo) e hepáticos.

VILLAS-BÔAS, F.I.P. *et alii* – Survival in rats with Tumor of Walker. **Rev. Odont. UNESP**, São Paulo, 17(1/2): 165-168, 1988.

ABSTRACT: Forty-four rats were injected with an intramuscular neoplastic cell suspension in the right thigh and a neoplastic growth was observed until death of the animal without any kind of treatment or specific diet. Necropsy was performed in the whole lot for histopathological examinations. The results obtained were calculated by "average". The rate of "catch" obtained was 95.65% and the average of surviving was 19 days.

KEY-WORDS: Tumor of Walker, survival.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. CALDAROLA, L.; DEI POLI, H.; DEI POLI, M. & BIGLIANI, S. – Sullo sviluppo del tumore di Walker nella cute e nel tessuto sotto-cutaneo del ratto. Nota I. *Min. Chir.*, 23: 51-5, 1968.
2. CALDAROLA, L.; DEI POLI, H.; DEI POLI, M. & BIGLIANI, S. – Inoculazione di sospensioni di cellule del tumore di Walker nelle cavità cardiaca, pleurica e peritoneale del ratto. Nota II. *Min. Chir.*, 23: 56-9, 1968.
3. CALDAROLA, L.; DEI POLI, H.; DEI POLI, M. & BIGLIANI, S. – Inoculazione di cellule del tumore di Walker nei vasi sanguiferi del ratto. Nota IV. *Min. Chir.*, 23: 63-73, 1968.
4. CALDAROLA, L.; DEI POLI, H.; DEI POLI, M. & BIGLIANI, S. – Sul tumore de Walker: trapiantabilità e metastasi. Nota riassuntiva. *Min. Chir.*, 23: 74-7, 1968.
5. IWAMA, M. C. F.; FRANCO, M. F. & LEMÔNICA, L. – Tumor de Walker. Um bom modelo experimental para o ensino das neoplasias. *Ciênc. Cult.*, 23: 267-71, 1970.
6. IWAMA, M. C. F.; FRANCO, M. F. & BASSO, N. A. – Histopatologia dos nódulos linfáticos regionais e distantes de ratos transplantados com tumor de Walker. *Ciênc. Cult.*, 26: 175-9, 1974.
7. MELTZER, M. S.; OPPENHEIM, J. S.; LITTMAN, B. H.; LEONARD, E. B. & RAPP, H. J. – Cell-mediated tumor immunity measured in vitro and in vivo with soluble tumor specific antigen. *J. nat. Cancer Inst.*, 49: 727-34, 1972.
8. MOTA, N. G. S. e REZKALALLAH-IWASSO, M. T. – Contribuição ao estudo da imunidade tumoral e celular em ratos com carcinossarcoma 256 de Walker. *Rev. Ciênc. bioméd.*, 2: 55-60, 1981.
9. STEWART, H. L.; SNELL, K. C.; DUNHAM, L. J. & SCHLYEN, S. M. – Walker carcinossarcoma 256. Rat in transplantable and transmissible tumors of animals. *Atlas of Tumor Pathology*. Washington Armed Forces. Institute of Pathology. Section XII (40): 261-71, 1956.

Recebido para publicação em 19.09.86