

## PADRONIZAÇÃO DA TÉCNICA DA PCR EM TEMPO REAL (RT-qPCR) PARA ESTABELEÇER UM MODELO EXPERIMENTAL QUE AVALIE O POTENCIAL CARCINOGENÉTICO DO 7, 12 – DIMETILBEZANTRACENO (DMBA)

João Paulo Salvaterra Pasquini (PIBITI/Fundação Araucária/Universidade Estadual de Maringá); Maria Carolina do Valle; Bruna Sydor; Tânia Cristina Alexandrino Becker; Alice Maria de Souza Kaneshima; Edilson Nobuyoshi Kaneshima (Orientador),  
enkaneshima@uem.br.

Universidade Estadual de Maringá/Departamento de Medicina da UEM.

4.01.00.00-6 Medicina, 4.01.05.00-8 Anatomia Patológica e Patologia Clínica.

Palavras Chave: DMBA, RT-qPCR, câncer de mama

### Introdução

O 7, 12 – dimetilbezantraceno (DMBA) é um composto com potencial carcinogênico muito utilizado em experimentos que envolvem a carcinogênese mamária. A técnica da PCR em tempo real (RT-qPCR) é uma ferramenta inovadora na análise da expressão gênica. Desta forma, neste projeto foi proposto o estabelecimento de um modelo experimental, utilizando a RT-qPCR para avaliar a expressão de genes que estejam relacionados com o potencial carcinogênico do DMBA e o desenvolvimento de câncer mamário em ratas Wistar.

### Problema

A Resolução RE nº 90/04 (BRASIL, 2004) para estudo pré-clínico prevê a realização de ensaios para toxicidades aguda, subaguda e crônica, além da determinação da carcinogenicidade e mutagenicidade de produtos de origem vegetal, por meio do teste de Ames e do micronúcleo. Estes dois testes determinam somente a ocorrência de alterações a nível cromossômico, apresentando uma possibilidade ou um risco para o desenvolvimento do processo carcinogênico. Deve ser salientado que este processo só ocorrerá no caso da alteração cromossômica comprometer e/ou alterar os genes relacionados com o processo da carcinogênese. Com o estabelecimento do modelo experimental proposto foi possível estudar a expressão de genes relacionados com o câncer de mama em ratas Wistar.

### Solução e Benefícios

Tabela 1. Expressão do gene *HPRT1* em ratas Wistar animais pela técnica da RT-qPCR. Média e desvio-padrão dos valores de CT obtidos de amostras de tecido mamário de nove animais do grupo controle negativo

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

Os resultados obtidos demonstram que a expressão do gene *HPRT1* nos animais do grupo controle negativo mostra-se homogênea. E os resultados preliminares da expressão gênica do grupo tratado com o DMBA demonstraram diferenças significativas nos perfis de expressão gênica entre os animais pertencentes aos dois grupos analisados.

### Potencial de Mercado e Diferencial Competitivo

O estabelecimento deste modelo experimental representa um avanço tecnológico na determinação da carcinogenicidade de substâncias químicas, uma vez que a utilização da técnica da RT-qPCR contribuiu para a determinação da expressão gênica de genes relacionados com a carcinogênese, abrindo a possibilidade para o estabelecimento de critérios de segurança para o uso de substâncias biologicamente ativas sejam de origem vegetal ou não.

### Considerações Finais

A técnica da RT-qPCR mostrou ser específica e com alta sensibilidade na determinação da expressão de genes relacionados com o desenvolvimento de câncer mamário, podendo ser aplicada à empresas ou instituições de ensino e/ou pesquisa que tenham a intenção de registrar seus produtos atendendo às normativas e legislação vigentes.

### Estágio de Desenvolvimento da Tecnologia

(X) Laboratório ( ) Mercado  
( ) Scale-up (mudança de escala) ( ) Protótipo

### Agradecimentos

À Fundação Araucária pela bolsa concedida  
À Universidade Estadual de Maringá/DBS/DMD pela infra estrutura e equipamentos  
Ao Laboratório de Patologia Geral pelos materiais e reagentes necessários para o desenvolvimento do projeto.

### Contato Institucional

Universidade Estadual de Maringá  
Núcleo de Inovação Tecnológica  
[www.nit.uem.br](http://www.nit.uem.br)  
(44)3011-3861