

“AÇÃO DA CIMETIDINA NA SOBREVIDA DE CAMUNDONGOS INOCULADOS COM TUMOR DE EHRLICH” *

“Effect of cimetidine in the survival of mice inoculated with Ehrlich’s tumor”

FEDER, David **
ZYNGIER, Szulim B. ***
DZIK, Artur ****
REIS, Eunice C. ****
REIS, Gema C. ****
KRYBUS, Jenny *****
SCARPINELLA BUENO, Marco A. *****
COLLA MOREIRA, Ronaldo de *****

RESUMO: Os autores estudaram o efeito da cimetidina na sobrevivência de camundongos inoculados com o tumor de Ehrlich e concluíram que a droga aumenta a sobrevivência desses animais, sugerindo ainda uma ação imunomoduladora dessa substância.

UNITERMOS: tumor de Ehrlich*; sobrevivência; cimetidina*.

I. INTRODUÇÃO

A cimetidina é um bloqueador histamínico H₂ utilizado em doenças digestivas como a úlcera péptica, gastrite e esofagite (22).

A partir de 1978, vários autores têm relatado ação da cimetidina aumentando a imunidade celular “in vitro” (4, 10, 11, 20), em animais (7) e no homem (1, 3, 15, 16, 17, 24). A cimetidina também demonstrou aumentar a síntese de anticorpos (4). Outros autores (8, 14), no entanto, não observaram alterações significativas na imunidade celular com o uso da cimetidina.

A cimetidina atua aumentando a atividade dos linfócitos “T” citotóxicos e inibindo os linfócitos “T” supressores (1, 7, 15, 16, 20). A resposta imunológica celular e humoral em pacientes com câncer é deficiente em parte por uma função excessiva dos linfócitos “T” supressores (10). Portanto, drogas que inibem a função dos linfócitos “T” supressores teriam indicações na imunoterapia do câncer.

Gifford e cols. (13) mostraram uma maior sobrevivência de camundongos inoculados com linfoma EL-4 quando tratados com cimetidina. Barna et al. (5) estudando os camundongos inoculados com fibrocarcinoma e tratados com cimetidina encontraram maior desenvolvimento do tumor e maior número de metástases.

Apesar dos resultados experimentais contraditórios, efeitos benéficos com a droga têm sido observados em clínica em pacientes portadores de melanoma (9, 25), micose fungóide (18) e câncer de pulmão (2).

Procurando obter novos subsídios sobre a ação da cimetidina no desenvolvimento de tumores propusemos este estudo em camundongos inoculados com tumores de Ehrlich. Esse tumor foi obtido a partir do carcinoma espontâneo de mama de camundongos. Nos sucessivos transplantes em mais de oito décadas a neoplasia perdeu a morfologia de adenocarcinoma, sendo atualmente anátomo-patologicamente classificado como tumor indiferenciado (26).

II. MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado usando-se camundongos machos e fêmeas, raça suíça, pesando entre 20 e 30 gramas.

O tumor de Ehrlich foi mantido por transplantes na forma ascítica. Para a experiência o líquido peritoneal foi retirado asépticamente. Uma alíquota foi corada pelo líquido de Turk e o número de células/ml determinado por leitura na câmara de Neubauer. Preparou-se uma diluição com solução fisiológica que contivesse 500.000 células/0,1 ml.

Utilizamos dois grupos de 25 camundongos inoculados com tumor de Ehrlich por via peritoneal com 0,1 ml de diluição (500.000 células). Ao primeiro grupo aplicou-se 0,1 ml de solução fisiológica por via intra-muscular (IM) 3 vezes por semana. O segundo grupo recebeu 100 mg/kg de peso de cimetidina por via IM 3 vezes por semana. A dose foi escolhida após experiência nas quais se constatou que esse regime de aplicação a camundongos hígidos durante 25 dias ensejava uma proporção de mortos igual à de um de camundongos que recebia solução fisiológica.

Os animais foram observados diariamente por 25 dias, sendo anotado o número de animais mortos em cada dia. A proporção de mortos em cada grupo foi analisada pela tábua de sobrevivência (6) e pelo teste de Kohmogorov-Smirnov por duas amostras independentes (23). O nível de significância considerado foi $P \leq 0,05$.

III. RESULTADOS

A tabela 1 apresenta a evolução da proporcionalidade de mortos no grupo controle (tratado com solução fisiológica) e no grupo tratado com cimetidina. O teste de Kohmogorov-Smirnov para duas amostras revela diferença significativa entre os dois grupos.

A tabela 2 mostra a tábua de sobrevivência dos camundongos do grupo controle e do grupo cimetidina. Nota-se

* Trabalho realizado na Disciplina de Farmacologia da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.

** Professor Auxiliar de Ensino da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.

*** Professor Titular da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.
**** Médicos formados pela Faculdade de Medicina da Fundação ABC.
***** Acadêmicos da Faculdade de Medicina da Fundação ABC.

TABELA I

Proporção de mortos nos grupos inoculados com tumor de Ehrlich e tratados respectivamente com solução fisiológica e cimetidina. Os grupos foram comparados pelo teste de Kohmogorov-Smirnov.

| Dias | SORO FISIOLÓGICO | | | CIMETIDINA | | | Kohmogorov-Smirnov bicaudal para pequena amostra |
|------|----------------------------|----------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------|---------------------------|--|
| | N.º de animais vivos | Óbitos acumulados | Proporção de óbitos | N.º de animais vivos | Óbitos acumulados | Proporção de óbitos | |
| 12 | 25 | 0 | 0/25 | 25 | 0 | 0/25 | |
| 13 | 25 | 1 | 1/25 | 25 | 0 | 0/25 | |
| 14 | 24 | 2 | 2/25 | 25 | 0 | 0/25 | |
| 15 | 23 | 4 | 4/25 | 25 | 0 | 0/25 | |
| 16 | 21 | 4 | 4/25 | 25 | 0 | 0/25 | |
| 17 | 21 | 4 | 4/25 | 25 | 0 | 0/25 | |
| 18 | 21 | 5 | 5/25 | 25 | 2 | 2/25 | |
| 19 | 20 | 5 | 5/25 | 23 | 2 | 2/25 | |
| 20 | 20 | 5 | 5/25 | 23 | 2 | 2/25 | |
| 21 | 20 | 12 | 12/25 | 23 | 5 | 5/25 | |
| 22 | 13 | 16 | 16/25 | 20 | 7 | 7/25 | D = 9 P < 0,05 |
| 23 | 9 | 19 | 19/25 | 18 | 10 | 10/25 | |
| 24 | 6 | 21 | 21/25 | 15 | 14 | 14/25 | |
| 25 | 4 | 21 | 21/25 | 11 | 15 | 15/25 | |

TABELA II

Tábua de sobrevida dos camundongos do grupo controle e do grupo cimetidina.

| Dias | SORO FISIOLÓGICO | | | | | CIMETIDINA | | | | |
|------|----------------------------|------------------|-----------------------|------------------------------|-------------------------------|----------------------------|------------------|--------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| | N.º de camun- dongos | N.º de óbitos | Probabil. de óbito | Probabil. de sobrevida | Sobrevida até o período | N.º de camun- dongos | N.º de óbitos | Probabil. de óbito | Probabil. de sobrevida | Sobrevida até o período |
| 12 | 25 | 0 | 0,000 | 1,000 | 1,000 | 25 | 0 | 0,000 | 1,000 | 1,000 |
| 13 | 25 | 1 | 0,040 | 0,960 | 1,000 | 25 | 0 | 0,000 | 1,000 | 1,000 |
| 14 | 24 | 1 | 0,041 | 0,958 | 0,960 | 25 | 0 | 0,000 | 1,000 | 1,000 |
| 15 | 23 | 2 | 0,086 | 0,913 | 0,920 | 25 | 0 | 0,000 | 1,000 | 1,000 |
| 16 | 21 | 0 | 0,000 | 1,000 | 0,840 | 25 | 0 | 0,000 | 1,000 | 1,000 |
| 17 | 21 | 0 | 0,000 | 1,000 | 0,840 | 25 | 0 | 0,000 | 1,000 | 1,000 |
| 18 | 21 | 1 | 0,047 | 0,952 | 0,840 | 25 | 2 | 0,080 | 0,920 | 1,000 |
| 19 | 20 | 0 | 0,000 | 1,000 | 0,800 | 23 | 0 | 0,000 | 1,000 | 0,920 |
| 20 | 20 | 0 | 0,000 | 1,000 | 0,800 | 23 | 0 | 0,000 | 1,000 | 0,920 |
| 21 | 20 | 7 | 0,350 | 0,650 | 0,800 | 23 | 3 | ,130 | 0,869 | 0,920 |
| 22 | 13 | 4 | 0,307 | 0,692 | 0,520 | 20 | 2 | 0,100 | 0,900 | 0,800 |
| 23 | 9 | 3 | 0,333 | 0,666 | 0,360 | 18 | 3 | 0,166 | 0,833 | 0,720 |
| 24 | 6 | 2 | 0,333 | 0,666 | 0,240 | 15 | 4 | 0,266 | 0,733 | 0,600 |
| 25 | 4 | 0 | 0,000 | 1,000 | 0,160 | 14 | 1 | 0,900 | 0,909 | 0,440 |

que no dia assinalado como o de maior diferença entre os grupos a sobrevida dos animais do grupo cimetidina era de 80% e do grupo controle era de 52%.

Pode-se observar então que o tratamento com cimetidina retarda o óbito entre os camundongos portadores de tumor de Ehrlich.

IV. DISCUSSÃO

A histamina exerce inúmeros efeitos na imunidade: inibe a proliferação de linfócitos induzida por antígenos e mitógenos, inibe a produção de anticorpos e linfocinas, inibe as ações dos linfócitos "T" citotóxicos e estimula as ações dos linfócitos "T" supressores (7, 11, 19, 21, 28). Essas ações são mediadas por receptores H2 nos linfócitos (27, 28). O bloqueio desses receptores por drogas como a cimetidina antagoniza os efeitos da histamina. A cimetidina aumenta a proliferação de linfócitos induzida por antígenos e mitógenos (10), estimula a síntese de anticorpos (4), aumenta as ações dos linfócitos "T" citotóxicos e inibe as ações dos linfócitos "T" supressores (1, 7, 15, 16, 20) e aumenta a produção de interleucina 2 (12).

Essas ações imunofarmacológicas da cimetidina poderiam ter efeito benéfico no tratamento de neoplasias.

Os trabalhos demonstram resultados contraditórios com o uso da cimetidina em animais inoculados com tumores experimentais (5, 13). Em pacientes humanos com neoplasias (2, 9, 18), o uso da cimetidina foi empírico, sem acompanhamento clínico, imunológico ou anátomo-patológico, não havendo crédito nestas publicações ou ainda indicação para o uso nesta patologia.

Estudos mais recentes (25) feitos com grupo controle com número reduzido de pacientes, tem demonstrado que o uso da cimetidina melhora os resultados obtidos com o interferon na terapêutica do melanoma maligno disseminado.

Em nosso estudo, a cimetidina prolongou (com significância estatística) a sobrevida de camundongos inoculados com tumor de Ehrlich. Esse resultado reforça a possibilidade de uma ação imunomoduladora da cimetidina.

V. CONCLUSÕES

A cimetidina prolonga a sobrevida de camundongos inoculados com tumor de Ehrlich.

SUMMARY: The authors have studied the influence of cimetidine on the survival of mice inoculated with Ehrlich's tumor and concluded that cimetidine increases the survival of these animals and suggesting an immunomodulation action of this substance.

KEYWORDS: Ehrlich's tumor*; survival; cimetidine*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ALLEN, J.L.; SKYPOULOS, H.J.; GRANT, B.; EAGON, C. & KAY, N.E. Cimetidine modulates natural killer cells function of patients with chronic lymphocytic leukemia. *J. Lab. Clin. Med.*, 109:396-401, 1987.

2. ARMITAGE, J.O.; SIDNER, R.D. Antitumor effect of cimetidine? *Lancet*, 1:862-3, 1979.

3. ANELLA, J.; MADSEN, J.E.; BINDER, H.J. & ASKENASE, P.W. Effect of histamine H2 receptor antagonists on delayed hypersensitivity. *Lancet*, 1:624-6, 1978.

4. BADGER, A. M.; BROWN, A.E. & POSTE, G. The effect of cimetidine on antibody synthesis in vitro and in vivo. *Immunology*, 48:151-5, 1983.

5. BARNA, B.P.; HAINES, R.; EDINGER, M. & CHIANG, T. Tumor enhancing effect of cimetidine. *Oncology*, 40:43-5, 1983.

6. BRADFOR-HILL, A. Principles of medical statistics. 9 ed. London, Lancet, 1971.

7. ERSHLER, W.B.; HACKER, M.P.; BURROUGHS, B.J.; MOORE, A.L. & MYERS, C.F. In vivo augmentation of nonspecific and specific immune response. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 26:10-7, 1983.

8. FESTEN, H.P.N.; PAWN, B.E.; SMEULDERS, J. & WAGENER, V. Cimetidine does not influence immunological parameter in man. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 21:33-8:1981.

9. FLOGGREN, P.; BORGSTROM, S.; JONSSON, P.E.; LINDSTROM, C. & SJOGREN, H.O. Metastatic malignant melanoma: regression induced by combined treatment with interferon and cimetidine. *Int. J. Cancer*, 32:657-65, 1983.

10. GIFFORD, R.R.M.; HATFIELD, S.M. & SCHMIDTKE, J.R. Cimetidine induced augmentation of human lymphocyte blastogenesis by mitogen bacterial antigen and alloantigen. *Transplantation*, 26:143-8, 1980.

11. GIFFORD, R.R.M.; HATFIELD, S.M. & SCHMIDTKE, J.R. Cimetidine induced augmentation of human lymphocyte blastogenesis: comparison with levamisole in mitogen stimulation. *Surg. Forum*, 30:113-5, 1979.

12. GIFFORD, R.R.M.; TILBERG, A.F. Histamine type-2 receptor antagonist immunomodulation II. Cimetidine and ranitidine increase interleukin-2 production. *Surgery*, 103:242-7, 1987.

13. GIFFORD, R.R.M.; VOSS, V.B. & FERGUSON, R.M. Cimetidine protection against lethal tumor challenge in mice. *Surgery*, 90:344-51, 1981.

14. GIGI, M.R.; AKRIVADIS, E.; AGORASTOS, I. & GOULIS, G. Peripheral blood "T" lymphocytes in patients with duodenal ulcers treated with cimetidine. *Clin. Exp. Immunol.*, 48:186-8, 1982.

15. JORIZZO, J.L.; SAMS, W.M.; JEGASOTHY, B.V. & OLANSKY, A.J. Cimetidine as an immunomodulation: chronic mucocutaneous candidiasis as a model. *Ann. Intern. Med.*, 92:192-5, 1980.

16. KIKUCHI, Y.; OOMORI, K.; KIZAWA, I. & SATO, K. Augmented natural killer activity in ovarian cancer patients treated with cimetidine. *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, 22:1037-43, 1986.

17. LIPSEMEYER, E.A. Effect of cimetidine on delayed hypersensitivity. *Clin. Immunol. Immunopathol.*, 16:166-72, 1980.

18. MAMUS, S.W.; MLADENOVIC, J.; HORDINSKY, M.K.; DAHL, M.V. & KAY, N.E. Cimetidine induced remission of mycosis fungoides. *Lancet*, 2:409, 1984.

19. MERETY, K.; ROOM, G.; MAINI, R.N. Effect of histamine on the mitogenic response of human lymphocyte and its modification by cimetidine and levamisole. *Agents and Actions*, 11:84-8, 1981.

20. OSBAND, M.E.; HAMILTON, D.; SHEN, Y.J.; COHEN, E.; SHLESINGER, M.; LAVIN, P.; BROWN, A. & McCAFFREY, R. Successful tumor immunotherapy with cimetidine in mice. *Lancet*, 1:636-9, 1981.

21. ROCKLIN, R.E. Histamine induced suppressor factor (HSF): effect on migration inhibitory factor (MIF) production and proliferation. *J. Immunol.*, 118:1734-8, 1977.

22. SAMPAIO, B.C. et al. Cimetidine. *Arq. Med. ABC*, 2(1):17-9, 1979.

23. SIEGEL, S. Estatística não paramétrica. São Paulo, McGraw-Hill, 1977 p. 350.

24. SMITH, J.A.; MANSFIELD, L.E.; NELSON, H.S. The effect of cimetidine on the immediate cutaneous response to allergens. *Ann. Allergy*, 42:353-4, 1979.

25. STEINER, A.; WOLF, C.H.; FEHAMBERGER, H. Comparison of the effects of three different treatment regimens of recombinant interferons (r-IFN α , r-IFN γ and r-IFN α + cimetidine) in disseminated malignant melanoma. *Cancer Clin. Oncol.*, 113:459-65, 1987.

26. STEWART, H.L.; SNELL, K.C.; DUNHAM, L.S. & SCHEYEN, S.M. Transmissible and transplantable tumors in animals. In: *Atlas of Tumor Pathology*, Armed Forces Institute of Pathology, Washington, 1959.

27. VAN DIJK, H.; RAPIS, M.; JACOBSE-GEELS, H.E.L.; WILLERS, J.M.N. Histamine-2 receptor mediated immunomodulation in the mouse. *Clin. Exp. Immunol.*, 35:470-7, 1979.

28. WANG, S.R.; ZWEIMAN, B. Histamine suppression of human lymphocyte response to mitogens. *Cell Immunol.*, 36:28-36, 1978.

Endereço para correspondência:

"Ação da cimetidina na sobrevida de camundongos inoculados com Tumor de Ehrlich"

David Feder

R. dos Democráticos, 461, Ap. 24 — CEP 04305