

Perfil Hematológico e Bioquímico de Camundongos com Carcinoma de Ehrlich tratados com Cisplatina, Acupuntura e *Euphorbia tirucalli* L. (avelóz)

Hematological and Biochemical Profile of Mice with Ehrlich Carcinoma Treated with Cisplatin, Acupuncture and Euphorbia tirucalli L. (avelóz)

Mirella Bezerra de Melo Colaço Dias ^{a*}, Tamires Saches Santos do Nascimento ^b,
Eduardo Henrique da Silva Ramos ^b, Miriam Nogueira Teixeira ^a, Ivone Antônia de Souza ^b,
Melânia Loureiro Marinho ^d, Evilda Rodrigues de Lima ^a

^a Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE), ^b Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE),
^c Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada (PE), ^d Universidade Federal de Campina Grande, Campina Grande (PB)

Resumo: Contextualização: Na busca por procedimentos menos prejudiciais para auxiliar no tratamento de pacientes com câncer, os profissionais da saúde têm procurado diversas alternativas. **Objetivo:** Avaliou-se os perfis hematológico, renal e hepático de camundongos com carcinoma de Ehrlich tratados com a cisplatina, acupuntura e *Euphorbia tirucalli* L. **Métodos:** Foram utilizados 25 camundongos, fêmeas, aproximadamente com 60 dias de idade, com 25 e 35g de peso corpóreo e divididos em Grupo 1 – Controle negativo – 1ml de Soro Fisiológico 0,9%; Grupo 2 – Controle positivo – 2,5mg/kg de cisplatina; Grupo 3 – Pré-tratamento com acupuntura + 2mg/kg da *Euphorbia tirucalli* L.; Grupo 4 – Acupuntura; Grupo 5 – Acupuntura + 2mg/kg *Euphorbia tirucalli* L. Inoculou-se células do carcinoma de Ehrlich em todos os animais e durante 8 dias foi realizado os protocolos terapêuticos. No nono dia os camundongos foram pesados, eutanasiados por deslocamento cervical, necropsiados para avaliação histológica e o tumor extirpado. Os acupontos utilizados foram B10, VB30 e F3. **Resultados:** Houve diferenças significativas entre os resultados hematológicos dos Grupos. **Conclusão:** Conclui-se que a associação da acupuntura e *Euphorbia tirucalli* promoveu uma resposta imunológica, representada por alterações no perfil hematológico em camundongos com carcinoma de Ehrlich. Quanto aos perfis hepáticos e renais avaliados, a única diferença significativa foi na dosagem da creatinina no Grupo 3 que recebeu um pré-tratamento com acupuntura e a *Euphorbia tirucalli* L..

Palavras-chave: Acupuntura, Câncer, Adenocarcinoma, Roedor.

Abstract: *Background:* In the search for less harmful procedures to assist in the treatment of cancer patients, health professionals have been looking for several alternatives. *Objective:* To evaluate the hematologic, renal and hepatic profiles of mice with Ehrlich carcinoma, treated with cisplatin, acupuncture and *Euphorbia tirucalli* L. *Methodology:* A total of 25 female mice was used in the experiment. They were around 60 days old, weighting between 25 and 35 grams. They were divided into 5 groups: Group 1 – Negative control – 1ml of normal saline solution of 0.9%; Group 2 – Positive control – 2.5mg/kg of cisplatin; Group 3 – Pre-treatment with acupuncture: 2mg/kg of *Euphorbia tirucalli* L.; Group 4 – Acupuncture; Group 5 – Acupuncture + 2mg/kg of *Euphorbia tirucalli* L.. Ehrlich carcinoma cells were inoculated into all animals and the therapeutic protocols were performed for 8 days. At the ninth day the mice were weighed, euthanized by cervical displacement, and necropsied for histological evaluation and the tumor excised. The acupoints used were BL10, GB30 and LR3. *Results:* There were significant differences between the hematological results of the groups. *Conclusion:* It is concluded that the association of acupuncture and *Euphorbia tirucalli* L. promoted an immune response, represented by changes in the hematological profile in mice with Ehrlich carcinoma. Regarding the hepatic and renal profiles evaluated, the only significant difference was in the creatinine dosage in the group that received a pre-treatment with acupuncture and *Euphorbia tirucalli* L.

Keywords: Acupuncture, Cancer, Adenocarcinoma, Rodent.

1. Introdução

O Carcinoma de Ehrlich é um tumor de origem epitelial maligna, espécie-específica que corresponde ao adenocarcinoma mamário de fêmeas de camundongos e é utilizado como modelo experimental para diversos estudos contra o câncer. Na Medicina, constata-se que os tumores mamários, entre eles o adenocarcinoma mamário, são os mais frequentes na

espécie humana especificamente nas mulheres¹.

Os tratamentos dos cânceres, em sua grande maioria, é considerado como um dos problemas mais desafiadores para os profissionais da área da saúde. Depende de fatores que estão associados às condições clínica e psicológica do paciente, do tumor e ainda dos efeitos colaterais, no entanto experimentou grandes avanços nas últimas décadas, tanto pela descoberta de novas drogas como pelo uso combinado dos diferentes recursos terapêuticos disponíveis².

*Autor correspondente: mirella_colaco@yahoo.com.br

Dentre os medicamentos antineoplásicos, estão os que podem ser utilizados tanto para a terapêutica como para a prevenção do câncer. Nesta classe incluem-se os fitoterápicos dentre os quais algumas plantas, como a *Euphorbia tirucalli* L., demonstra efeitos antineoplásicos promissores, já que inibe a proliferação da proteína quinase C (PKC), o que resulta num efeito antiproliferativo e apoptótico em várias células cancerígenas, promove um efeito quimioprotetor, além da ação anti-inflamatória, antioxidante, hepatoprotetor e queratolítico^{3,4}.

Outra terapia que tem auxiliado pacientes com câncer é a acupuntura que pode agir na prevenção, no estado psicomotor e como tratamento de suporte estimulando a imunidade e melhorando a qualidade de vida já que atenua os efeitos colaterais causados pela quimioterapia^{5,6}.

Entre os exames utilizados para analisar o estado de saúde do paciente com câncer destaca-se o hemograma que permite estabelecer o prognóstico e adoção de terapêuticas adequadas e a bioquímica sérica que pode auxiliar, dentre outras coisas, na avaliação dos perfis hepático e renal⁷.

Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os perfis hematológico, renal e hepático de camundongos com carcinoma de Ehrlich tratados com a cisplatina, acupuntura e *Euphorbia tirucalli* L.

2. Material e Método

2.1. Local do experimento

Esta pesquisa foi desenvolvida no Biotério do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. O projeto de pesquisa foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Federal de Pernambuco, processo n° 23076.022599/ 2015-49.

2.2. Material botânico

O látex de *Euphorbia tirucalli* foi coletado no Jardim do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco nos meses de junho a agosto de 2015. A exsicata da espécie vegetal foi depositada no Herbário do Departamento de Botânica/CCB/UFPE com o n° 41.765. O látex depois de coletado foi imediatamente diluído com soro fisiológico 0,9% para a dose terapêutica de 2,0 mg/kg de acordo com Silva⁷ e administrado por via oral, uma vez por dia, durante a realização da pesquisa.

2.3. Animais

Foram utilizados 25 camundongos Albino suíço (*Mus musculus*), fêmea, aproximadamente 60 dias

de idade, com 25 e 35 g de peso corpóreo, provenientes do Biotério do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno, em temperatura de $22 \pm 2^\circ$ C, com alimentação adequada, água *ad libitum*, condições controladas de iluminação (ciclo claro/escuro de 12 horas cada) e pesagem diária (balança *Triple Beam Scale* 2610g, 700 800 Series).

Os 25 animais que constituíram o experimento foram divididos aleatoriamente em cinco Grupos contendo em cada Grupo cinco camundongos:

- Grupo 1: Controle negativo – 1ml de soro Fisiológico 0,9%.
- Grupo 2: Controle positivo – 2,5mg/kg de Cisplatina.
- Grupo 3: Pré-tratamento com acupuntura + 2mg/kg da *Euphorbia tirucalli*.
- Grupo 4: Acupuntura.
- Grupo 5: Acupuntura + 2mg/kg *Euphorbia tirucalli*.

Para o controle negativo utilizou-se a solução salina fisiológica sendo este um fluido neutro e o Grupo 2 denominado de controle positivo, recebeu a Cisplatina. Os animais de todos os Grupos foram submetidos a um período de adaptação de 15 dias. Apenas os animais do Grupo 3 receberam um pré-tratamento com acupuntura após oito dias de adaptação. Posteriormente ao período de adaptação, foi realizada a inoculação das células do carcinoma de Ehrlich em todos os animais do experimento e após 48 horas iniciou-se os diferentes tratamentos, sendo estes, administrados uma vez ao dia durante oito dias. No nono dia, os camundongos foram pesados, eutanasiados por deslocamento cervical⁸ e necropsiados para avaliação histológica e o tumor extirpado. O tempo estipulado para a realização do experimento foi de acordo com o protocolo adotado no laboratório experimental considerando o princípio dos 3R's (substituição, redução e refinamento dos animais) com foco no respeito e bem-estar animal.

2.4. Procedimentos para inoculação do carcinoma de Ehrlich

As células viáveis do carcinoma de Ehrlich foram retiradas do tumor de animais de manutenção dos estudos que se encontravam no Biotério do Laboratório de Farmacologia e Cancerologia Experimental do Departamento de Antibióticos da Universidade Federal de Pernambuco. Para o transplante das células cancerígenas retirou-se um fragmento de 3 mm de diâmetro, do conteúdo tumoral

e transplantou-se na região axilar de todos os animais, por via subcutânea, conforme a metodologia⁹ modificada obtendo-se, assim, a implantação do tumor sólido de Ehrlich (TSE).

2.5. Técnica de acupuntura e acupontos

A técnica de Agulhamento e os acupontos B10 (*Tianzhu*), VB30 (*Huantiao*) e F3 (*Taichong*) utilizados foram baseada na literatura^{5,10} com modificações necessárias para a realização desta pesquisa. As agulhas usadas foram auriculares de aço inoxidável, com 2,0 mm de comprimento. O comprimento da agulha foi determinado pela espécie e localização do ponto. A aplicação da agulha foi feita com os animais contidos¹¹ e introduzida bilateralmente de forma suave e rápida, com o auxílio de uma pinça anatômica e fixada com esparadrapo. O protocolo terapêutico da acupuntura foi feito nos camundongos por três vezes, tendo como intervalo um dia entre uma sessão e outra. O horário estipulado para a realização da acupuntura foi entre às 13h e 15h, para evitar interferências do círculo circadiano¹⁰.

2.6. Coleta de sangue e processamento do material biológico

A coleta de sangue nos camundongos foi realizada através da punção cardíaca, imediatamente após a eutanásia, com seringas descartáveis. O sangue (1,0 mL) foi transferido imediatamente para dois tubos de microcentrifuga (ependorf), um contendo 0,3 μ L de solução anticoagulante a 10% (Ácido Etileno Diamino Tetracético – EDTA) e o outro tubo sem anticoagulante para a obtenção do soro. Em seguida as amostras foram encaminhadas ao Laboratório Maxclínica Médica LTDA-ME.

Realizou-se a contagem de hemácias, determinação da hemoglobina, hematócrito, índices eritrocitários absolutos e contagem global de leucócitos através do analisador hematológico (XT-1800i-1 Sysmex, Paraná, Brasil). A contagem diferencial dos leucócitos foi efetuada através de microscopia óptica pela observação da lâmina corada contando-se 100 células nucleadas observadas no aumento de 1000x.

As alíquotas de soro, livre de hemólise visível, foram destinadas aos testes bioquímicos. As dosagens de Proteína Total foram realizadas pelo método de reação do Biureto, a Albumina através do Verde de Bromocresol, a Alanina Aminotransferase (ALT) e a Aspartato Aminotransferase (AST) pelo Frankel Reitman, a Ureia pelo Urease colorimétrico e a Creatinina por método cinético. Todos os testes foram realizados por meio de kits comerciais (Bioclin, Minas Gerais, Brasil) e com as leituras em um analisador bioquímico (Bio-200 Bioplus, São Paulo (SP)).

2.7. Análise estatística

A análise estatística dos dados quantitativos obtidos para as variáveis relacionadas com o hemograma, perfis renal e hepático realizou-se através da Análise de Variância (ANOVA), considerando as fontes de variação os diferentes tipos de tratamento. Em seguida, quando detectada diferença, pelo teste Tukey como *post hoc* teste. Os valores foram considerados significativos quando $p < 0,05$. Para todas as análises foi utilizado o programa SPSS versão 20.0.

3. Resultados e Discussão

Os resultados do hemograma estão representados na Tabela 1. Observou-se que o tratamento com acupuntura realizado nos Grupos G3, G4 e G5 pode ter prevenido um quadro anêmico nos animais quando comparado ao Grupo controle negativo (G1) e positivo (G2), respectivamente. Entende-se que a acupuntura trata o câncer abordando o paciente como um todo, não somente o tumor e atenua os sintomas relativos à enfermidade e efeitos colaterais comumente observados nos tratamentos convencionais¹¹. Tal fato pode ter interferido no estado geral dos animais atenuando os sintomas.

A acupuntura realizada nestes Grupos pode ter equilibrado as energias *Yin* e *Yang*, o que manteve os animais mais fortalecidos para o recebimento das células tumorais. Dias⁵ trabalhando com animais acometidos com distúrbios locomotores e neurológicos constataram que o ideal é realizar a acupuntura no indivíduo de forma preventiva, evitando que o distúrbio orgânico se desenvolva ou torne-se crônico o que diminuirá as chances de cura do paciente.

A anemia é comumente observada em pacientes oncológicos¹². Em animais experimentais com implantes tumorais de crescimento rápido, como ocorre com o carcinoma de Ehrlich, tem sido observada uma anemia normocítica normocrômica¹³. Neste experimento, os animais submetidos à acupuntura apresentaram um aumento do Hematócrito (Ht) quando comparado ao Grupo controle negativo.

A cisplatina é um quimioterápico da classe dos citostáticos e pode sensibilizar as hemácias, resultando em anemia hemolítica quando a medicação é administrada uma vez a cada 3 a 4 semanas¹⁴. Tal fato não foi observado nesta pesquisa e pode estar relacionado ao período de realização do estudo que foi de 8 dias consecutivos sendo administrado uma vez ao dia. Foi estudada a ação da cisplatina em pacientes com carcinoma de células escamosas de cabeça e pescoço e a anemia, constatada em 81,4% dos pacientes, foi a reação hematológica mais observada¹⁵.

No eritrograma foi observado uma diferença significativa ($p < 0,05$) das variáveis Hemoglobina Corpuscular Média (HCM) e Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média (CHCM) demonstrando um aumento no G5 de $18,15 \pm 1,49$ e $36,27 \pm 3,06$ respectivamente, quando comparado aos demais Grupos. Na literatura, tem sido relatado que o aumento real dessas variáveis não ocorre, uma vez que a síntese de hemoglobina é interrompida em um precursor eritrocitário, quando a concentração ideal de hemoglobina é atingida. Um aumento relativo pode ser observado quando ocorre algum tipo de interferência na avaliação da hemoglobina, como na lipemia e na icterícia; ou ainda na hemólise, quando ocorre a diminuição do hematócrito sem alteração na hemoglobina^{16,17}. Neste experimento foi descrito pelo analisador hematológico (XT-1800i-1 Sysmex, Curitiba, Paraná) a presença de hemólise dos animais do Grupo G5 que pode ser atribuída às condições pré-analíticas como coleta e manipulação da amostra.

O leucograma apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) no Grupo G3 para as variáveis Leucócitos totais ($\times 10^3/\mu\text{L}$) ($23.533,33 \pm 16.627,19$), Segmentados (mm^3) ($4.339,33 \pm 3.766,34$), Linfócitos típicos (mm^3) ($13.166,00 \pm 8.317,68$) e Monócitos (mm^3) ($5.934,33 \pm 5.170,01$) quando comparado com o Grupo controle negativo (não recebeu tratamento). A leucocitose, neutrofilia, linfocitose e monocitose podem ser resultantes da realização prévia da acupuntura neste grupo a qual pode ter agido na estimulação do sistema imune. O elevado desvio padrão observado nas variáveis sugere uma resposta individual dos animais à ação da acupuntura, demonstrando a importância da individualização do paciente durante o tratamento já que cada indivíduo apresenta um corpo físico, energético e uma psique diferentes, o que reforça a necessidade de tratar o paciente e não apenas a doença.

A realização da acupuntura no indivíduo saudável tem como objetivo manter a energia *Qi*, que é encontrada no corpo energético, equilibrada e consequentemente o organismo fortalecido, já que de acordo com a Medicina Tradicional Chinesa, uma concentração ou ausência desta energia compromete a saúde orgânica do ser deixando o indivíduo mais susceptível a um quadro de adoecimento.

A acupuntura pode atuar na modulação imunoneuro-endócrina do indivíduo produzindo citocinas que agem na inflamação, imunidade celular, imunidade humoral e homeostasia do sistema imune, melhora o estado psicomotor e a qualidade de vida, além de minimizar os efeitos colaterais da quimioterapia^{5,6,18}.

Observou-se que os tratamentos realizados com acupuntura e a *Euphorbia tirucalli* nos animais dos Grupos G4 e G5 desenvolveram uma resposta neu-

trófica mais eficiente quando comparado ao grupo controle positivo, o que demonstrou um estímulo imunológico. Apesar de não ter sido observado diferença significativa, nos animais tratados com a cisplatina (G2) evidenciou-se uma leucopenia e linfopenia acentuadas, efeito colateral conhecido deste antineoplásico^{17,14} (Tabela 1). Em um grupo de pacientes com câncer de ovário que recebeu quimioterapia e acupuntura, observou-se duas vezes menos neutropenia e leucopenia e valores mais elevados de leucócitos quando comparado ao grupo que foi tratado apenas com quimioterapia¹⁶.

Das substâncias presentes no látex da *Euphorbia tirucalli*, os diterpenos do tipo ingenano e o triterpeno eufol, apresentam caráter terapêutico. Os diterpenos com núcleo ingenano possuem ação anticancerígena, mostrando significativa inibição da proliferação da proteína quinase C (PKC) o que resulta num efeito antiproliferativo e apoptótico em várias células cancerígenas humanas, já o eufol possui comprovada ação anti-inflamatória⁴. Outros estudos informam que os flavonóides apresentam ação antioxidante, promovendo efeito quimioprotetor³.

O extrato da planta direta ou indiretamente proporciona um aumento do efeito mielomodulatório e ação contra evolução tumoral demonstrado no modelo de Tumor de Ehrlich ascítico em camundongos, evidenciado pelo aumento dos níveis de prostaglandina E2 intraperitoneal após tratamento com o extrato¹⁹.

A Tabela 2 apresenta os resultados da avaliação dos perfis renal e hepático. A variável creatinina, apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) no Grupo G3 ($1,46 \pm 0,66$). A redução da concentração plasmática da creatinina do G3 comparada ao Grupo controle negativo pode ser atribuída a uma substituição da musculatura por gordura dos animais deste Grupo associado ao ganho de peso. Tal fato levaria a redução do valor sérico deste analito já que a sua produção está diretamente relacionada a massa muscular²⁰. Nos Grupos tratados não houve lesão renal expressiva já que a creatinina apresentou diminuição e a variável ureia não apresentou diferença significativa.

Em relação ao perfil hepático não houve alteração significativa em nenhuma das variáveis, demonstrando que nem o tumor e nem os tratamentos empregados provocaram lesão significativa do órgão. Entretanto observa-se que o G3, G4 e G5 quando comparado ao Grupo controle negativo apresentaram os menores valores de Fosfatase Alcalina (FA), o G2, G4 e G5 de Aspartato Aminotransferase (AST) e Alanina Aminotransferase (ALT) e todos os demais Grupos de Proteína Total (PT). A diminuição na atividade das transaminases pode ter ocorrido decorrente de alterações metabólicas nutricionais associ-

Tabela 1: Valores médios do hemograma dos camundongos segundo os grupos.

	G1	G2	G3	G4	G5	p-valor
He ($\times 10^6 / \mu\text{L}$)	6,44 \pm 1,22	7,15 \pm 0,78	7,73 \pm 0,69	6,86 \pm 0,25	7,11 \pm 0,80	0,358
Ht (%)	33,00 \pm 6,96	34,00 \pm 3,56	38,33 \pm 4,93	34,50 \pm 1,29	35,60 \pm 4,16	0,620
Hb (g/dL)	10,44 \pm 2,10	11,15 \pm 0,99	11,80 \pm 1,31	10,65 \pm 0,91	12,82 \pm 0,73	0,086
VCM (fL)	51,11 \pm 1,87	47,67 \pm 3,46	49,46 \pm 1,88	50,32 \pm 1,19	50,08 \pm 1,68	0,230
HCM (pgg)	16,18 \pm 0,39 (a)	15,63 \pm 0,84 (a)	15,24 \pm 0,43 (a)	15,52 \pm 0,99 (a)	18,15 \pm 1,49 (b)	0,002
CHCM (%)	31,69 \pm 0,89 (a)	32,83 \pm 0,76 (a)	30,83 \pm 1,01 (a)	30,83 \pm 1,49 (a)	36,27 \pm 3,06 (b)	0,002
Plaquetas	656.000,00 \pm 351.044,87	540.750,00 \pm 160.724,14	670.333,33 \pm 220.731,36	519.750,00 \pm 300.804,89	888.000,00 \pm 241.512,94	0,295
Leucócitos ($\times 10^3 / \mu\text{L}$)	9.780,00 \pm 3.647,19 (ab)	2.675,00 \pm 1.701,71 (b)	23.533,33 \pm 16.627,19 (a)	4.750,00 \pm 818,54 (b)	6.860,00 \pm 1.607,17 (b)	0,005
Eosinófilos (mm^3)	84,00 \pm 138,85	0,00 \pm 0,00	93,67 \pm 162,24	0,00 \pm 0,00	0,00 \pm 0,00	0,358
Segmentados (mm^3)	364,20 \pm 108,82 (b)	79,50 \pm 85,81 (b)	4.339,33 \pm 3.766,34 (a)	143,50 \pm 64,13 (b)	137,20 \pm 32,14 (b)	0,003
Linfócitos Típicos (mm^3)	8.231,00 \pm 3.278,68 (b)	2.363,25 \pm 1.428,69 (b)	13.166,00 \pm 8.317,68 (a)	4.029,50 \pm 634,32 (b)	5.899,20 \pm 1.399,11 (b)	0,009
Monócitos (mm^3)	1.100,80 \pm 298,28 (b)	232,25 \pm 192,10 (c)	5.934,33 \pm 5.170,01 (a)	577,00 \pm 152,74 (b)	823,60 \pm 204,76 (b)	0,006

p-valor da ANOVA; G1: Soro Fisiológico (Controle Negativo); G2: Cisplatina - 2,5mg (Controle Positivo); G3: Pré-Tratamento com acupuntura + *Euphorbia tirucalli* L.; G4: Acupuntura + *Euphorbia tirucalli* L.; He: Hemácia; Ht: Hematócrito; Hb: Hemoglobina; HCM: Volume Corpuscular Médio; HCM: Hemoglobina Corpuscular Média; CHCM: Concentração de Hemoglobina Corpuscular Média.

Tabela 2: Valores médios da bioquímica sérica dos camundongos seguidos os grupos.

	G1	G2	G3	G4	G5	p-valor
Ureia (mg/dL)	59,60 ± 6,80	70,60 ± 6,95	56,80 ± 6,46	50,20 ± 3,27	65,40 ± 29,02	0,224
Creatinina (mg/dL)	2,56 ± 0,40 (b)	1,76 ± 0,40 (ab)	1,46 ± 0,66 (a)	2,32 ± 0,22 (ab)	1,96 ± 0,53 (ab)	0,010*
Fosfatase Alcalina	85,50 ± 67,97	115,33 ± 99,38	69,82 ± 113,29	63,50 ± 15,80	67,86 ± 43,49	0,898
Proteínas Totais (g/dL)	6,35 ± 0,24	5,20 ± 1,56	5,96 ± 0,88	6,13 ± 0,49	5,80 ± 1,23	0,669
Globulina (g/dL)	4,23 ± 0,29	3,00 ± 0,71	3,76 ± 0,82	4,15 ± 0,41	3,32 ± 1,49	0,413
Albumina (g/dL)	2,13 ± 0,10	2,20 ± 0,85	2,20 ± 0,34	1,98 ± 0,10	2,48 ± 1,02	0,788
AST (U/L)	409,20 ± 31,61	347,80 ± 148,96	392,00 ± 154,93	350,80 ± 151,19	319,40 ± 157,40	0,843
ALT (U/L)	177,80 ± 24,77	111,80 ± 74,64	155,60 ± 65,51	132,60 ± 60,49	113,00 ± 50,72	0,338
RELA A/G	0,50 ± 0,05	0,72 ± 0,11	0,60 ± 0,19	0,47 ± 0,03	0,99 ± 0,95	0,542

p-valor da ANOVA: * estatisticamente significante; Valores na mesma linha seguidos de minúsculas iguais não diferem estatisticamente ($p < 0,05$) teste Tukey. G1: Soro Fisiológico (Controle Negativo); G2: Cisplatina – 2,5mg (Controle Positivo); G3: Pré-Tratamento com acupuntura + *Euphorbia thurcilli* L.; G4: Acupuntura; G5: Acupuntura + *Euphorbia thurcilli* L.; AST: Aspartato Aminotransferase; ALT: Alanina Aminotransferase; A: Albumina; G: Globulina.

ada à diminuição da vitamina B6 e do acúmulo de gordura e a da PT por uma diminuição da globulina. A piridoxina age como um cofator na atividade das transaminases refletindo diretamente no resultado laboratorial. Em ratos observou-se que quando os animais apresentavam deficiência da vitamina B6 os níveis das enzimas aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) eram reduzidos e após a administração da piridoxina, restaurados²¹.

Sugere-se em trabalhos futuros que seja prolongado o tempo do experimento e/ou o número de sessões de acupuntura para observar se os resultados encontrados no presente estudo se mantêm ou se alteram. O tempo de experimento foi limitado ao protocolo adotado no laboratório experimental com foco nos princípios adotados pela ciência do bem-estar animal.

Sendo assim, espera-se motivar o interesse de outros pesquisadores para que esta importante área da ciência venha a ocupar lugar de destaque como instrumento coadjuvante no tratamento de doenças, rompendo paradigmas atuais e devolvendo aos indivíduos o controle sobre sua saúde e qualidade de vida.

4. Conclusão

Conclui-se que a associação da acupuntura e *Euphorbia tirucalli* promoveram uma resposta imunológica, representada por alterações no perfil hematológico em camundongos com carcinoma de Ehrlich. Quanto aos perfis hepáticos e renais avaliados, a única diferença significativa foi na dosagem da creatinina no Grupo que recebeu um pré-tratamento com acupuntura e a *Euphorbia tirucalli* L.

Referências

- [1] O. J. Santos, E. N. Sauaia Filho, F. R. Nascimento, F. C. Júnior, E. M. Fialho, R. H. Santos, R. A. Santos, e I. C. Serra. Use of raw euphorbia tirucalli extract for inhibition of ascitic Ehrlich tumor. *Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgias*, 43(1):18–21, 2016.
- [2] Ministério da Saúde. Ações de enfermagem para o controle do câncer. Brasília, DF, 2008.
- [3] C. V. Barbosa. Avaliação do Potencial Neopásico de Plantas Medicinais Utilizadas como Coadjuvantes no Tratamento do Câncer pelos Pacientes do CACON/UFAL. Dissertação de mestrado em ciências biológicas, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, AL, 2009.
- [4] L. F. Pianowski. Testes indicam que o aveloz combate vários tipos de cânceres. *Sapiência Informativo Científico da FAPEPI*, 23(ano VI):8–9, 2010. Disponível em: <http://www.fapepi.pi.gov.br/media/uploads/jornal/2016/12/sapiencia23.pdf>.
- [5] M. B. M. C. Dias. Avaliação Clínica da Aplicação da Acupuntura em Cães com Disfunções Locomotoras e/ou Neurológicas. Dissertação de mestrado em medicina veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2014.
- [6] I. Pais, N. Correia, I. Pimentel, M. J. Teles, E. Neves, J. Vasconcelos, J. Guimarães, N. Azevedo, A. Moreira Pinto, J. Machado, T. Efferth, e H. J. Greten. Effects of acupuncture on leucopenia, neutropenia, NK, and B cells in cancer patients: a randomized pilot study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2014(id. 217397):1–9, 2014.
- [7] A. C. P. Silva. Abordagem da Atividade Biológica do Látex de *Euphorbia tirucalli* linn *Euphorbiaceae*. Dissertação de mestrado em ciências farmacêuticas, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, PE, 2014.
- [8] E. A. B. Rivera. Analgesia, anestesia e eutanásia em roedores, logomorfos, cães e suínos. In: A. G. S. Feijó, L. M. G. M. Braga, e P. M. C. Pitrez, editors, *Animais na Pesquisa e no Ensino: aspectos éticos e técnicos*, pages 198–216. EdUPUCRS, Porto Alegre, RS, 2010.
- [9] C. C. Stock, F. S. Phillips, A. E. Moore, S. M. Buckley, D. A. Clarke, R. K. Barclay, e K. Sugiura. Sarcoma 180 inhibition screening data. *Cancer Research*, 13(suppl. 1):91–179, 1953.
- [10] A. M. Schoen. *Acupuntura Veterinária: da arte antiga à medicina moderna*. Roca, São Paulo, SP, 2006.
- [11] M. Tagliaferri, I. Cohen, e D. Tripathy. Complementary and alternative medicine in early-stage breast cancer. *Seminars in Oncology*, 28(1):121–134, 2001.
- [12] H. I. Magalhães, D. P. Bezerra, B. C. Cavalcanti, D. V. Wilke, R. Rotta, D. P. de Lima, A. Beatriz, A. P. Alves, F. S. Bitencourt, I. S. Figueiredo, N. M. Alencar, L. V. Costa-Lotufo, M. O. Moraes, e C. Pessoa. In vitro and in vivo antitumor effects of (4-methoxyphenyl)(3,4,5-trimethoxyphenyl)methanone. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 68(1):45–52, 2011.
- [13] R. F. Araújo. *Avaliação dos Efeitos dos Florais do Nordeste em Camundongos Albinos Swiss (Mus musculus) com Carcinoma de Ehrlich*. Tese de doutorado em medicina veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, PE, 2015.
- [14] Asta Medica Oncologia. Cisplatina. Acesso em 04/mar/2017. Disponível em: http://www.bulas.med.br/p/bulas-de-medicamentos/bula/5573/cisplatin_a.htm.
- [15] M. B. Visacri. Estudo das Reações Adversas, Qualidade de Vida e Excreção da Cisplatina na Urina de Pacientes com Câncer de Cabeça e Pescoço em Quimioterapia e Radioterapia. Dissertação de mestrado em ciências médicas, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, Sp, 2013.
- [16] W. Lu, U. A. Matulonis, A. Doherty-Gilman, H. Lee, E. Dean-Clover, A. Rosulek, C. Gibson, A. Goodman, R. B. Davis, J. E. Buring, P. M. Wayne, D. S. Rosenthal, e R. T. Penson. Acupuncture for chemotherapy-induced neutropenia in patients with gynecologic malignancies: a pilot randomized, sham-controlled clinical trial. *Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 15(7):745–753, 2009.
- [17] S. L. Stockham e M. A. Scott. *Fundamentos de Patologia Clínica Veterinária*. Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, RJ, 2011.
- [18] R. C. Lima. Alterações na Resposta Imunológica Pré e Pós-Procedimento de Acupuntura. Monografia de conclusão de curso em biomedicina, Universidade Católica de Brasília, Brasília, DF, 2015.
- [19] M. C. Valadares, S. G. Carrucha, W. Accorsi, e M. L. S. Queiroz. *Euphorbia tirucalli* L. modulates myelopoiesis and enhances the resistance of tumour-bearing mice. *International Immunopharmacology*, 6(1):294–299, 2006.
- [20] D. M. Lunguinho. Estudo dos Efeitos Antitumorais e Toxicológicos do Óleo Essencial das Folhas de *Xylopia frutescens* (Aubl.). Dissertação de mestrado em produtos naturais e sintéticos bioativos, Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB, 2012.
- [21] F. A. Robinson. *The Vitamin Co-Factors of Enzyme Systems*. Elsevier, London, UK, 2013.

Notas Biográficas

Mirella Bezerra de Melo Colaço Dias é doutoranda do Programa de Pós-Graduação em Medicina Veterinária da Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE).

Tamires Saches Santos do Nascimento é estudante de Bacharelado em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE).

Eduardo Henrique da Silva Ramos é professor da Unidade Acadêmica de Serra Talhada, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Serra Talhada (PE).

Miriam Nogueira Teixeira é Professora Titular do Departamento

de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE).

Ivone Antônia de Souza é Professora Titular da Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE).

Melânia Loureiro Marinho é Professora Titular da Universidade Federal de Campina Grande, Centro de Saúde e Tecnologia Rural, Campus de Patos, Campina Grande (PB).

Evilda Rodrigues de Lim é Professora Titular do Departamento de Medicina Veterinária, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife (PE).