

# Carcinogênese química cutânea e subcutânea em gerbil (*Meriones unguiculatus*)

## *Chemical cutaneous and subcutaneous carcinogenesis in gerbil (Meriones unguiculatus)*

MARIA ANGÉLICA GUZMÁN-SILVA<sup>1</sup>, MARIA ISABEL DORIA ROSSI<sup>1</sup>,  
JORGE DA SILVA PAULA GUIMARÃES<sup>2</sup>

**Unitermos:** Gerbil, Carcinogênese química, Neoplasias cutâneas, Neoplasias subcutâneas.  
**Uniterms:** Gerbil, Chemical carcinogenesis, Cutaneous neoplasms, Subcutaneous neoplasms.

---

**Resumo** — O comportamento do gerbil (*Meriones unguiculatus*) como modelo em oncologia experimental é estudado. Aplicações tópicas de 3-metilcolantreno (MC), sobre a pele do dorso, induziram papilomas, carcinomas epidermóides, carcinomas basocelulares e lesões hiperpigmentadas semelhantes ao nevus azul. Ao contrário, somente lesões pigmentadas foram observadas nos animais tratados com MC (iniciação) associado ao óleo de croton (promoção). Além disso, fibrossarcomas e um linfoma foram induzidos com injeções subcutâneas de MC.

---

### Introdução

A utilização de modelos experimentais de indução química de neoplasias tem proporcionado progressos no conhecimento dos mecanismos básicos relacionados a carcinogênese, permitindo observar que o processo envolve múltiplas etapas. Dois modelos clássicos, denominados cumulativo e bifásico, foram desenvolvidos em pele de camundongo. No primeiro há aplicação tópica, repetida, do carcinógeno, em doses subcarcinogênicas, enquanto que, no segundo, após uma única dose subcarcinogênica do cancerígeno (etapa de iniciação) há aplicações repetidas de uma substância não carcinogênica, dita promotora tumoral (etapa de promoção). A iniciação tem sido considerada como uma etapa irreversível da carcinogênese, que envolve alteração do DNA, por ligação do carcinógeno a esta molécula. A promoção é, até certo ponto, reversível e compreende o período de desenvolvimento total da neoplasia, desde a primeira alteração celular decorrente da iniciação (2, 4, 5, 13, 29, 31, 35, 36, 37, 49, 44).

---

Trabalho realizado com o apoio do CNPq.

Trabalho apresentado no I Encontro Nacional de Pesquisa em Câncer, no Instituto Nacional do Câncer (INCA), Rio de Janeiro, novembro de 1986.

1. Professor Assistente.
2. Professor Titular.

Universidade Federal Fluminense - Centro de Ciências da Saúde -  
Departamento de Patologia - Setor de Patologia Experimental -  
Hospital Universitário Antônio Pedro  
Rua Marquês de Paraná, 303 - Niterói - 24030 - RJ

A preocupação com a validade dos conhecimentos gerais, adquiridos através de modelos experimentais, desenvolvidos em pele de camundongo, motivou uma série de pesquisas, utilizando diferentes linhagens inbred de camundongos e outras espécies animais, como hamster, rato, cobaia e coelho. Os trabalhos demonstraram que existem variações na resposta a carcinogênese química cutânea, embora os mecanismos pareçam ser universais. Ainda pouco se sabe sobre os determinantes destas diferenças que parecem ser geneticamente determinadas, podendo envolver vários fatores. Estes tanto podem depender do tecido alvo, quanto estar relacionados a variações na ativação metabólica do carcinógeno, a diferenças na capacidade de reparo do DNA danificado ou, ainda, a etapa de promoção (1, 4, 17, 18, 26, 29, 32, 38, 39). Além disto, variações quanto aos tipos de neoplasias quimicamente induzidas podem ocorrer. Enquanto em camundongos (*Mus musculus*) a aplicação tópica de carcinógeno, associado ou não a um promotor tumoral, induz tumores cutâneos do tipo papiloma e carcinoma epidermoide (37, 42), em outras espécies de roedores é descrita a indução de várias neoplasias cutâneas, incluindo queratoacantoma, tricoepitelioma (12, 42), carcinoma basocelular (37, 42) e melanoma (6, 12, 23, 37).

O gerbil (*Meriones unguiculatus*) é um pequeno roedor originário das regiões desérticas da China e da Mongólia que vem sendo utilizado nas últimas décadas, como animal de laboratório por ser dócil, reproduzir-se bem em cativeiro e se mostrar sensível a diversas doenças infecto-parasitárias importantes na Medicina (16, 20, 30). Apresenta, ainda, uma baixa incidência de neo-

plasias espontâneas até os 2 anos de idade (15, 22) e, em idade mais avançada uma incidência comparável a do camundongo suíço e hamster sírio (3, 27, 28, 33, 41). No entanto, as referências, na literatura, utilizando este animal em estudos de carcinogênese química são escassas e contraditórias (14, 16, 21, 24, 25, 43).

O objetivo deste trabalho é analisar o comportamento do gerbil (*Meriones unguiculatus*) como modelo em oncologia experimental, observando a resposta deste animal à carcinogênese química cutânea e subcutânea.

## Material e Método

**Animais:** 36 gerbils, fêmeas, 10 semanas de idade, foram divididos em 6 grupos. Metade dos animais foi tratada sob anestesia com éter (subgrupos A), enquanto a outra metade foi sedada com diazepam (IVB-CEME), 5 mg/Kg pc. por via intraperitoeal (ip) (subgrupos B).

**Indução química de neoplasias cutâneas:** Os animais tiveram o dorso previamente depilado com creme depilador (SuperfluL'Oréal) e foram tratados como se segue:

— Modelo cumulativo (grupos IA e IB): Foi aplicado, topicamente, 0,2 ml de 3-metilcolantreno (MC) (Sigma Chemical Co) a 0,1% em acetona, 2 vezes por semana, durante 30 semanas.

— Modelo bifásico (grupos IIA e IIB): Aplicou-se, topicamente, uma única dose de 0,2 ml de MC a 0,1% em acetona, seguida da aplicação tópica de 0,2 ml de óleo de crótona (OC) (Sigma Chemical Co) a 0,5% em acetona, 2 vezes por semana, durante 30 semanas.

**Indução química de neoplasias subcutâneas** (grupos IIIA e IIIB). Foi inoculado, no subcutâneo dorsal, 0,2 ml de MC a 0,1% em óleo mineral (Nujol-Johnson), 2 vezes por semana, durante 15 semanas.

Os animais foram sacrificados por inalação prolongada de éter, em períodos determinados pela evolução

das neoplasias quimicamente induzidas e/ou ao final do experimento. Durante a necropsia completa, fragmentos de diversos tecidos foram coletados em formol a 10% para estudo histopatológico e fragmentos dos tumores foram também fixados em glutaraldeído para análise da ultra-estrutura.

## Resultados

Os resultados se encontram sumarizados nas tabelas 1 e 2.

Nos animais tratados com o modelo cumulativo (grupo IA e IB) observou-se, inicialmente, alopecia e espessamento da pele com formação de crostas e máculas hiperpigmentadas. Após a 14ª semana, todos os animais apresentavam papilomas múltiplos que progrediram formando, após a 26ª semana, grandes massas nodulares confluentes e ulceradas. Com o modelo bifásico (grupos IIA e IIB) verificou-se máculas hiperpigmentadas e, na 24ª semana, a ocorrência de um papiloma solitário em um animal, que regrediu após a 25ª semana.

Os animais tratados com MC por via subcutânea (grupos IIIA e IIIB) mostraram, inicialmente, espessamento difuso e consistente do subcutâneo dorsal, que se acompanhava freqüentemente de hipertrofia dos linfonodos axilares e braquiais. Após a 52ª semana verificou-se, em todos os animais, a ocorrência de nódulos subcutâneos consistentes, em geral solitários. Com a evolução dos tumores havia ulceração da pele suprajacente. Ao corte, as massas neoplásicas mostravam-se de coloração esbranquiçada, notando-se infiltração da musculatura esquelética subjacente. Em um dos animais do grupo IIIB, além dos tumores subcutâneos, observou-se grande massa cervical envolvendo as glândulas salivares e se estendendo até o mediastino. A massa tumoral era de coloração esbranquiçada e consistência friável; múltiplos nódulos de aspecto semelhante e diâmetro variável, até 0,2 cm, se encontravam disseminados pelo parênquima pulmonar e hepático, havendo, ainda, comprometimento do baço.

**Tabela 1. Incidência e latência de papilomas e carcinomas epidermóides quimicamente induzidos.**

Grupo	Nº de Animais	Incidência		Latência (semanas)	
		Papilomas	Carcinomas	Papilomas	Carcinomas
IA	6	5/5*	5/5	14	28
IB	6	3/3	1/1	16	26
IIA	6	1/5	0/5	24	—
IIB	6	0/3	0/1	—	—

I Modelo cumulativo

II Modelo bifásico

A Tratamento sob anestesia com éter

B Tratamento sob sedação com diazepam

\* Relação n.º animais com neoplasia/n.º animais vivos

Tabela 2. Incidência e latência de fibrossarcomas quimicamente induzidos.

Grupo	Nº Animais	Incidência	Latência (semanas)
A	6	4/4*	52
B	6	5/5	52

A Tratamento sob anestesia com éter  
 B Tratamento sob sedação com diazepam  
 \* Relação nº animais com neoplasia/nº animais vivos

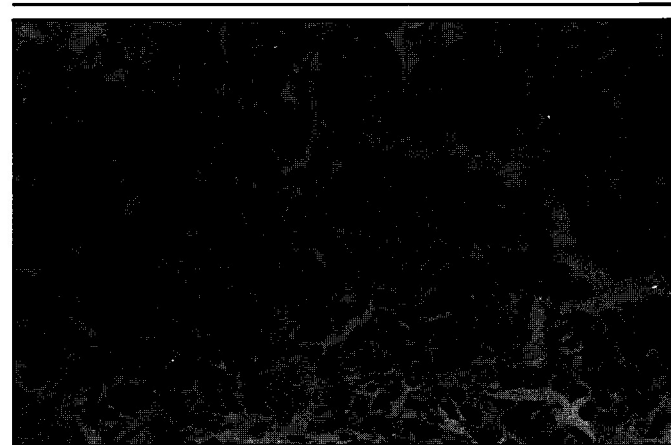
Todos os animais sedados com diazepam (subgrupo B) apresentavam peritonite com múltiplas aderências viscerais.

**Histopatologia:** Em todos os animais tratados com o modelo cumulativo houve o desenvolvimento, na pele do dorso, de carcinoma epidermoide bem diferenciado e infiltrativo, constituído por ninhos ou cordões de células de núcleo arredondado e vesiculoso, com nucléolo evidente, e citoplasma amplo; havia, ora a formação de pérolas córneas, ora queratinização de pequenos grupamentos celulares (Fig. 1). Em dois casos houve metástase e linfonodos regionais (Fig. 2). Em dois animais observou-se, concomitantemente, a ocorrência de neoplasia com características de carcinoma basocelular, formado por células basaloides, de núcleo oval e escasso citoplasma, agrupadas em pequenos ninhos e cordões que se anastomosavam (Fig. 3). Áreas de hiperpigmentação epidérmica e dérmica foram freqüentemente evidenciadas. Esta era constituída por grandes ninhos de células intensamente pigmentadas localizadas na derme superficial e o padrão morfológico era comparável ao do nevus azul do homem (Fig. 4).

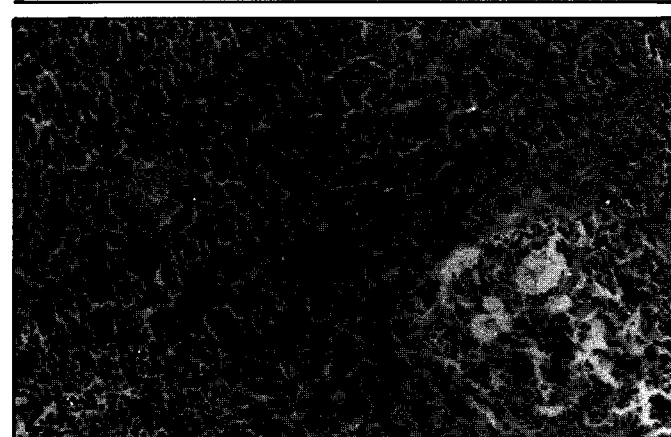
A pele dos animais tratados com o modelo bifásico não apresentou outras alterações além das áreas de hiperpigmentação dérmica, tipo nevus azul, e epidérmica.

A inoculação subcutânea de MC determinou o aparecimento, em todos os animais, de neoplasia mesenquimal com características de fibrossarcoma anaplásico. As células tumorais exibiam acentuado polimorfismo, inclusive com a presença de células bizarras e células multinucleadas. Gigantismo nuclear e nucleolar, cromatina disposta em grumos grosseiros e figuras de mitose, freqüentemente anômalas, eram observados (Fig. 5). Havia áreas mais diferenciadas, constituídas por células fusiformes dispostas em feixes paralelos, e outras de tecido mixomatoso. Os tumores eram bem vascularizados, notando-se áreas de necrose e hemorragia, por vezes infiltradas por polimorfonucleares (PMN). Freqüentemente havia invasão dos tecidos adjacentes, adiposo e muscular, bem como restos de óleo na periferia do tumor e no tecido subcutâneo, com reação macrofágica e gigantocitária. Em alguns casos, notava-se hialinização

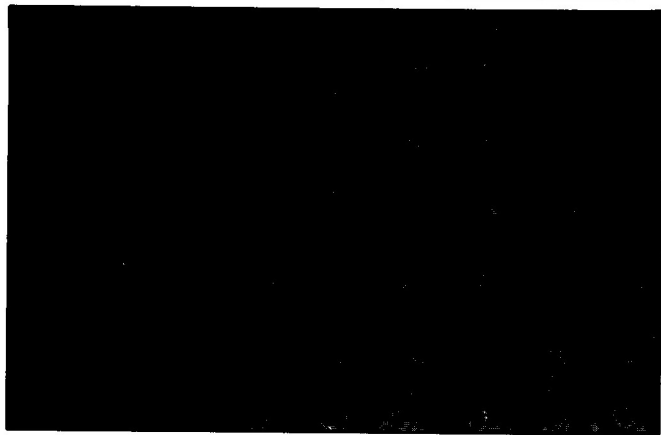
do conjuntivo no seio do tumor, acompanhada de metaplasia cartilaginosa com mineralização da mesma. Os linfonodos superficiais mostravam drenagem do óleo mineral e hiperplasia linfoide.



**Fig. 1** - Carcinoma epidermoide. Grupo IA. 39ª semana. Cordões de células tumorais anaplásicas, freqüentes figuras de mitose (seta), queratinização de pequenos grupos celulares (seta duplas). HE. 500 X.



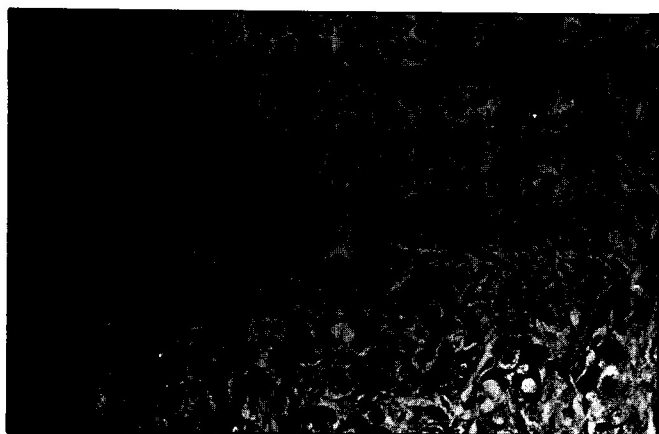
**Fig. 2** - Carcinoma epidermoide. Grupo IA. 39ª semana. Linfonodo exibindo metástase. HE. 100 X.



**Fig. 3 - Carcinoma basocelular. Grupo IA. 35ª semana. Ninhos de células basalóides neoplásicas na derme superficial. HE. 125X.**



**Fig. 4 - Nevo azul. Grupo IA. 35ª semana. Exuberante acúmulo de células intensamente pigmentadas na derme. HE. 50 X.**



**Fig. 5 - Fibrossarcoma. Grupo IIIA. 56ª semana. Células tumorais anaplásicas dispostas anarquicamente, acentuado pleomorfismo, células multinucleadas. HE. 500 X.**



**Fig. 6 - Linfossarcoma. Grupo IIIB. 62ª semana. Linfonodo submandibular com infiltração difusa do parênquima, da cápsula e de estruturas vizinhas por células linfóides diferenciadas HE. 100 X.**

A massa tumoral cervical apresentava características de linfossarcoma, sendo constituída por células linfóides bem diferenciadas dispostas difusamente, substituindo o parênquima dos linfonodos submandibulares; havia infiltração da cápsula ganglionar e dos tecidos circunvizinhos (Fig. 6). Necrose multifocal com picnose, cariorrexia e infiltração por PMN eram evidenciados no seio do tumor. Linfonodos cervicais, bem como mediastínicos, axilares, braquiais e pancreáticos, estavam envolvidos no processo. Células linfóides neoplásicas, formando nódulos, eram observadas nos parênquimas pulmonar, hepático e esplênico.

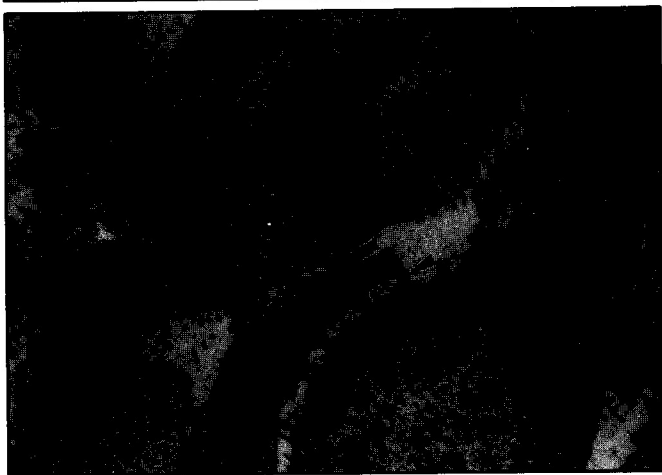
**Ultra-estrutura:** O carcinoma epidermoide era constituído por células de núcleo irregular com heterocromatina em grupos grosseiros e nucléolo hipertrofiado. O citoplasma era rico em feixes de tonofilamentos e ribossomas livres. As células eram unidas por estruturas juncionais tipo desmossomas, notando-se alargamento dos

espaços intercelulares que continham projeções citoplasmáticas (Fig. 7).

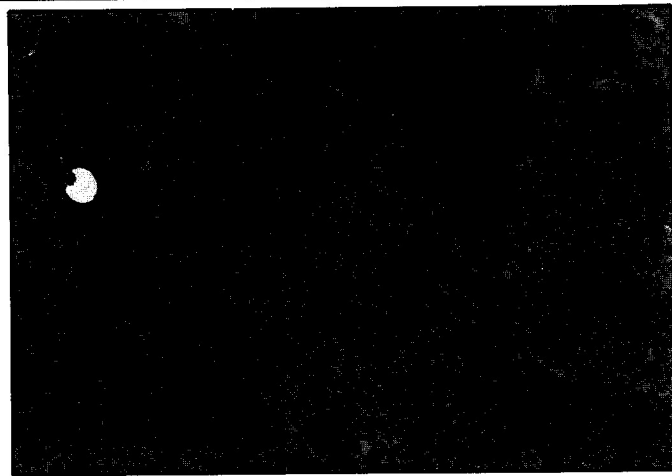
O fibrossarcoma era formado por células de núcleo irregular com predomínio de eucromatina e nucléolo proeminente. O citoplasma apresenta RER bem desenvolvido com cisternas dilatadas contendo material finamente granular, mitocôndrias e grande quantidade de ribossomas livres e polissomas. Escassas fibras colágenas em íntima associação com as células neoplásicas, eram observadas no interstício (Fig. 8).

O linfossarcoma era composto por células linfocitoides bem diferenciadas, com núcleo arredondado, discretamente irregular e cromatina condensada, não evidenciando-se nucléolo. O citoplasma era escasso, mas rico em ribossomas livres. As células apresentavam processos citoplasmáticos pouco desenvolvidos, não tendo sido visualizadas estruturas juncionais tipo desmossomas (Fig. 9).





**Fig. 7 - Carcinoma epidermoide. Grupo IA. 42ª semana.** Células neoplásicas mostrando núcleo com heterocromatina em grumos grosseiros, macronúcleolos, citoplasma com abundantes ribossomos livres e feixes de tonofilamentos (t); espaço intercelular dilatado contendo projeções citoplasmáticas, estruturas juncionais desmossomas (setas). 3.900 X.



**Fig. 8 - Fibrossarcoma. Grupo IIIB. 54ª semana.** Célula tumoral de núcleo irregular, com predomínio de eucromatina, citoplasma rico em polissomas; fibras colágenas em íntima associação (c). 9.100 X.

## Discussão

Os resultados demonstraram que a pele do gerbil responde ao MC, quando aplicado através do modelo cumulativo, havendo indução de papiloma, como é descrito (14), com progressão a carcinoma epidermoide, semelhantemente ao observado por diversos autores (16, 21, 24). A ocorrência de carcinoma basocelular ainda não havia sido descrita em gerbil, mas já foi registrada na pele de murídeo, *Mastomys natalensis*, tratado topicamente com dimetil-benzantraceno (DMBA) associado ou não ao 12-0-tetradecanoilforbol-13-acetato (TPA) (42).

Melanomas e lesões hiperpigmentadas, quimicamente induzidas, tanto com o modelo cumulativo, quanto com o bifásico, são descritos no hamster (12) e no coelho (6, 23). No gerbil, embora melanomas induzidos quimicamente sejam raramente observados, lesões de hiperpigmentação dérmica, semelhantes ao nevus azul, como as registradas neste trabalho, são freqüentes nos animais tratados só com DMBA ou em combinação com OC, ou mesmo somente com OC (21, 24, 25).

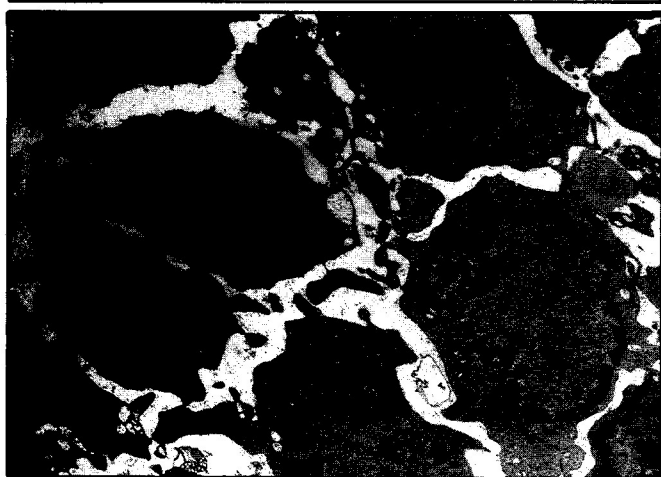
A ocorrência de papiloma e carcinoma epidermoide na pele de berbils tratados com DMBA associado ao OC é descrita na literatura (21, 24, 25). No entanto, neste experimento, bem como em anterior (14), o gerbil se mostrou refratário ao modelo bifásico de carcinogênese química, com MC e OC como promotor.

A ativação metabólica dos hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAP) carcinogênicos e sua fixação a molécula de DNA são imprescindíveis na etapa de iniciação, que é, provavelmente, similar nos dois modelos de carcinogênese. Portanto, estes parecem diferir, basicamente, nos mecanismos envolvidos na promoção tumoral (35). Estudos recentes têm demonstrado que, em

camundongos que diferem na resposta a carcinogênese com HAP, não parece haver diferenças significativas, quer entre os principais metabólitos de DMBA e benzo-pireno (7, 26), quer na fixação destes à molécula de DNA (35). Sendo assim, a variação na resposta do gerbil aos dois modelos pode estar relacionada a etapa de promoção. Sendo esta inicialmente reversível, fatores exógenos podem modificá-la (4). Inúmeros agentes, incluindo glucocorticoides anti-inflamatórios, capazes de inibir a resposta ao modelo bifásico têm sido descritos (19, 34, 35, 36, 43). Os glucocorticoides, cortisol e outros, são potentes inibidores, na epiderme, da divisão celular e da hiperplasia (4, 34, 35, 36, 43).

O gerbil apresenta glândulas adrenais muito desenvolvidas quando comparadas ao peso corporal total (14, 16), característica essa também de camundongos C57BL/6 que são resistentes à promoção tumoral com TPA (35). Os níveis de glucocorticoides se elevam acentuadamente em gerbils submetidos a situações de estresse, como a exposição a vapor de éter (8 - 11). No entanto, a substituição do tratamento anestésico com éter pela sedação com diazepam não determinou alteração da resposta do gerbil à promoção com OC, nem modificou a resposta ao modelo cumulativo ou à carcinogênese subcutânea. Contudo, no que concerne a situações de estresse, não se pode desprezar a induzida pela manipulação dos animais para administração intraperitoneal do diazepam, além da provocada pela peritonite, determinada provavelmente por esta droga, e que foi responsável pela grande mortalidade verificada, principalmente, nos subgrupos tratados durante 30 semanas.

Em termos de atividade promotora de uma substância, existe uma relação dose-resposta, assim como uma freqüência ótima de aplicação. Se a dose ou a fre-



**Fig. 9 - Linfossarcoma. Grupo IIIB. 62ª semana. Células neoplásicas de núcleo discretamente irregular e cromatina condensada, citoplasma escasso e rico em ribossomos livres, processos citoplasmáticos pouco desenvolvidos, ausência de estruturas juncionais tipo desmosomas. 5.720 X.**

quência é reduzida, a eficiência do agente promotor é diminuída ou, inclusive, perdida (4, 35, 39, 40, 42). A indução de neoplasias com o modelo bifásico, em gerbil, descrita na literatura, foi obtida com a aplicação de 1 ml de OC a 1%, 3 vezes por semana (24, 25), portanto corresponde a 10 (dez) vezes a dose utilizada neste experimento, numa frequência maior.

Outro fator a ser considerado é a variação na sensibilidade das diferentes espécies às muitas substâncias promotoras tumorais (32), de tal forma que, enquanto algumas linhagens inbred de camundongos se mostram resistentes ao TPA e sensíveis ao peróxido de benzoila, o inverso ocorre com outras linhagens (26, 37).

A indução de fibrossarcoma e linfoma por aplicação intramuscular de DMBA, no gerbil, é descrita na literatura (16). Os resultados obtidos indicam que esta espécie é sensível também ao MC, quando aplicado por via subcutânea, desenvolvendo, em 100% dos casos, fibrossarcoma anaplásico. O único caso de linfoma, apesar da amostragem reduzida, que requer ampliação do estudo, parece ter sido quimicamente induzido, uma vez que neoplasias linfoides espontâneas são extremamente raras em qualquer espécie de *Gerbillinae* (3, 15, 22, 27, 28, 33, 41).

O gerbil (*Meriones unguiculatus*) parece ser um animal de laboratório útil na pesquisa de câncer, devendo-se ampliar as observações existentes e desenvolver novas pesquisas visando esclarecer, principalmente, os mecanismos envolvidos na promoção tumoral. Isto, utilizando-se não somente outras substâncias promotoras, determinando a dose e a frequência de aplicação ótimas das mesmas, mas também empregando outros modelos de carcinogênese química cutânea que reproduzam melhor as múltiplas etapas envolvidas no processo.

## Summary

The possible use of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) as an experimental animal for oncologic studies was investigated. Topical applications of 3-methylcholanthrene (MC) on the dorsal trunk skin induced papillomas, squamous cell carcinomas, basal-cell carcinomas and blue-nevus like lesions. In contrast, only pigmentary changes were observed in those gerbils treated with MC (initiation) in associations with croton oil (promotion). Moreover, fibrosarcomas and one lymphoma could also be induced following subcutaneous injections of MC.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ASHMAN, LK; MURRAY, AW; COOK, MG; KOTLARSKI, I Two-stage skin carcinogenesis in sensitive and resistant mouse strains. *Carcinogenesis*, 3 (1): 99-102, 1982.
- BECKER, FF Recent concepts of initiation and promotion in carcinogenesis. *Am. J. Pathol.* 105 (1): 3-9, 1981.
- BENITZ, KF & KRAMER, JrAW Spontaneous tumors in the Mongolian gerbil. *Lab. Anim. Care*, 15 (5): 281-294, 1965.
- BOUTWELL, RK Some biological aspects of skin carcinogenesis. *Prog. exp. Tumor Res.* 4: 207-250, 1964.
- BOUTWELL, RK. VERMA, AK, ASHENDEL, CL; ASTRUP, E Mouse skin: a useful model system for studying the mechanism of chemical carcinogenesis. *Carcinog. Compr. Surv.* 7:1-12, 1982.
- CLARK, JrWH; MIN, BH; KLIGMAN, LHL The developmental biology of induced malignant melanoma in guinea pigs and a comparison with other neoplastic system. *Cancer Res.* 36: 4079-4091, 1976.
- DI GIOVANNI, J; SLAGA, TJ; JUCHAU, MR Comparative epidermal metabolism of mice with differing sensitivity to skin tumorigenesis by DMBA. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* 20: 134, 1979.
- FENSKE, M Production of steroids by in vitro superfusion from adrenals of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): effect of acute stress. *Comp. Biochem. Physiol. (A)*, 74(4): 971-976, 1983.
- \_\_\_\_ Stress and (1-24) ACTH-induced alterations in adrenal and testicular steroidogenesis in Mongolian gerbils (*Meriones unguiculatus*): comparison of plasma levels, tissue content and in vitro secretions. *Comp. Biochem. Physiol. (A)*, 77 (4): 745-748, 1984.
- \_\_\_\_ Effects of acute stress, (1-24) ACTH administration and changes in superfusion temperature and flow rate on the in vitro secretion of glucocorticosteroids and aldosterone from Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*) adrenal gland. *Comp. Biochem. Physiol. (A)*, 82 (4): 951-958, 1985.
- \_\_\_\_ Adrenal function in the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*): influence of confinement stress upon glucocorticosteroids, progesterone, dehydroepiandrosterone, testosterone and androstenedione plasma levels, adrenal content and in-vitro secretion. *Exp. Clin. Endocrinol.* 87 (1): 15-25, 1986.
- GOERTTLER, K; LOEHRKE, H; HESSE, B; SHWEIZER, J Skin tumor formation in the European hamster (*Cricetus cricetus*) after topical initiation with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene (DMBA) and promotion with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA). *Carcinogenesis*, 5 (4): 521-524, 1984.
- GUZMÁN-SILVA, MA & GUIMARÃES, JSP Carcinogênese química cutânea. *Rev. Bras. Cancerol.* 31 (4): 285-291, 1985.

14. \_\_\_\_ Análise morfológica comparativa da carcinogênese química cutânea entre camundongo (*Mus musculus*) e gerbilho (*Meriones unguiculatus*). *Rev. Bras. Cancerol.* 32 (1): 31-42, 1986.
15. GUZMÁN-SILVA, MA; ROSSI, MID; GUIMARÃES, JSP Observações preliminares sobre a patologia espontânea do gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Arq. Flum. Med. Vet.* 3 (3): 81-87, 1988.
16. HANDLER, AH; MAGALINI, SI; PAV, D Oncogenic studies on the Mongolian gerbil. *Cancer Res.* 26: 844-847, 1966.
17. HENNINGS, H; DEVOR, D; WENK, ML; SLAGA, TJ; FORMER, B; COLBURN, NH; BOWDEN, GT; ELGJO, K; YUSPA, SH Comparison of two-stage epidermal carcinogenesis initiated by 7,12-dimethylbenz(a)anthracene or N-ethyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine in newborn and adult SENCAR and BALB/c mice. *Cancer Res.* 41: 773-779, 1981.
18. LEAGRAVEREND, C; MANSOUR, B; NEBERT, DW; HOLLAND, JM Genetic differences in benzo(a)pyrene-initiated tumorigenesis in mouse skin. *Pharmacology*, 20 (5): 242-255, 1980.
19. MARKS, F & FURSTENBERGER, G Multistage tumor promotion in skin. In: FUJIKI, H et. al. eds. *Cellular Interactions by environmental tumor promoters*. Tokyo, Japan Sci. Soc. Press. Utrecht, VNU Science Press, 1984, p. 273-287.
20. MARSTON, JH & CHANG, MC The breeding, management and reproductive physiology of the Mongolian gerbil (*Meriones unguiculatus*). *Lab. Anim. Care*, 15 (1): 34-48, 1965.
21. MCDONALD, CJ; QUEVEDO, JrWC; IENIEKI, TC; FAUSTO, N Role of melanocytes in responses of the skin of Mongolian gerbils to chemical carcinogens. *J. Invest. Dermatol.* 54:92, 1970.
22. MECKLEY, PE & ZWICKER, GM Naturally-occurring neoplasms in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *Lab. Anim.* 13: 203-206, 1979.
23. PAWLOWSKI, A; HABERMAN, HF; MENON, TA Skin melanomas induced by 7,12-dimethylbenzanthracene in albino guinea pigs and its similarities to skin melanomas of humans. *Cancer Res.* 40 (10): 3652-3660, 1980.
24. QUEVEDO, JrWC; BIENIEKI, TC; FAUSTO, N; MAGALINI, SI Induction of pigmentary changes in the skin of the Mongolian gerbil by chemical carcinogens. *Experientia*, 24:585-586, 1968.
25. QUEVEDO, JrWC; FLEISCHMANN, RD; DYCKMAN, J; JIMBOW, K; BIENIEKI, TC Ultrastructural observations on DMBA-induced dermal hyperpigmentation and black nevus-like tumors in the Mongolian gerbil. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.* 163(4): 461-468, 1980.
26. REINERS, J; NESNOW, S; SLAGA, TJ Murine susceptibility to two-stage carcinogenesis is influenced by the agent used for promotion. *Carcinogenesis*, 5 (3): 301-307, 1984.
27. RINGLER, DH; LAY, DM; ABRAMS, GD Spontaneous neoplasms in aging Gerbillinae. *Lab. Anim. Sci.* 22 (3): 407-414, 1972.
28. ROWE, SE; SIMMONS, JL; RINGLER, DH; LAY, DM Spontaneous neoplasms in aging Gerbillinae. *Vet. Pathol.* 11: 38-51, 1974.
29. RYSER, HJP Chemical carcinogenesis. *New Engl. Med.* 285 (13): 721-734, 1971.
30. SCHWENTKER, V The gerbil. A new laboratory animal. *Illinois Vet.* 6: 5-9, 1963.
31. SCRIBNER, JD & SUSS, R Tumor initiation and promotion. *Int. Rev. exp. Pathol.* 18: 137-198, 1978.
32. SHUBIK, P Studies on the promoting phase in the stages of carcinogenesis in mice, rats, rabbits and guinea pigs. *Cancer Res.* 10: 13-17, 1950.
33. SHUMAKER, RC; PAIK, SK; HOUSER, WD Tumors in Gerbillinae: a literature review and report of a case. *Lab. Anim. Sci.* 24 (4): 688-690, 1974.
34. SLAGA, TJ & BUTLER, AP Cellular and biochemical changes during multistage skin tumor promotion. In: FUJIKI, H et al. eds. *Cellular Interactions by environmental tumor promoters*. Tokyo, Japan Sci. Soc. Press. Utrecht, VNU Science Press, 1984. p. 291-301.
35. SLAGA, RJ; FISCHER, SM; WEEKS, CE; KLEIN-SZANTO, APJ; REINERS, J Studies on the mechanisms involved in multistage carcinogenesis in mouse skin. *J. cell. Biochem.* 18 (1):99-119, 1982.
36. SLAGA, TJ; FISCHER, SM; WEEKS, CE; NELSON, K; MAMRACK, M; KLEIN-SZANTO, APJ Specificity and mechanism(s) of promoter inhibitors in multistage promotion. *Carcinog. Compr. Surv.* 7: 19-34, 1982.
37. SLAGA, TJ & KLEIN-SZANTO, APJ Initiation-promotion versus complete skin carcinogenesis in mice: importance of dark basal keratinocytes (stem cells). *Cancer Invest.* 1 (5): 425-436, 1983.
38. STENBAK, F Skin carcinogenesis as a model system: observations on species, strain and tissue sensitivity to 7,12-dimethylbenz(a)anthracene with or without promotion from croton oil. *Acta Pharmacol. Toxicol.* 46 (2): 89-97, 1980.
39. VAN DUUREN, BL Tumor promoting in two-stage carcinogenesis. *Prog. exp. Tumor Res.* 11: 51-68, 1969.
40. VAN DUUREN, BL; SIVAK, A; SEGAL, A; SEIDMAN, I; KATZ, C Dose-response studies with a pure tumor-promoting agent phorbol myristate acetate. *Cancer Res.* 33:2166-2172, 1973.
41. VINCENT, AL & ASH, LR Further observations on spontaneous neoplasms in the Mongolian gerbil, *Meriones unguiculatus*. *Lab. Anim. Sci.* 28 (3): 297-300, 1978.
42. WAYSS, K; REYES-MAYES, D; VOLM, M Chemical carcinogenesis by the two-stage protocol in the skin of *Mastomys natalensis* (Muridae) using topical initiation with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene and topical promotion with 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *Virchows Arch. (Cell Pathol.)*, 38: 13-21, 1981.
43. WEINSTEIN, IB & TROLL, W National Cancer Institute workshop on tumor promotion and cofactors in carcinogenesis. *Cancer Res.* 37: 3461-3463, 1977.
44. YUSPA, SH; HENNINGS, H; SAFFIOTTI, U Cutaneous chemical carcinogenesis: past, present and future. *J. Invest. Dermatol.* 67: 119-208, 1976.

## **Dia Nacional de Combate ao Fumo**

A Lei Federal nº 7488 de 11.06.86 instituiu o Dia 29 de Agosto como o DIA NACIONAL DE COMBATE AO FUMO. Conclamamos os médicos e demais profissionais de saúde a participarem ativamente da luta contra o tabagismo, para que possamos atingir plenamente a meta: "Saúde para todos no ano 2000".