

## **Avaliação comparativa do efeito carcinogênico de anticoncepcionais orais combinados de segunda e terceira geração em *Drosophila melanogaster***

**Comparative evaluation of the carcinogenic effect of second and third generation combined oral contraceptives in *Drosophila melanogaster***

**Evaluación comparativa del efecto cancerígeno de los anticonceptivos orales combinados de segunda y tercera generación en *Drosophila melanogaster***

Recebido: 16/09/2023 | Revisado: 24/10/2023 | Aceitado: 12/01/2024 | Publicado: 15/01/2024

**Giovana Vilela Rocha**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6552-9050>  
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil  
E-mail: [giovana@unipam.edu.br](mailto:giovana@unipam.edu.br)

**Adriano Pereira Daniel**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-5155-8368>  
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil  
E-mail: [adrianodaniel@unipam.edu.br](mailto:adrianodaniel@unipam.edu.br)

**Priscila Capelari Orsolin**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-7366-7437>  
Centro Universitário de Patos de Minas  
E-mail: [priscilaco@unipam.edu.br](mailto:priscilaco@unipam.edu.br)

**Flávio Rocha Gil**

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2797-6030>  
Centro Universitário de Patos de Minas, Brasil  
E-mail: [flaviogil@unipam.edu.br](mailto:flaviogil@unipam.edu.br)

### **Resumo**

**Objetivo:** O objetivo desse trabalho consistiu em avaliar comparativamente o efeito carcinogênico dos anticoncepcionais combinados com progestágenos levonorgestrel (segunda geração) e desogestrel (terceira geração), por meio do teste para detecção de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster*. **Metodologia:** Para tal foram preparadas três concentrações do anticoncepcional combinado com etinilestradiol e levonorgestrel (C1- 0,78/ 3,9mcg/mL; C2- 1,56/ 7,8mcg/mL e C3- 3,12/ 15,6mcg/mL) e três concentrações do anticoncepcional combinado com etinilestradiol e desogestrel (C1- 0,78/ 3,9mcg/mL; C2- 1,56/ 7,8mcg/mL e C3-3,12/ 15,6mcg/mL), sendo todas testadas isoladamente. Para controle negativo foi utilizado Tween 80 (1%) e, para controle positivo, doxorrubicina (0,4 mM). **Resultados:** O efeito carcinogênico foi observado apenas na maior concentração do anticoncepcional combinado de etinilestradiol com desogestrel (C3). Todas as concentrações dos anticoncepcionais combinados com etinilestradiol e levonorgestrel (C1, C2 e C3) e as menores concentrações de etinilestradiol e desogestrel (C1 e C2) apresentaram frequências tumorais que não diferiram significativamente do controle negativo. **Conclusão:** Conclui-se que anticoncepcionais orais de terceira geração apresentaram potencial carcinogênico em *D. melanogaster*, em maiores concentrações.

**Palavras-chave:** Anticoncepcionais orais combinados; *Drosophila melanogaster*; Carcinogênese; Neoplasias.

### **Abstract**

**Objectives:** The objective of this work is to comparatively evaluate the carcinogenic effect of contraceptives combined with the progestins levonorgestrel (second generation) and desogestrel (third generation), through the test for detection of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster*. **Methods:** To this end, three concentrations of the contraceptive combined with ethinylestradiol and levonorgestrel were prepared (C1-0.78/ 3.9 mcg/mL; C2-1.56/ 7.8 mcg/mL and C3-3.12/15.6 mcg/mL) and three concentrations of contraceptive combined with ethinylestradiol and desogestrel (C1-0.78/ 3.9mcg/mL; C2-1.56/ 7.8 mcg/mL and C3-3.12/15.6 mcg/mL), all of which tested isolated from each other. For negative control, Tween 80 (1%) was used, and for positive control, doxorubicin (0.4 mM). **Results:** The carcinogenic effect was observed only at the highest concentration of the combined contraceptive of ethyniestradiol with desogestrel (C3). All combined contraceptive concentrations of ethinylestradiol and levonorgestrel (C1, C2 and C3) and the lowest concentrations of ethinylestradiol and desogestrel (C1 and C2) had tumor frequencies that did not differ significantly from the negative control. **Conclusion:** It was concluded that third-generation oral contraceptives showed carcinogenic potential in *D. melanogaster*, but only at higher concentrations.

**Keywords:** Combined oral contraceptives; *Drosophila melanogaster*; Carcinogenesis; Neoplasms.

## Resumen

**Objetivo:** El objetivo de este trabajo fue evaluar comparativamente el efecto cancerígeno de los anticonceptivos combinados con progestágenos levonorgestrel (segunda generación) y desogestrel (tercera generación), utilizando la prueba para detectar tumores epiteliales en *Drosophila melanogaster*. **Metodología:** Para ello se prepararon tres concentraciones del anticonceptivo combinado con etinilestradiol y levonorgestrel (C1- 0.78/ 3.9mcg/mL; C2- 1.56/ 7.8mcg/mL y C3- 3.12/ 15.6mcg/mL mL) y tres concentraciones del anticonceptivo combinado con etinilestradiol y desogestrel (C1- 0,78/ 3,9 mcg/mL; C2- 1,56/ 7,8 mcg/mL y C3- 3,12/ 15,6 mcg/mL), todos probados por separado. Para control negativo se utilizó Tween 80 (1%) y, para control positivo, doxorrubicina (0,4 mM). **Resultados:** El efecto cancerígeno se observó sólo con la concentración más alta del anticonceptivo combinado de etinilestradiol con desogestrel (C3). Todas las concentraciones de anticonceptivos combinados con etinilestradiol y levonorgestrel (C1, C2 y C3) y las concentraciones más bajas de etinilestradiol y desogestrel (C1 y C2) presentaron frecuencias tumorales que no difirieron significativamente del control negativo. **Conclusión:** Se concluye que los anticonceptivos orales de tercera generación mostraron potencial carcinogénico en *D. melanogaster*, en concentraciones más altas.

**Palabras clave:** Anticonceptivos orales combinados; *Drosophila melanogaster*; Carcinogénesis; Neoplasias.

## 1. Introdução

Com o advento do planejamento familiar e o grande valor que foi dado à mulher no mercado de trabalho, a gravidez se tornou um evento mais tardio na sociedade moderna (WHO, 2000). Diante dessa realidade, o uso de métodos contraceptivos tem se mostrado uma variável intermediária de grande importância para a determinação dos níveis de fecundidade, tornando-se indispensável para o cenário da sociedade atual (Brandt *et al.*, 2018).

Em 1960, nos Estados Unidos, foi autorizada pela Food and Drug Administration (FDA) a comercialização da primeira pílula anticoncepcional, chamada Enovid. Em seguida, as pílulas se disseminaram pelo mundo, acarretando várias discussões. Notícias demonstravam a rápida crescente na busca por métodos contraceptivos (Bonan *et al.*, 2017).

Atualmente, os métodos contraceptivos mais usados têm como base hormônios, que alteram o ciclo menstrual, gerando desde a não proliferação do endométrio até a anovulação. Segundo Oliveira e colaboradores (2015), a maioria dos anticoncepcionais hormonais está sendo reconhecida não só pela sua capacidade contraceptiva, mas também por proporcionar outros benefícios para a saúde. Entretanto, como os efeitos dessas substâncias ocorrem de forma disseminada no corpo da mulher, consequências indesejáveis também podem ocorrer, como o ganho de peso e a maior probabilidade para o desenvolvimento de alguns tipos de neoplasias (Callegari *et al.*, 2014).

Outros efeitos colaterais já descritos incluem alterações imunológicas, metabólicas, vasculares, renais/urinárias e distúrbios dos sistemas nervoso central e reprodutor (Mitre *et al.*, 2006). Os efeitos sistêmicos podem ser exemplificados pelo risco elevado para trombose arterial nas mulheres que tem predisposição às doenças cardiovasculares e utilizam a pílula. Esse efeito é atribuído mais diretamente ao estrogênio que faz parte dos componentes dos anticoncepcionais combinados (Brito *et al.*, 2011).

A relação entre os métodos contraceptivos hormonais e o desenvolvimento de neoplasias está relacionada com o fato de os hormônios conseguirem atuar no controle do ciclo celular. A falha no controle e regulação desse ciclo é um marco importante para o desenvolvimento de neoplasias, que é o processo que gera células que não tem a diferenciação adequada e, assim, não respondem ao processo fisiológico, sendo não responsivas a apoptose (Kumar *et al.*, 2010).

A falha no ciclo celular pode ter como consequência a geração de uma célula cancerígena, que tem características relacionadas à imortalidade e à capacidade de disseminação e infiltração em outros tecidos. O processo de malignidade celular ocorre com a formação de oncogenes e com a falha de genes supressores de tumor. A incidência dos eventos que causam o câncer pode ter como fator desencadeante a exposição a agentes mutagênicos, como os hormônios presentes nos anticoncepcionais (Nussbaum *et al.*, 2008).

Mediante as possíveis consequências prejudiciais dos efeitos sistêmicos dos anticoncepcionais hormonais, foram desenvolvidas técnicas para que os efeitos colaterais da anticoncepção tenham menos repercussões na vida da mulher. Desse

modo, houve uma evolução dos anticoncepcionais, que são classificados de acordo com geração. Com o desenvolvimento de novas gerações, pretende-se que tenham menos efeitos colaterais (Brandt *et al.*, 2018). Diante disso, os contraceptivos orais combinados (COC) podem ser classificados pela dose estrogênica, denominados pílulas de alta ou baixa dose, ou pelo progestagênio, denominados de primeira, segunda ou terceira geração. O etinilestradiol é o estrogênio usado na maior parte dos COCs. Doses menores de 50 mcg de etinilestradiol associado ao progestagênio levonorgestrel caracterizam as pílulas de segunda geração. Na presença de desogestrel ou gestodeno, as pílulas são denominadas de terceira geração (Finotti, 2015).

Esses progestágenos possuem propriedades características, que os diferenciam entre si, fazendo com que produzam efeitos metabólicos diferentes. Tais diferenças são sutis, mas suficientemente importantes para determinar reações variadas (Finotti, 2015). Embora esses anticoncepcionais sejam bastante utilizados, nenhuma pesquisa foi realizada, até o momento, com a finalidade de avaliar de forma comparativa o efeito carcinogênico, em *Drosophila melanogaster*, de anticoncepcionais orais combinados de segunda e terceira geração.

Apesar disso, estudos apontam que os contraceptivos orais combinados obtêm o maior potencial de desenvolvimento do câncer de mama. Tal argumento ganha força em decorrência da teoria do estrogênio e da progestágeno no desenvolvimento dessa neoplasia, ao afirmar que a combinação hormonal induz a proliferação celular de maneira mais acentuada do que apenas o estrogênio (Andrade *et al.*, 2023).

A partir disso, como a descrição dos efeitos de anticoncepcionais contendo levonorgestrel e desogestrel com relação à indução de câncer ainda apresenta lacunas, é necessária a realização de novas pesquisas envolvendo esses anticoncepcionais. Surge então, a importância de realizar o *Epithelial Tumor Test* (ETT), que emprega a *D. melanogaster* como organismo teste, devido à elevada similaridade de seus genes com os de humanos, fornecendo bases sólidas para estudo dessa doença (Düsmann *et al.*, 2012). A partir desse contexto, o presente estudo teve como objetivo avaliar comparativamente o efeito carcinogênico de dois anticoncepcionais orais combinados, um contendo levonorgestrel e outro contendo desogestrel, por meio do ETT em células somáticas de *D. melanogaster*.

## 2. Metodologia

O presente estudo foi realizado no Laboratório de Citogenética e Mutagênese (LABCIM) do Centro Universitário de Patos de Minas (UNIPAM), a partir da realização do teste de detecção de tumores epiteliais (ETT) em *Drosophila melanogaster*. Trata-se de um estudo laboratorial, de caráter experimental, com abordagem quantitativa, finalidade aplicada e objetivo descritivo exploratório (Pereira, 2018).

### 2.1 Anticoncepcionais Orais Combinados

O etinilestradiol combinado ao levonorgestrel foi obtido por meio do anticoncepcional combinado Ciclo 21® (CAS 1.0497.0286), que é um medicamento de uso oral, vendido sob a forma de comprimido, sendo reconstituído em diluente adequado, para obter-se uma solução límpida. Apresenta-se em drágeas contendo 0,15 mg de levonorgestrel e 0,03mg de etinilestradiol. O medicamento foi mantido ao abrigo da luz, protegido da umidade excessiva, na sua embalagem original, em temperaturas inferiores a 25°C. O medicamento que foi usado nesse trabalho é fabricado por União Química Farmacêutica Nacional S.A. (Ciclo 21®, 2014).

O etinilestradiol combinado ao desogestrel foi obtido por meio do Primera® (CAS 105730217), que é um anticoncepcional combinado de uso oral, vendido sob a forma de comprimido, sendo reconstituído em diluente adequado, para obter-se uma solução límpida. Apresenta-se em drágeas contendo 150 mcg de desogestrel e 30mcg de etinilestradiol. O medicamento foi mantido ao abrigo da luz, protegido da umidade excessiva, na sua embalagem original, em temperaturas

inferiores a 25°C. O medicamento que foi utilizado no experimento do presente trabalho é fabricado por Aché Laboratórios Farmacêuticos AS (Primera®, 2019).

As concentrações de ambos os anticoncepcionais selecionadas para a realização do experimento foram baseadas no estudo desenvolvido por D'Amato (2018), também em *Drosophila melanogaster*.

## 2.2 Cloridrato de Doxorrubicina

O controle positivo utilizado foi o Cloridrato de Doxorrubicina (DXR), que é comercializado como Fauldoxo®. Essa escolha tem como premissa a ação carcinogênica e genotóxica da substância em *D. melanogaster* (Vasconcelos *et al.*, 2017). O uso cotidiano da DXR é como antibiótico antineoplásico antracíclico isolado de culturas de *Streptomyces peucetius*, que produz seus efeitos por meio de mecanismos diretos sobre o DNA. Ademais, tem o seu uso como quimioterápico potente no tratamento de diversas neoplasias, mas se faz necessário o monitoramento, uma vez que apresenta toxicidade cardíaca (Candido *et al.*, 2013). O referido composto (CAS 23214-92-8) foi utilizado na concentração de 0,4 mM. O produto é registrado e fabricado por Libbs Farmacêutica Ltda (Fauldoxo®, 2017).

## 2.3 Teste para Detecção de Clones de Tumores Epiteliais em *Drosophila Melanogaster*

Foram utilizadas duas linhagens mutantes de *D. melanogaster* (*wts e mwh*) portadoras dos marcadores genéticos warts (*wts,3-100*) e *multiple wing hairs (mwh, 3-03)*, respectivamente. Os estoques dessas linhagens foram cultivados no Laboratório de Citogenética e Mutagênese do Centro Universitário de Patos de Minas - UNIPAM, mantidos em frascos de ¼ de litro contendo o meio de cultura da *Drosophila melanogaster*, com 820 mL de água; 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*); 11g de ágar, 156g de banana e 1g de nipagin. A temperatura é mantida em 25°C e umidade a 60%.

Larvas heterozigotas *wts+/+mwh* foram obtidas a partir do cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, Sb<sup>1</sup>* com machos *mwh/mwh*. Desse cruzamento, todas as larvas foram tratadas com etinilestradiol + levonorgestrel e etinilestradiol + desogestrel, isoladamente (em três diferentes concentrações, de cada). Todavia, foram selecionadas para análise apenas as moscas adultas que não apresentavam o balanceador cromossômico (*TM3, Sb<sup>1</sup>*), com fenótipo de pelos longos e finos. As moscas adultas que apresentavam pelos curtos e grossos foram descartadas.

## 2.4 Procedimento experimental

Após o cruzamento, a coleta dos ovos descendentes do cruzamento especificado acima ocorreu durante um período de aproximadamente 8 horas, em frascos contendo meio de cultura próprio para postura, uma base sólida de ágar (3% de ágar em água) e uma camada de fermento biológico suplementado com sacarose. Depois de passado um período de 72±4 horas, as larvas foram lavadas com água osmose reversa (ultrapura) e, posteriormente, foram coletadas com auxílio de uma peneira fina e alocadas em frascos de vidro com 1,5 g de meio de purê de batatas instantâneo. A cada recipiente foram adicionadas três diferentes concentrações de etinilestradiol + levonorgestrel (C1- 0,78/ 3,9 mcg/mL; C2- 1,56/ 7,8 mcg/mL e C3- 3,12/ 15,6 mcg/mL), três concentrações de etinilestradiol + desogestrel (C1- 0,78/ 3,9 mcg/mL; C2- 1,56/ 7,8 mcg/mL e C3- 3,12/ 15,6 mcg/mL), Tween 80 (1%), DXR (0,4 mM) e água ultrapura, todos isoladamente.

Após metamorfose, as moscas foram recolhidas e armazenadas em etanol 70%. Para a análise de tumores epiteliais, 779 adultos eclodidos ao todo foram colhidos entre todas as concentrações e analisados sob estereomicroscópio, com auxílio de glicerina, placa de Petri e pinças entomológicas.

## 2.5 Análise Estatística

As diferenças estatísticas entre as frequências de tumores das três concentrações testadas, dos dois COCs e os controles (positivo e negativo) foram calculadas utilizando o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney ( $p \leq 0,05$ ).

## 3. Resultados e Discussão

A avaliação do potencial carcinogênico dos COCs foi realizada por meio do *Epithelial Tumor Test* (ETT) em células de *D. melanogaster*. O experimento foi realizado em quadruplicata, ou seja, cada concentração foi distribuída em quatro frascos (repetições), nas quais foram alocadas quantidades aproximadamente iguais de indivíduos. Após o nascimento, as moscas foram selecionadas, uma vez que indivíduos com fenótipo de pelo curto devem ser descartadas e não são incluídas nas análises. Todos os indivíduos de pelo longo foram analisados. Segundo D'Amato (2018), no ensaio de detecção de clones de tumor, apenas a progênie trans-heterozigota marcada (*mwh+/+wts*) (MH) é analisada. A identificação da progênie é feita mediante a expressão do balanceador cromossômico *TM3, Sb<sup>1</sup>* (linhagem heterozigota balanceada, BH), que apresenta, como fenótipo, pelos curtos e espessos no corpo da mosca, o que difere da progênie MH, que apresenta pelos selvagens do tipo longos e finos no corpo da mosca.

As quantidades exatas de indivíduos de pelo longo analisados e os resultados do estudo estão expressos na Tabela 1 e as frequências de tumores em cada concentração testada podem ser observadas no Gráfico 1. Observa-se que apenas a concentração C3 de etinilestradiol combinado ao desogestrel apresentou frequência tumoral significativamente maior que o controle negativo ( $p < 0,05$ ). Em tal concentração a frequência relativa de tumores foi de 0,64, estatisticamente superior à de frequência de 0,26, observada no controle negativo, o que denota efeito carcinogênico.

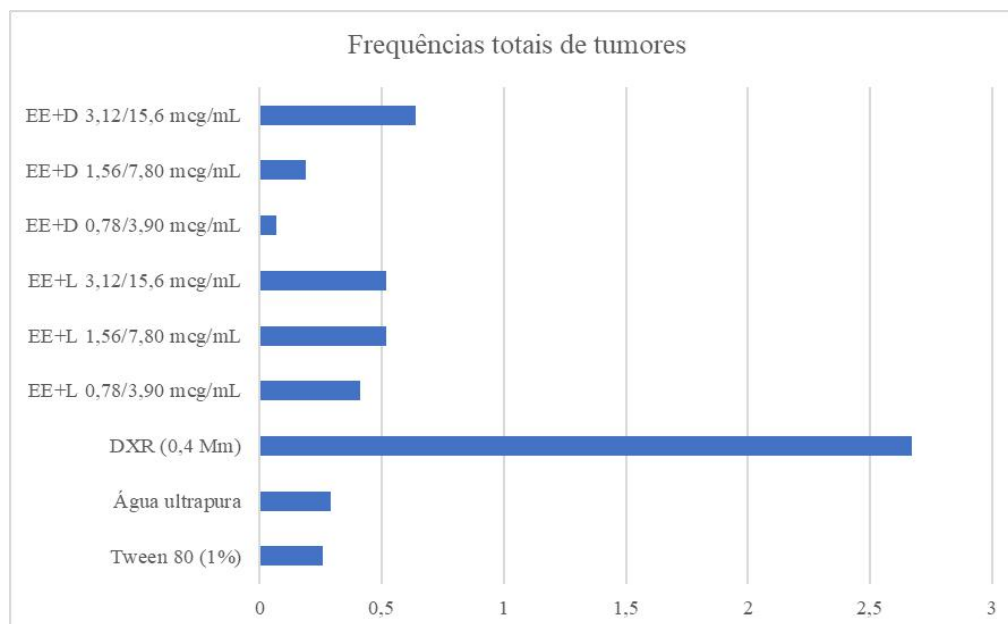
Todas as concentrações dos anticoncepcionais orais combinados contendo etinilestradiol + levonorgestrel (C1, C2 e C3) e as duas menores concentrações contendo etinilestradiol e desogestrel (C1 e C2) apresentaram frequências tumorais que não diferiram significativamente do controle negativo ( $p > 0,05$ ), como elucidado a seguir na Tabela 1 e no Gráfico 1.

**Tabela 1** - Frequências de clones de tumores observados em *D. melanogaster*, heterozigotas para o gene supressor de tumor *wts*, tratadas com diferentes concentrações de etinilestradiol combinado com levonorgestrel; etinilestradiol combinado com desogestrel e controles.

Tratamentos	Nº de Moscas	Número de Tumores Analisados							Frequência
		Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halter	Total	
Tween 80 (1%)	77	0	1	8	10	1	0	20	0,26
Água ultrapura	85	0	2	7	11	3	2	25	0,29
DXR (0,4 Mm)	100	4	13	118	77	56	9	267	2,67*
EE+L 0,78/3,90 mcg/mL	82	0	6	6	20	1	1	34	0,41
EE+L 1,56/7,80 mcg/mL	86	0	10	7	16	10	2	45	0,52
EE+L 3,12/15,6 mcg/mL	82	0	4	5	26	7	1	43	0,52
EE+D 0,78/3,90 mcg/mL	80	0	4	0	0	1	1	6	0,07
EE+D 1,56/7,80 mcg/mL	87	0	5	3	6	2	1	17	0,19
EE+D 3,12/15,6 mcg/mL	100	0	5	17	34	4	4	64	0,64*

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância  $p \leq 0,05$ . \* Valor considerado diferente do controle negativo ( $p < 0,05$ ). EE+L= Etinilestradiol + levonorgestrel; EE+D+ Etinilestradiol +desogestrel. Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

**Gráfico 1** - Frequências de tumores observadas em *D. melanogaster*, heterozigotas para o gene supressor de tumor *wts*, tratadas com diferentes concentrações de etinilestradiol combinado com levonorgestrel; etinilestradiol combinado com desogestrel e controles.



Fonte: Elaborado pelos autores (2021).

Ademais, o controle positivo induziu nas linhagens uma frequência de 2,67 tumores por mosca, um valor estatisticamente superior ao controle negativo, validando a resposta a indução de tumores. Segundo Rivankar (2014), a doxorubicina é um fármaco que pertence à família das antraciclinas, uma classe de drogas anticâncer extraída da estreptomicina. Embora o mecanismo de ação deste fármaco no câncer seja complexo, sabe-se que ele interfere na síntese de DNA e RNA, inibe a enzima topoisomerase II, além de induzir a produção de radicais livres que prejudicam a membrana celular e o DNA.

Com relação aos contraceptivos orais, Dragoman (2014) ressalta que a introdução da pílula anticoncepcional como um método anticoncepcional eficaz e independente do coito foi um marco de saúde pública no século passado. Com o tempo, as formulações de anticoncepcionais orais combinados e os regimes de ingestão de pílulas evoluíram com maior segurança e tolerabilidade, mantendo a eficácia contraceptiva. Além da proteção contra a gravidez, o uso de contracepção oral confere uma série de benefícios não contraceptivos significativos às usuárias. Entretanto, o uso de COC também está associado a riscos bem estudados. Os efeitos colaterais comuns são geralmente autolimitados e melhoram com o aumento da duração do uso, enquanto eventos adversos graves, incluindo tromboembolismo venoso, são raros entre usuários saudáveis.

Joosten *et al.* (2004) reforçam que os esteroides hormonais têm um uso amplo na medicina e seus efeitos colaterais são continuamente debatidos. A possível atividade genotóxica dos esteroides tem sido objeto de muitas investigações e dados epidemiológicos sobre o câncer parecem correlacionar a exposição a esses hormônios com a indução de alguns tipos de neoplasias.

Os estudos dos mecanismos da indução de neoplasias relacionados a hormônios evoluíram de forma considerável nos últimos anos, uma vez que tem o seu uso com múltiplas aplicações na medicina e, segundo Silva *et al.* (2004), os hormônios esteroides tem na sua característica uma possível atividade genotóxica, gerando lesão no aparato nuclear da célula e desencadeando a possível indução de neoplasias.



Os estudos sobre a indução de neoplasias por meio de hormônios presentes nos contraceptivos orais ainda estão em desenvolvimento, mas uma hipótese que ajuda justificar a presença de carcinogênese na maior concentração de desogestrel pode ser justificada pela produção excessiva de radicais livres que ocorre com o uso de progestágenos, como foi evidenciado no estudo de Miyazaki *et al.* (1991). Em tal estudo foi evidenciado um aumento no risco de carcinoma mamário com o uso de progestágenos. Entretanto, em nosso estudo foi utilizada a combinação do progestágeno com o estradiol, não sendo possível excluir um sinergismo ou oposição dos hormônios.

O trabalho em questão evidencia o efeito carcinogênico de progestágenos de terceira geração, intermediado pela perda da heterozigose do marcador *wts* na concentração mais alta. Com relação ao COC com levonorgestrel, os resultados revelaram ausência de carcinogênese. Silva e Oliveira (2017) também não observaram efeito carcinogênico do levonorgestrel (isolado) nas concentrações testadas (12, 25 e 37,5 µg/mL) em *D. melanogaster*. Entretanto, quando associado à DXR, o levonorgestrel exerceu efeito modulador sobre a ação da DXR, promovendo aumento significativo nas frequências de tumores.

D' Amato (2018) avaliou os efeitos tóxico e carcinogênico de diferentes associações dos hormônios etinilestradiol e levonorgestrel em *D. melanogaster* e observou efeito tóxico em altas concentração e também efeito carcinogênico mesmo em concentrações menores às adotadas em nosso estudo. Em consonância a isso, Soini *et al.* (2014) detectaram uma correlação positiva entre o uso de levonorgestrel e a indução de câncer de mama em mulheres com 30 a 49 anos na Finlândia.

Segundo Shchelkunova e Morozov (2016) a progesterona e seus análogos podem esclarecer efeitos opostos na proliferação celular, apoptose e transição epitelial – mesenquimal, levando a maior motilidade celular e metástase. Seu efeito final é determinado por vários fatores desde a estrutura e concentração do esteroide, até enzimas metabolizadoras.

De forma oposta, Schindler, (2012). reporta que o uso prolongado de COC diminui o risco de câncer de endométrio por ter efeito predominante de atrofia endometrial. A redução de inflamação no endométrio pode também explicar a menor incidência de carcinoma endometrial em usuárias desses contraceptivos. Além disso, o emprego de COC associa-se à redução significativa de risco de câncer de ovário, provavelmente por inibir a ovulação.

Abou-eisha e El-din (2018) avaliaram a possível atividade genotóxica e carcinogênica *in vivo* associada à exposição ao norgestrel em *D. melanogaster*, por meio dos testes para detecção de mutação e recombinação somática (SMART) e o teste cometa. Quatro doses experimentais de norgestrel foram usadas (variando de 0,24 µM a 16 µM) e o norgestrel foi considerado não genotóxico em todas as concentrações testadas, mesmo no nível de dose mais alto de 16 µM e falhou em aumentar a frequência de tumores nas células somáticas de *D. melanogaster*. Segundo os autores, esses resultados reforçam a hipótese de que drogas esteroides podem atuar por meio de um mecanismo carcinogênico não genotóxico em que as propriedades carcinogênicas ocorrem por estimulação direta da proliferação celular por meio de um mecanismo mediado por receptor de esteroides. Além disso, os resultados podem contribuir para destacar a importância do norgestrel como uma potente droga neuroprotetora antioxidante.

No que se refere ao desogestrel, Scala *et al.* (2013) reforçam que é um composto versátil que pode ser usado como anticoncepcional só de progestágeno ou em combinação com o etinilestradiol, e diferentes formulações estão disponíveis. Na contracepção, o desogestrel é geralmente bem tolerado, mas seu uso está associado ao risco dobrado de tromboembolismo venoso em comparação com os progestágenos de segunda geração. Embora ele seja eficaz na terapia de reposição hormonal, pode não representar a melhor escolha devido ao potencial maior risco de câncer de mama em comparação com a progesterona ou a didrogesterona.

Segundo Vlieg *et al.* (2009), em relação à seleção da formulação, a combinação etinilestradiol + levonorgestrel tem comprovada eficácia e algumas vantagens comparativas em termos de segurança. Não existe justificativa para o emprego de compostos com mais de 50 µg de etinilestradiol, pois os que têm menor concentração estrogênica (35, 30, 20 ou 15 µg)

apresentam eficácia similar e definido menor risco de fenômenos tromboembólicos e cardiovasculares. Levonorgestrel, contido em COCs de segunda geração, apresenta vantagens em relação a outros COC com progestógenos de terceira geração, especialmente pelo menor risco de fenômenos tromboembólicos. Embora a justificativa para a apresentação da vantagem em termos de segurança proposta pelos referidos autores associe-se aos desfechos tromboembólicos, os resultados descritos no presente estudo também revelam que, nas presentes condições experimentais, os COC contendo desogestrel apresentaram efeito carcinogênico em *D. melanogaster*, em concentrações mais altas.

#### 4. Considerações Finais

Partindo dos dados expostos no trabalho conclui-se que contraceptivos orais combinados contendo progestágenos de terceira geração (etinilestradiol + desogestrel) apresentaram potencial carcinogênico e *D. melanogaster*, mas apenas em maiores concentrações. Nas presentes condições experimentais, o uso de contraceptivos orais combinados contendo progestágeno de segunda geração (levonorgestrel) mostraram-se mais seguros em relação ao risco de desenvolvimento de tumores.

Ressalta-se a necessidade de novas investigações, incluindo outros organismos modelo e procedimentos experimentais *in vivo* e *in vitro* para confirmação do risco aqui sugerido.

#### Referências

- A, A., & El-din, A. E. (2018). Genotoxic and carcinogenic studies of norgestrel in *Drosophila Melanogaster*. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(10), 372. <https://doi.org/10.22159/ajper.2018.v11i10.27374>
- Andrade, V. S. M. de, Morais, M. C., Manguiera, C. D. M., & Silveira, S. J. S. da. (2023). A relação entre o uso de anticoncepcionais e o desenvolvimento do câncer de mama. *Facit Business and Technology Journal*, 2(47). <https://jnt1.websiteseuro.com/index.php/JNT/article/view/2668/1816>
- Brandt, G., Rodrigues De Oliveira, A., & Burci, L. (2018). Anticoncepcionais hormonais na atualidade: um novo paradigma para o planejamento familiar. *Revista Gestão e Saúde*. <https://www.herrero.com.br/files/revista/fileffb43b6252282b433e193bacf91d43f7.pdf>
- Brito, M. B., Nobre, F., & Vieira, C. S. (2011). Contracepção hormonal e sistema cardiovascular. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 96(4), 81–89. <https://doi.org/10.1590/s0066-782x2011005000022>.
- Bonan, C., Teixeira, L. A., & Nakano, A. R. (2017). Absorção e metabolização dos hormônios sexuais e sua transformação em tecnologias contraceptivas: percursos do pensamento médico no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, 22(1), 107–116. <https://doi.org/10.1590/1413-81232017221.26532016>
- Callegari, L. S., Darney, B. G., Godfrey, E. M., Sementi, O., Dunsmoor-Su, R., & Prager, S. W. (2014). Evidence-based selection of candidates for the levonorgestrel intrauterine device (IUD). *Journal of the American Board of Family Medicine: JABFM*, 27(1), 26–33. <https://doi.org/10.3122/jabfm.2014.01.130142>
- Candido, C. D.; Carlos, I. Z. & Peccinini, R. G. (2013) *Avaliação de Distribuição de doxorubicina incorporada em microemulsão lipídica em tecido tumoral e cardíaco em Camundongos*. (Dissertação- Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas). Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Araraquara, São Paulo, Brasil.
- Ciclo 21®: Levonorgestrel 0,15mg + Etinilestradiol 0,03 mg. (2014) *Bula de Remédio*. Farmacêutica Responsável: Florentino de Jesus Krencas. Embu-Guaçu, União Química Farmacêutica Nacional S/A.
- D'Amato, C. C. (2018). *Avaliação do potencial carcinogênico da associação dos hormônios etinilestradiol e levonorgestrel por meio do teste para detecção de tumor epitelial em Drosophila melanogaster*. (Trabalho de Conclusão de Curso Graduação em Ciências Biológicas), Universidade Federal de Uberlândia, Minas Gerais, Brasil. <https://repositorio.ufu.br/handle/123456789/23414>
- Dragoman, M. V. (2014). The combined oral contraceptive pill-recent developments, risks and benefits. *Best Practice & Research Clinical Obstetrics & Gynaecology*, 28(6), 825–834. <https://doi.org/10.1016/j.bpobgyn.2014.06.003>
- Düsman, E., Berti, A. P., Soares, L. C., & Vicentini, V. E. P. (2012). Principais agentes mutagênicos e carcinogênicos de exposição humana. *Revista de Saúde e Biologia*, 7(2). <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/943>
- Fauldoxo®: cloridrato de doxorubicina.(2017) *Bula de Remédio*. Farmacêutica Responsável: Cintia Delphino de Andrade. São Paulo, Libbs Farmacêutica Ltda.
- Finotti, M. (2015) *Manual de Anticoncepção da Febrasgo*. São Paulo.



Joosten HF, van Acker FA, van den Dobbelssteen DJ, Horbach GJ & Krajnc El. (2004) Genotoxicity of hormonal steroids. *Toxicology Letters*. 151(1). 113-34. 10.1016/j.toxlet.2004.01.018.

Kumar, V., Abbas, A., Fausto & N. J. Aster (2010). *Patologia: bases patológicas das doenças* (8a ed). Elsevier.

Schindler, A. E. (2012). Non-contraceptive benefits of oral hormonal contraceptives. *International Journal of Endocrinology and Metabolism*, 11(1). <https://doi.org/10.5812/ijem.4158>

Mitre, E. I., Figueira, A. S., Rocha, A. B., & Alves, S. M. C. (2006). Avaliações audiométrica e vestibular em mulheres que utilizam o método contraceptivo hormonal oral. *Revista Brasileira de Otorrinolaringologia*, 72, 350–354. <https://doi.org/10.1590/S0034-72992006000300009>

Miyazaki, T., Sueoka, K., Dharmarajan, A. M., Atlas, S. J., Bulkeley, G. B., & Wallach, E. E. (1991). Effect of inhibition of oxygen free radical on ovulation and progesterone production by the in-vitro perfused rabbit ovary. *Journal of Reproduction and Fertility*, 91(1), 207–212. <https://doi.org/10.1530/jrf.0.0910207>

Nussbaum, R. L., Mcinnes, R. R., Willard, H. F., Hamosh, A., Thompson, J. S., & Thompson, M. W. (2016). *Thompson & Thompson genetics in medicine*. (8th ed.). Elsevier/Saunders.

Oliveira, M. V. O., Lima, A. P. S. B., Conforti, D. B., Bittencourt, L. K., Oliveira, M. R. M., & Angelo, V. T. (2015) Benefícios não contraceptivos do sistema intrauterino liberador de levonorgestrel na endometriose. *Revista UNILUS Ensino e Pesquisa*, Santos, 12 (27).

Pereira A. S. et al. (2018). Metodologia da pesquisa científica. UFSM.

Primera®: Desogestrel 150 mcg + Etinilestradiol 30 mcg. (2019). *Bula do Remédio*. Farmacêutica Responsável: Dra. Ivanete A. Dias Assi. São Paulo, Eurofarma Laboratórios S.A.

Rivankar, S. (2014). An overview of doxorubicin formulations in cancer therapy. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 10(4), 853–858. <https://doi.org/10.4103/0973-1482.139267>

Scala, C., Maggiore, U., Valentino Remorgida, Pier Luigi Venturini, & Ferrero, S. (2013). Drug safety evaluation of desogestrel. *Expert Opinion on Drug Safety* 12(3), 433–444. <https://doi.org/10.1517/14740338.2013.788147>

Shchelkunova, T. A., & Morozov, I. A. (2016). Progestins and carcinogenesis. *Molecular Biology* 50(1), 10–26. <https://doi.org/10.7868/S0026898416010171>

Estrêla Da Silva, A., Serakides, R., Dantas Cassali, G., & Veterinário, M. (2004). Carcinogênese hormonal e neoplasias hormônio-dependentes Hormonal carcinogenesis and hormone dependents neoplasm. *Ciência Rural*, 34(2), 625–633.

Silva, M. R. & Oliveira R. G. S. (2017). Avaliação do efeito carcinogênico e anticarcinogênico do levonorgestrel através do teste de detecção de clones de tumores epiteliais em células somáticas de *Drosophila melanogaster*. *Revista Perquirere*. 14(1) 200-217.

Soini, T., Hurskainen, R., Grénman, S., Mäenpää, J., Paavonen, J., & Pukkala, E. (2014). Cancer Risk in Women Using the Levonorgestrel-Releasing Intrauterine System in Finland. *Obstetrics & Gynecology*, 124(2), 292–299. <https://doi.org/10.1097/aog.0000000000000356>

Vasconcelos, M. A., Orsolin, P. C., Silva-Oliveira, R. G., Nepomuceno, J. C., & Spanó, M. A. (2017). Assessment of the carcinogenic potential of high intense-sweeteners through the test for detection of epithelial tumor clones (warts) in *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, 101, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.12.028>

Van Hylckama Vlieg, A., Helmerhorst, F. M., Vandenbroucke, J. P., Doggen, C. J. M., & Rosendaal, F. R. (2009). The venous thrombotic risk of oral contraceptives, effects of oestrogen dose and progestogen type: results of the MEGA case-control study. *BMJ*, 339(aug13 2), 2921–2921. <https://doi.org/10.1136/bmj.b2921>

WHO, World Health Organization. (2000). *The World Health Report*. Health Systems: Improving Performance. Geneva.