

AVALIAÇÃO DO EFEITO QUIMIOPREVENTIVO DO EXTRATO DE GRAVIOLA (*Annona muricata*) EM UM MODELO EXPERIMENTAL DE CARCINOGENESE MAMÁRIA INDUZIDA EM RATOS WISTAR FÊMEAS

João Paulo Salvaterra Pasquini (PIBIC/CNPq/FA/Uem), Maria Clara Splendor, Tania Cristina Alexandrino Becker, Alice Maria de Souza Kaneshima, Edilson Nobuyoshi Kaneshima (Orientador), e-mail: enkaneshima@uem.br

Universidade Estadual de Maringá/Centro de Ciências da Saúde/Maringá-PR

Área e subárea do conhecimento conforme tabela do [CNPq/CAPES](#)
40105008 ANATOMIA PATOLÓGICA E PATOLOGIA CLÍNICA

Palavras-chave: Câncer de mama, *Annona muricata*, DMBA

Resumo:

O câncer de mama apresenta uma resposta variável aos tratamentos convencionais como a quimioterapia, braquiterapia e radioterapia. Isto tem despertado um grande interesse no estudo dos extratos de plantas, apresentando uma grande fonte de substâncias fitoquímicas, algumas com potencial quimiopreventivo. A *Annona muricata* (Graviola) pertence à família Annonaceae e algumas substâncias com atividade quimiopreventiva estão presentes nas folhas. Diante do exposto, neste projeto, foi avaliado o possível efeito quimiopreventivo do extrato bruto obtido a partir de folhas de *Annona muricata* (graviola) em um modelo experimental de carcinogênese mamária induzida em ratos Wistar fêmeas através do carcinógeno 7,12 – dimetilbezantraceno (DMBA). Os resultados apresentados demonstram que o tratamento com o DMBA não acarretou na formação de massas tumorais ou alterações histopatológicas sugestivas de carcinoma. No entanto, a presença de formação de hiperplasia ductal e indícios de apoptose celular, evidencia a necessidade de estudos adicionais para elucidar a formação destes processos patológicos.

Introdução

A neoplasia mamária é uma massa anormal de tecido, com crescimento excessivo e não coordenado decorrente de alterações genéticas e epigenéticas em uma variedade de genes envolvidos com os processos de crescimento, diferenciação celular e morte celular programada (Kumar et al., 2010).

A carcinogênese pode ser induzida pelo contato do material genético celular com agentes exógenos (agentes químicos, físicos ou biológicos), ocorrendo em múltiplas etapas que pode resultar na formação de massas tumorais (Farber, 1984).

O 7, 12 – dimetilbezantraceno (DMBA) é um hidrocarboneto policíclico aromático que após administrado é biotransformado no fígado e acumula-se nos adipócitos do tecido mamário, sendo muito utilizado em experimentos relacionados com a carcinogênese mamária (Macejová, & Brtko, 2001).

O câncer de mama apresenta uma resposta variável aos tratamentos convencionais como a quimioterapia, braquiterapia e radioterapia. Assim, houve um grande interesse no estudo dos extratos de plantas, uma vez que apresentam uma grande fonte de substâncias fitoquímicas, algumas com potencial para a atividade quimiopreventiva. Estas substâncias com atividade quimiopreventiva podem atuar em qualquer etapa da carcinogênese (iniciação, promoção e progressão) (Guilford & Pezzuto, 2008).

A *Annona muricata* (Graviola) pertence à família Annonaceae e algumas substâncias com atividade quimiopreventiva estão presentes nas folhas, como por exemplo, as acetogeninas com ação antitumoral.

Materiais e métodos

Foram utilizados 24 ratos Wistar fêmeas acomodadas em condições laboratoriais padronizadas (temperatura de $22\pm 1^\circ\text{C}$ e umidade relativa de $50\pm 10\%$) e, ciclo dia-noite de 12h com livre acesso à ração e água, sendo divididos em quatro grupos:

- Grupo 1: Tratamento prévio com 50 mg de extrato bruto durante 10 dias até a administração do DMBA (seis animais);
- Grupo 2: Tratamento prévio com 100 mg de extrato bruto durante 10 dias até a administração do DMBA (seis animais);
- Grupo 3: Controle positivo com DMBA (seis animais);
- Grupo 4: Controle negativo sem DMBA (seis animais).

A administração das substâncias ocorreu por gavagem e todos os animais foram pesados no primeiro dia do experimento e posteriormente a cada sete dias por um período de até vinte semanas, aos quais foram anestesiados com Tiopental 40 mg/Kg e eutanasiados, conforme descrito no Guia de Boas Práticas para Eutanásia do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV). Após a eutanásia, foi realizada a avaliação anato patológica dos animais, sendo primeiramente realizada uma análise macroscópica da mama. O tecido mamário foi dissecado e seccionado em partes, as quais foram fixadas em solução formalina 10% e encaminhadas para processamento histopatológico e confecção de lâminas. Os cortes histológicos, corados pela hematoxilina/eosina, foram analisados e classificados de acordo com as alterações histopatológicas observadas.

Resultados e Discussão

Os animais foram acompanhados diariamente e não foram observadas alterações comportamentais ou físicas, bem como lesões ou presença de massas tumorais palpáveis no tecido mamário.

Aparentemente, o tratamento com o Extrato Bruto (EB) de *Annona muricata* em 50,0 e 100,0 mg não foi tóxico para os animais, visto que ocorreu aumento progressivo dos pesos (figura 1). A média de perda de peso foi de aproximadamente 2 g por animal nas vinte semanas. Isso ocorreu nos grupos 1 e 2 e no grupo controle positivo com DMBA, havendo aumento médio gradual de peso após três e duas semanas, respectivamente. Já no grupo controle negativo sem DMBA, houve

apenas aumento de massa corpórea durante todo o experimento, com média de 9,0 gramas semanais, não apresentando alterações patológicas.

Todos os animais do controle positivo apresentaram diarreia e piloereção, decorrentes da administração do DMBA, fato que não levou nenhum animal a óbito.

Na análise histopatológica, todos os animais dos grupos 1, 2 e 3 apresentaram ectasia glandular e alguns apresentaram hiperplasia ductal ou suspeitas de apoptose, conforme apresentado na tabela 1. Entretanto, no grupo 4 não foi encontrada nenhuma alteração em análise.

Os resultados apresentados sugerem que o tratamento com o DMBA não formou massas tumorais ou alterações sugestivas de carcinoma. No entanto, a presença hiperplasia ductal e indícios de apoptose celular, evidenciam a necessidade de estudos adicionais para elucidar a formação destes processos patológicos.

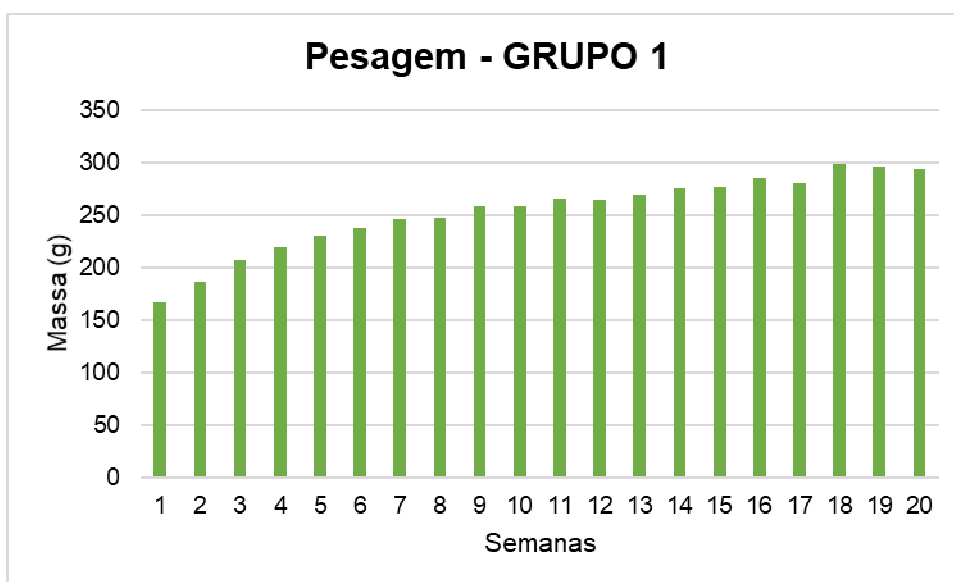


Figura 1: Análise ponderal do grupo 1: pré-tratamento com 50,0 mg de EB de *Annona muricata* no decorrer das 20 semanas.

Tabela1: Alterações celulares encontradas nas mamas das ratas do grupo 1 – 50 mg extrato pré DMBA

Caixas	Ratas	Ectasia	Hiperplasia ductal	Carcinoma	Apoptose
Cx 1	Rata 1	Presente	Presente	Ausente	Presente
	Rata 2	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
	Rata 3	Presente	Ausente	Ausente	Ausente
Cx 2	Rata 1	Presente	Presente	Ausente	Ausente
	Rata 2	Presente	Presente	Ausente	Ausente
	Rata 3	Presente	Ausente	Ausente	Ausente

Conclusões

Os resultados apresentados demonstram que o tratamento com o DMBA não acarretou na formação de massas tumorais ou alterações histopatológicas sugestivas de carcinoma. No entanto, a presença de formação de hiperplasia ductal e indícios de apoptose celular, evidencia a necessidade de investigar os motivos pelos quais estes processos patológicos foram formados.

Agradecimentos

Ao programa PIBIC/CNPq/FA/UEM pela bolsa concedida.

Referências

Farber, E. The multistep nature of cancer development. *Cancer Research* 44:4217-4223, 1984.

Guilford, J.M. & Pezzuto, J.M. Natural products as inhibitors of carcinogenesis. *Expert Opin Investig Drugs*. 17(9):1341-52,2008.

Kumar, V.; Abbas, A.K.; Fausto, N.; Aster, J.C. Robbins e Cotran: Bases patológicas das doenças. Rio de Janeiro:Elsevier, 2010.

Macejová, D.; Brtko, J. Chemically induced carcinogenesis: A comparison of 1-methyl-1-nitrosourea, 7,12-dimethylbenzanthracene, diethylnitroso-amine and azoxymethan models (minireview). *Endocrine Regulations* 35:53-59, 2001.