DETERMINAÇÃO DAS ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS NO CÓLON DE CAMUNDONGOS SWISS INDUZIDOS COM 1,2-DIMETILHIDRAZINA (DMH), COM E SEM SUPLEMENTAÇÃO COM EXTRATO DE *Curcuma longa*

Bruna Broch Claro da Silva (PIC/UEM), Giovanna de Carvalho, Natalia Castelhano de Oliveira, Priscilla de Laet Sant'ana, Alice Maria de Souza Kaneshima, Tânia Cristina Alexandrino Becker (orientador). E-mail: tcabecker@uem.br

Universidade Estadual de Maringá, Centro de Ciências da Saúde, Maringá, PR.

Área e subárea do conhecimento: Ciências da Saúde/ Anatomia Patológica.

Palavras-chave: Criptas aberrantes; Cúrcuma; Quimioprevenção.

RESUMO

O câncer colorretal apresenta elevada incidência e mortalidade, justificando estudos focados em estratégias quimiopreventivas. A *Curcuma longa* desperta interesse na área por suas propriedades anticarcinogênicas, anti-inflamatórias e antioxidantes. Este estudo teve como objetivo avaliar as alterações histopatológicas no cólon de camundongos Swiss submetidos à carcinogênese induzida por 1,2-dimetilhidrazina (DMH) e tratados com extrato etanólico de *Curcuma longa*. Foram utilizados 27 camundongos machos, distribuídos em cinco grupos experimentais (n=6/grupo, exceto controle veículo n=3), incluindo controles basais, grupo induzido com DMH e tratados com *Curcuma longa* (250 mg/kg) e grupo tratado exclusivamente com o fitoterápico isolado. O extrato foi administrado por via orogástrica (*gavagem*), três vezes por semana, ao longo de 10 semanas. Após o período experimental, fragmentos das regiões proximal e distal do cólon foram processados e corados com hematoxilina e eosina (HE) para avaliação morfométrica e semiquantitativa. Na porção distal, o grupo induzido e tratado apresentou maior ocorrência de criptas hiperplásicas em relação ao controle negativo, enquanto as criptas displásicas foram significativamente mais frequentes no grupo submetido isoladamente à indução com DMH. Na porção proximal, observou-se também maior ocorrência de focos hiperplásicos no grupo tratado comparado aos controles. O infiltrado inflamatório e a congestão vascular exibiram distribuição heterogênea entre as amostras. Conclui-se que, nas condições experimentais avaliadas e na dose testada de 250 mg/kg, o extrato etanólico de *Curcuma longa* não demonstrou efeito quimiopreventivo evidente sobre as lesões pré-neoplásicas colônicas analisadas.

INTRODUÇÃO

O câncer colorretal (CCR) configura-se como uma das neoplasias de maior impacto epidemiológico global, apresentando taxas críticas de incidência e mortalidade. No cenário brasileiro, estimativas do Instituto Nacional de Câncer (INCA) apontaram para a ocorrência de 45.630 novos casos anuais da doença,

representando um risco epidemiológico de 21,10 diagnósticos para cada 100 mil habitantes. Fisiopatologicamente, um dos marcos iniciais do desenvolvimento do CCR compreende a transição da mucosa normal para um fenótipo hiperproliferativo, culminando na formação das criptas aberrantes (CA), constituídas por células com variados graus de displasia estrutural.

A abordagem quimiopreventiva fundamenta-se no emprego de agentes naturais ou sintéticos capazes de retardar, bloquear ou reverter os estágios iniciais da carcinogênese, impedindo a progressão para a malignidade (BRAY et al., 2024). Para a triagem dessas substâncias, modelos experimentais *in vivo* induzidos por 1,2-dimetilhidrazina (DMH) são amplamente preconizados, dada a sua alta especificidade e fidelidade em mimetizar o microambiente tumoral colônico em roedores (TANAKA, 2009).

Dentre as matrizes vegetais de interesse terapêutico, destaca-se a *Cúrcuma longa*, reconhecida por suas consolidadas propriedades anticarcinogênicas, anti-inflamatórias e antioxidantes (ABDEL-LATEEF et al., 2016). Diante do exposto, o presente estudo objetivou avaliar e quantificar a ocorrência de criptas hiperplásicas, criptas displásicas e o grau de congestão vascular em modelo de carcinogênese experimental induzido por DMH em camundongos tratados com extrato de *C. longa*.

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 27 camundongos Swiss machos (18-21 g), provenientes do Biotério Central da UEM, sob aprovação do Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA/UEM, parecer nº 4670141024). Os animais foram randomizados em cinco grupos: GI – controle negativo (n=6); GII – controle positivo induzido com DMH (n=6); GIII – induzido com DMH e tratado com *C. longa* (250 mg/kg) (n=6); GIV – tratado isoladamente com *C. longa* (250 mg/kg) (n=6); e GV – controle do veículo Tween 20 a 5% (n=3).

Os grupos GII e GIII receberam oito doses de DMH (20 mg/kg, i.p.), duas vezes por semana, durante duas semanas consecutivos. O extrato etanólico de *C. longa* foi ressuspenso em Tween 20 a 5% e administrado por *gavagem* orogástrica (250 mg/kg), três vezes por semana, totalizando 10 semanas de protocolo.

Após a eutanásia por sobredosagem anestésica (cetamina/xilazina), fragmentos de 2 cm do cólon proximal e distal foram coletados, fixados em paraformaldeído a 4% por 6 horas e transferidos para etanol 70% até o processamento histotécnico. Os tecidos foram incluídos em parafina, cortados a 5 µm e corados em Hematoxilina-Eosina (HE). A análise microscópica semiquantitativa foi realizada avaliando-se 20 campos por corte sob ampliação de 200×. Os dados foram analisados por ANOVA (*one-way* ou *two-way*), seguidos pelos pós-testes de Tukey ou Bonferroni, adotando-se significância estatística quando $p < 0,05$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise histopatológica revelou mucosa colônica basal com arquitetura glandular intacta e integridade das células caliciformes (Figura 1A), além do desenvolvimento de focos hiperplásicos e displásicos (Figura 1B,C, respectivamente), induzidos pelo xenobiótico. Na porção distal do cólon, o grupo tratado concomitantemente com o fitoterápico (GIII) exibiu maior ocorrência de criptas hiperplásicas em comparação ao controle negativo (GI). Todavia, as criptas displásicas — biomarcadores mais fidedignos de progressão maligna — concentraram-se majoritariamente no grupo submetido estritamente à ação do carcinógeno (GII). Na porção proximal, o grupo GIII manifestou um incremento significativo de focos hiperplásicos em relação aos grupos GI e GII, não sendo observadas diferenças estatísticas relevantes quanto aos parâmetros displásicos nessa região do intestino.

Estudos prévios corroboram o potencial quimiopreventivo atribuído à curcumina isolada. Kim et al. (1998) identificaram ação inibitória sobre o desenvolvimento de focos de criptas aberrantes em camundongos desafiados com DMH, enquanto Bounaama et al. (2012) relataram reduções de aproximadamente 40% nessas lesões pré-neoplásicas, associadas ao controle da proliferação celular e atenuação do estresse oxidativo.

Entretanto, de forma divergente aos dados da literatura para o composto purificado, o extrato etanólico bruto de *C. longa* (250 mg/kg) avaliado neste ensaio não induziu uma redução consistente ou homogênea das alterações teciduais. O infiltrado inflamatório e os níveis de congestão vascular manifestaram distribuição difusa e variável, com focos discretamente mais intensos nos animais expostos simultaneamente à DMH e ao fitoterápico. Essa ausência de efeito quimiopreventivo evidente nas condições empregadas pode estar associada a limitações farmacocinéticas intrínsecas do extrato vegetal bruto, como baixa biodisponibilidade tecidual colônica, ou a reações irritativas locais decorrentes do veículo e do esquema de administração repetida.

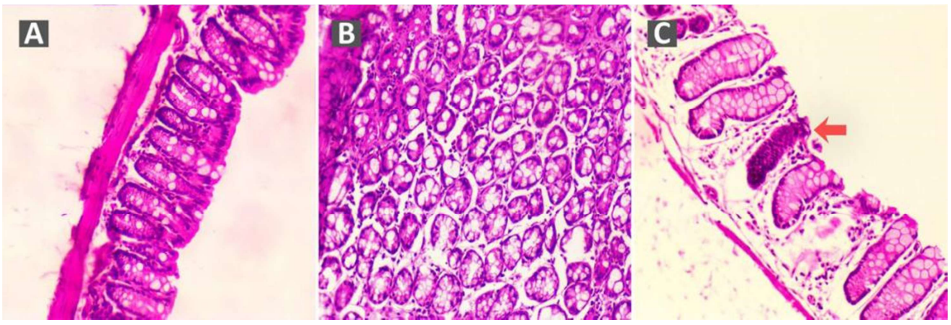


Figura 1: Fotomicrografias representativas da túnica mucosa do cólon de camundongos Swiss pertencentes aos diferentes grupos experimentais, coradas por Hematoxilina e Eosina (HE). (A) Mucosa colônica exibindo arquitetura tecidual preservada, com arranjo glandular regular e presença marcante de células caliciformes. (B) Área focal demonstrando alterações hiperplásicas. (C) Cripta displásica isolada com desarranjo estrutural (indicada pela seta vermelha). Imagens capturadas sob objetiva de 20×.

CONCLUSÕES

Os achados experimentais demonstram que, nas condições metodológicas testadas, o extrato etanólico de *Curcuma longa* na dose de 250 mg/kg não exerceu efeito quimiopreventivo evidente sobre as alterações histopatológicas colônicas induzidas por DMH em camundongos Swiss, estimulando respostas hiperplásicas e vasculares região-dependentes.

O estudo ressalta a complexidade biológica do extrato bruto e aponta para a necessidade de investigações futuras envolvendo variações posológicas, análise de biodisponibilidade e novos intervalos de tratamento para elucidar o potencial real da planta frente à carcinogênese colorretal.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Estadual de Maringá (UEM) e ao Laboratório de Patologia geral, pelo suporte institucional e cessão do espaço físico necessário para a condução do protocolo experimental.

REFERÊNCIAS

ABDEL-LATEEF, E. et al. Bioactive chemical constituents of *Curcuma longa* L. rhizomes extract inhibit the growth of human hepatocellular carcinoma (HepG2). **Acta Pharmaceutica**, v. 66, n. 3, p. 387-398, 2016.

BOUNAAMA, A. et al. Short curcumin treatment modulates oxidative stress, arginase activity, aberrant crypt foci, and TGF-β1 and HES-1 transcripts in 1,2-dimethylhydrazine-colon carcinogenesis in mice. **Toxicology**, v. 302, n. 2-3, p. 308-317, 2012.

BRAY, F. et al. Global cancer statistics 2022: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. **CA: A Cancer Journal for Clinicians**, v. 74, n. 3, p. 229-263, 2024.

INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER (INCA). **Estimativa 2023**: incidência de câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2022.

KIM, J. M. et al. Chemopreventive effects of carotenoids and curcumins on mouse colon carcinogenesis after 1,2-dimethylhydrazine initiation. **Carcinogenesis**, v. 19, n. 1, p. 81-85, 1998.

TANAKA, T. Colorectal carcinogenesis: review of human and experimental animal studies. **Journal of Carcinogenesis**, v. 8, n. 1, p. 5, 2009.