

COMPORTAMENTO DE NEOPLASMAS INDUZIDOS QUIMICAMENTE EM MODELOS BIOLÓGICOS SUPLEMENTADOS COM ÓLEO DE COPAÍBA (*Copaifera sp.*)

**CLÁUDIA BEATRIZ DE MELLO MENDES¹; ANDREIA NOBRE ANCIUTI²; ANELIZE
 DE OLIVEIRA CAMPELLO FELIX³; CRISTINA GEVEHR FERNANDES⁴; MÁRCIA
 DE OLIVEIRA NOBRE⁵.**

¹ Universidade Federal de Pelotas (UFPEL) – claudiabeatrizmm@gmail.com

² Universidade Federal de Pelotas – andreianciuti@hotmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas – anelizecampellofelig@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas – crisgevf@yahoo.com.br

⁵ Universidade Federal de Pelotas – marciaonobre@gmail.com (CNPq: 305072/2012-9)

1. INTRODUÇÃO

O câncer de mama é o mais frequente em mulheres (INCA, 2012) e também em fêmeas caninas (FIGHERA et al., 2008; CASSALI et al., 2009). O uso de modelos biológicos com deleções gênicas, xenoenxertos e induzidos quimicamente para o desenvolvimento do tumor mamário tem sido uma ferramenta muito utilizada para o melhor entendimento e na busca por melhor qualidade de vida de pacientes com neoplasmas (GORDON; KHANNA, 2010; PINHO et al., 2012).

O comportamento biológico de neoplasmas mamários em modelos murinos tem ampliado a possibilidade de estudos mais específicos da doença por permitirem um maior acesso a dados bioquímicos e moleculares nesses animais. Neste modelo, é possível trabalhar a biologia tumoral de forma mais complexa e similar ao que ocorre em outras espécies (HENNIGHAUSEN, 2000; PINHO et al., 2012).

O uso de extratos naturais como adjuvantes nas terapias antineoplásicas têm surgido como opção para o tratamento de pacientes oncológicos (YOUNES et al., 2000). Porém, a atuação destes extratos frente às neoplasias e as consequências do seu uso ainda não são bem elucidadas. O óleo de copaíba (*Copaifera sp.*) tem sido utilizado popularmente para várias afecções (YOUNES et al., 2000; SANTOS JÚNIOR et al., 2010) porém ainda faltam esclarecimentos sobre a sua atuação em relação a neoplasmas mamários. O objetivo deste trabalho foi pesquisar o surgimento de neoplasmas mamários induzidos quimicamente em modelos biológicos, tratados com óleo de copaíba (*Copaifera sp.*).

2. METODOLOGIA

Para a realização deste trabalho foram utilizados 28 animais, *Rattus Novergicus* Wistar, fêmeas, com 40 dias de idade, oriundos do Biotério Central da UFPEL, mantidos dois animais por caixa, em ambiente controlado, com fornecimento de água e ração *ad libitum*. Esse trabalho recebeu parecer favorável à sua realização, cadastrado no CEEA/UFPEL sob o número 8529. Os animais foram divididos em nove grupos de tratamento (Tabela 1). No dia zero em cinco grupos (4 animais/grupo), foi realizada a indução tumoral. Para a realização do procedimento foi administrado através de gavagem, 1 mL de solução de DMBA (7,12-Dimethylbenz[a]anthracene® - Sigma), na dose de 20mg diluído em óleo de milho. Nos demais grupos (2 animais/grupo) foi administrado 1ml de solução fisiológica 0,9%, através de gavagem como controle, mas não foi realizada a indução tumoral.

Os tratamentos foram realizados a cada dois dias por gavagem. O volume total de solução administrado em todos os grupos foi de 0,5mL, respeitando as concentrações previamente definidas de óleo de copaíba (*Copaifera sp.*). A cada dois dias os animais foram avaliados por palpação das glândulas mamárias em busca de alterações macroscópicas. Os animais foram observados durante 23 semanas na procura de surgimento de nódulos mamários, após este período eles foram eutanasiados, com sobredose anestésica, segundo Resolução nº 1000, de 2012 do CFMV e realizada necropsia. Durante a necropsia, foi feita a análise macroscópica em busca de massas compatíveis com formações neoplásicas. De todos os animais foram coletadas amostras de rim, fígado, pulmões, coração, cérebro e linfonodos, assim como também foram coletados neoplasmas naqueles que apresentaram massas visíveis macroscopicamente. Todo o material foi armazenado em formol 10% para posterior avaliação histopatológica.

Tabela 1: Caracterização dos grupos e tratamentos.

Grupos	Indução	Tratamento (concentração)
GI	Sim	20% - 0,1mL de óleo/0,4mL de NaCl 0,9%
GII	Sim	40% - 0,2mL de óleo/0,3mL de NaCl 0,9%
GIII	Sim	80% - 0,4mL de óleo/0,1mL de NaCl 0,9%
GIV	Sim	0,5mL de NaCl 0,9%
GV	Não	20% - 0,1mL de óleo/0,4mL de NaCl 0,9%
GVI	Não	40% - 0,2mL de óleo/0,3mL de NaCl 0,9%
GVII	Não	80% - 0,4mL de óleo/0,1mL de NaCl 0,9%
GVIII	Não	0,5mL de NaCl 0,9%
GIX	Sim	Nenhum tratamento

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação por palpação das glândulas mamárias foi observada a presença de massas em cinco animais, que foram acompanhados por 23 semanas. O surgimento do primeiro neoplasma foi observado a partir de 11 semanas após a indução. Durante a necropsia foi possível observar que dos 24 animais induzidos, nove apresentaram formações neoplásicas, sendo duas na região da cabeça (parótida e tireoide), uma no baço e os demais em região mamária, além de pequenas nodulações. Todas as massas foram submetidas à análise histopatológica para identificação tumoral.

Até o momento, já foi possível caracterizar pela histopatologia formações neoplásicas em três animais (Tabela 2). Dois animais apresentaram lesões macroscópicas durante a necropsia e um animal não apresentou alterações macroscópicas. Na literatura há relatos de surgimento tumoral em ratos Wistar a partir de 25 semanas após a indução, por possuir maior suscetibilidade a indução química de carcinogênese mamária (BARROS et al., 2004; AL-DHAHERI et al., 2008; REZENDE et al., 2010). Em nosso estudo, foi possível observar formações tumorais a partir da 11 semanas pós-indução.

Tabela 2: Caracterização histopatológica de formações neoplásicas em modelos biológicos induzidos quimicamente.

Indivíduo	Macroscopia	Localização	Resultados
1	Formação tumoral na mama inguinal	Mama	Adenocarcinoma
2	Formação tumoral no baço	Baço	Linfoma difuso de grandes células
3	Sem alterações	Baço	Linfoma difuso de grandes células
4	Formação tumoral cabeça	Fígado Região próxima a tireoide	Invasão intersticial pelo linfoma Em análise
5	Formação tumoral região abdominal	Mama	Em análise
6	Formação tumoral cabeça	Região glândula parótida	Em análise
7	Formação tumoral na pele	Difuso	Em análise
8	Formação tumoral na pele	Difuso	Em análise
9	Formação tumoral na pele	Difuso	Em análise

Dos nove animais que apresentaram tumorações, quatro utilizavam a dose mais baixa do óleo de copaíba (*Copaifera sp.*) (20%), dois eram tratados com a dose intermediária (40%) e três faziam parte do grupo controle (NaCl 0,9%). Os animais do grupo que recebia a maior dose (80%) foram a óbito durante o tratamento e sem apresentar lesões neoplásicas. As evidências indicam que estes animais possam ter sofrido intoxicação pelo óleo de copaíba, mas esses dados ainda serão melhores investigados. Não há relatos na literatura a respeito da dose tóxica de óleo de copaíba.

A dose intermediária foi a que se mostrou mais eficiente na prevenção das formações neoplásicas, mas não em sua totalidade. Isso indica que apesar de alguns autores indicarem a presença de um potencial antineoplásico no óleo de copaíba (YOUNES et al., 2000; SANTOS JÚNIOR et al., 2010). Ainda se fazem necessários estudos sobre o mecanismo de ação deste fitoterápico tanto na prevenção de neoplasias, como acerca das suas doses tóxicas.

Frente aos nossos resultados, pode-se sugerir que o óleo de copaíba possui potencial inibidor de formação tumoral, porém em doses elevadas pode causar danos sugestivos de intoxicação e em doses baixas não foi capaz de inibir em sua totalidade a formação não só de neoplasmas mamários como outros tipos tumorais.

4. CONCLUSÕES

Conclui-se que o óleo de copaíba (*Copaifera sp.*) não foi capaz de inibir o crescimento de neoplasmas em modelos biológicos induzidos quimicamente. A ação do produto deve ser investigada mais profundamente, antes da recomendação de seu uso como fitoterápico.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AL-DHAHERI, W. S., HASSOUNA, I., AL-SALAM, S., KARAMA, S. M. Characterization of Breast Cancer Progression in the Rat. **Annals of the New York Academy of Sciences**. New York, 1138: 121–131 2008.
- BARROS, A. C. S. D., MURANAKA, E. NA. K., MORI L. J., PELIZON, C.H. T., IRIYA, K., GIOCONDO, G., PINOTTI, J. A. Induction of experimental mammary carcinogenesis in rats with 7,12-dimethylbenz(a)anthracene. **Revista Hospital Clínicas. Faculdade Medicina**. São Paulo, 59(5):257-261, 2004.
- CASSALI G.D., BERTAGNOLLI A.C., LAVALLE G.E., TAVARES W.L.F., FERREIRA E., SILVA A.E., CAMPOS C.B. Perspectives for diagnosis, prognosis and treatment of mammary 1181 neoplasms in dogs. **Proceedings of the 34th World Small Animal Veterinary Congress - WSAVA 2009**. 2009.
- FIGHERA R.A., SOUZA T.M., SILVA M.C., BRUM J.S., GRAÇA D.L., KOMMERS G.D., IRIGOYEN L.F.; BARROS C.S.L.. Causas de morte e razões para eutanásia de cães da Mesorregião do Centro Ocidental Rio Grandense (1965-2004). **Pesquisa Veterinária Brasileira**. Rio de Janeiro, v. 28, n. 4, p. 223-230. 2008.
- GORDON, I.; KHANNA, C. Modeling opportunities in comparative oncology for drug development. **ILAR Journal**. Washington , EUA, n.51, p. 214-220. 2010.
- HENNIGAHAUSEN, L. Mouse models for breast cancer. **Breast Cancer Research**. Pennsylvania, EUA, n. 2, p.2-7, 2000.
- INCA – INSTITUTO NACIONAL DO CANCER. 2012. Acessado em 17 de abril de 2012. Online. Disponível em : <http://www2.inca.gov.br>
- REZENDE L.F., COSTA E.C.S., SCHENKA N.G.M., SCHENKA A.A., UNTURA L.P., UEMURA G. Modelo experimental de carcinoma mamário em ratas induzidas com 7,12-dimetilbenz(a) antraceno. **Revista Brasileira Mastologia**. Rio de Janeiro, 20(2):76-79, 2010.
- PINHO, S.S.; CARVALHO, S.; CABRAL, J.; REIS, C.A.; GARTNER, F. **Canine tumors: a spontaneous animal model of human carcinogenesis**. DOI: 10.1016/j.trsl.2011.11.005, 2012.
- SANTOS JUNIOR, H.M.; OLIVEIRA, D.; CARVALHO, D.A.; PINTO, J.M.A.; CAMPOS, V.A.C.; MOURÃO, A.R.B.; PESSOA, C.; MORAES, M.O.; COSTA-LOTUFO, L.V. **Evaluation of native and exotic Brazilian plants for anticancer activity**. DOI: 10.1007/s11418-010-0390-0, 2010.
- YOUNES R.N, VARELLA A.D., SUFREDINI I.B. Seleção, extração e identificação de drogas novas anticâncer de plantas brasileiras. **Acta Oncologica Brasileira** 20:15–19, 2000.