

# Avaliação do potencial anticarcinogênico do extrato etanólico de *Piper amalago* em *Drosophila melanogaster*

*Assessment of anticarcinogenic potential of Piper amalago ethanol extract in Drosophila melanogaster*

VERÔNICA MARQUES DA SILVA  
Discente do curso de Medicina (UNIPAM)  
e-mail: veronica20.marques@gmail.com

ISADORA CAIXETA MARQUES  
Discente do curso de Medicina (UNIPAM)  
E-mail: isadoracm@unipam.edu.br

BETHÂNIA CRISTHINE DE ARAÚJO  
Professora orientadora (UNIPAM)  
E-mail: bethania@unipam.edu.br

---

**Resumo:** O câncer é uma doença multicausal crônica, que tem crescido em todo o mundo e ocupa a segunda causa de morte na maioria dos países. É um dos problemas de saúde pública mais complexos que o sistema de saúde brasileiro enfrenta. A *Piper amalago* (PA) tem sido usada na medicina popular como analgésico e já há comprovação de que tal substância apresenta propriedades antinociceptiva, anti-hiperalgésica, antiartrítica e antidepressiva. Mas pesquisas sobre as propriedades antioncológicas da PA ainda são escassas. Desse modo, o objetivo do trabalho foi avaliar o potencial anticarcinogênico do extrato etanólico de PA no processo de carcinogênese induzida em *Drosophila melanogaster*. Foram testadas diferentes amostragens do extrato de PA, tanto isoladas quanto em associação com a substância Doxorubicina, e foi observado que, em altas concentrações, há redução da tumorações induzidas nas moscas. Nesse sentido, foi possível correlacionar a mutagênese com processos inflamatórios e, dessa forma, inferir que drogas com propriedades anti-inflamatórias, pouco estudadas como a PA, podem atuar no combate a tumores e câncer.

**Palavras-chave:** *Piper amalago*. Anticarcinogênese. *Drosophila melanogaster*. Inflamação.

**Abstract:** Cancer is a chronic multicausal disease, which has grown worldwide and is the second leading cause of death in most countries. It is one of the most complex public health problems facing the Brazilian health system. *Piper amalago* (PA) has been used in folk medicine as an analgesic and there is already evidence that this substance has antinociceptive, anti-hyperalgesic, antiarthritic and antidepressant properties. However, research on the antioncological properties of PA is still scarce. Thus, the aim of the study was to evaluate the anticarcinogenic potential of the ethanolic extract of PA in the process of carcinogenesis induced in *Drosophila melanogaster*. Different samples of the PA extract were tested, both isolated and in association with the substance Doxorubicin, and it was observed that, at high concentrations, there is a reduction in induced tumors in flies. In this sense, it was possible to correlate mutagenesis with inflammatory

processes and, thus, infer that drugs with anti-inflammatory properties, little studied as PA, can act in the fight against tumors and cancer.

**Keywords:** Piper amalago. Anticarcinogenesis. *Drosophila melanogaster*. Inflammation.

---

## 1 INTRODUÇÃO

O corpo humano é formado por milhões de células que se reproduzem através de um processo chamado divisão celular. Em condições normais, esse processo é ordenado e responsável pela formação, crescimento e regeneração dos tecidos saudáveis do corpo (FERNANDES; MELLO, 2008). Dessa maneira, sabe-se que a divisão celular segue uma sequência predeterminada de etapas denominada ciclo celular, cuja finalidade é promover a replicação cromossômica e o crescimento celular (QUEIROZ, 2006).

Como figura central desse processo, tem-se o DNA, composto orgânico que contém as instruções genéticas dos seres vivos. Uma vez que não se configura como uma molécula estática, ele está propício a sofrer modificações em sua estrutura devido à exposição de suas bases a agentes naturais ou artificiais (ALMEIDA *et al.*, 2005).

O ciclo de divisão celular normal, entretanto, é regulado por um sistema de checagem que repara moléculas de DNA eventualmente danificadas, evitando que moléculas lesadas sejam duplicadas e transmitidas às células-filhas. Essas alterações que podem ocorrer no material genético são denominadas mutações e consistem em qualquer modificação súbita e hereditária no conjunto gênico de um organismo, podendo ocorrer em células somáticas ou em células germinativas. Nas células somáticas, elas podem estar relacionadas ao câncer, porém, em células germinativas, se a mutação não for letal para a própria célula, essas modificações podem ser transmitidas para as gerações subsequentes (CABRIOTI, 2005).

O resultado do acúmulo progressivo dessas alterações gênicas é o fenômeno de carcinogênese, que pode afetar os genes que controlam o nascimento (ciclo celular) ou a morte das células (apoptose). Dessa forma, a lesão no DNA é considerada um passo importante desse processo, do qual fazem parte diferentes categorias de genes: oncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparo. Os oncogenes bem como os supressores de tumor são responsáveis por controlar diretamente a proliferação celular, já os genes de reparo verificam as taxas de mutação (ORSOLIN, 2009).

O câncer é uma doença multicausal crônica, que tem crescido em todo o mundo e ocupa a segunda causa de morte na maioria dos países. Assim, é um dos problemas de saúde pública mais complexos que o sistema de saúde brasileiro enfrenta, dada a sua magnitude epidemiológica, social e econômica. Por essa razão, fazem-se necessários estudos envolvendo novas substâncias e seus possíveis efeitos na oncogênese. Nesse contexto, encontram-se as plantas da família *Piperaceae*, grupo heterogêneo de espécies cujos metabólitos possuem propriedades anticancerígena, anti-hipertensiva, antioxidante, antilipêmica, ansiolítica, antidepressiva e anti-inflamatória (COSTA; BITTENCOURT; MALHEIROS, 2013).

No entanto, as propriedades antineoplásicas dessa substância ainda são controversas, pois foram realizadas poucas pesquisas com o intuito de testá-las. Desse

modo, esse trabalho visou a avaliar a influência da substância *Piper amalago* no processo de carcinogênese, usando como organismo teste a *Drosophila melanogaster*, que apresenta elevada homologia em genes supressores de tumor em mamíferos.

Como o câncer é consequência de uma série de mutações que se acumulam em uma célula a que se atribui alta habilidade de proliferação celular, diminuição da suscetibilidade a apoptose ou aumento da taxa geral de mutação da célula (SUZUKI, 2002), existem fatores que podem influenciar positivamente ou negativamente na oncogênese. Entre os fatores que têm influência positiva, existem os que possuem propriedades anticâncer e são denominados quimiopreventivos. Os quimiopreventivos podem ser definidos como uma forma de prevenir a doença pelo uso de agentes químicos naturais ou sintéticos que possuem propriedades de reverter ou suprimir a passagem de lesões pré-malignas para carcinomas invasores (OLIVEIRA *et al.*, 2006).

A *Piper amalago* (*Piperaceae*) tem sido usada na medicina popular como analgésico e já há comprovação de que tal substância apresenta propriedades antinociceptiva, anti-hiperalgésica, antiartrítica e antidepressiva (SANTOS *et al.*, 2012). Mas pesquisas sobre as propriedades antioncológicas da *Piper amalago* ainda são escassas. Diante disso, ressalta-se também a importância em investigar sua influência em processos carcinogênicos, de modo a fornecer uma base farmacológica à medicina tradicional.

O objetivo dessa pesquisa foi avaliar o potencial anticarcinogênico do extrato etanólico de *Piper amalago* no processo de carcinogênese induzida em *Drosophila melanogaster*, através do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (ETT).

## 2 REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 CICLO CELULAR

O câncer é essencialmente uma doença do ciclo celular, heterogênea, sendo resultado do acúmulo de um grande volume de alterações genéticas. Dentre as características comuns a todos os tipos de tumores, o desarranjo dos mecanismos controladores da proliferação celular atua como fator determinante nesse processo (QUEIROZ, 2006).

Desse modo, a divisão celular normal é positivamente regulada ou estimulada através de vias sinalizadoras, que sofrem influência de importantes genes como proto-oncogenes, genes supressores de tumor e genes de reparo. Os proto-oncogenes são genes relacionados com o crescimento, diferenciação e proliferação celular normais (LOPES; OLIVEIRA; PRADO, 2002).

No entanto, quando sofrem mutações, os proto-oncogenes se transformam em oncogenes, o que pode determinar alterações no ciclo celular, contribuindo para o processo de carcinogênese. Essa transformação pode ocorrer de duas diferentes maneiras: mudanças na regulação da expressão do gene, originando um aumento ou produção inadequada de proteínas promotoras de crescimento estruturalmente normais ou alterações na estrutura do gene resultando na síntese de oncoproteínas (produtos genéticos anormais) tendo função aberrante (SILVA, 2011).

Por sua vez, os genes supressores de tumor, ou antioncogenes, controlam a progressão do ciclo celular por meio da codificação de proteínas que inibem a divisão celular, exercendo, portanto, uma ação anti-neoplásica (PIMENTA, 2012). Além disso, a progressão do ciclo celular é, em parte, controlada por uma série de proteínas chamadas quinases, dependentes de ciclinas (CDKs). Esse grupo de enzimas fosforila substratos-chave que permitem a progressão do ciclo celular (VERMEULEN; VOCKSTAELE; BERNEMAN, 2003).

Tal fosforilação ocorre quando essas enzimas estão na forma de complexos ativados, que, posteriormente, ativam a proteína pRb, e as etapas de fosforilação de pRb são, de modo metafórico, o relógio que controla a passagem pelas fases G1, S G2 e M do ciclo celular. O descontrole desse relógio é responsável pelo ciclo celular alterado e é considerado um passo essencial para o desenvolvimento do câncer (SOUZA, 2011).

O processo de carcinogênese se dá por meio de etapas sucessivas: iniciação, promoção e progressão. Durante a iniciação, ocorre a alteração do DNA celular devido à exposição ao agente carcinogênico. Nesse estágio, as células se encontram geneticamente alteradas, porém ainda não é possível se detectar um tumor clinicamente. Subsequentemente, ocorre a fase de promoção, na qual alterações celulares culminam na proliferação e expansão das células. Esses mecanismos celulares proliferativos dependerão de fatores hormonais e de crescimento tumoral, com estímulo da atividade de fatores de transcrição e da ação gênica. O último estágio da oncogênese, a progressão, é considerado irreversível e consiste na multiplicação desordenada das células alteradas (ALMEIDA *et al.*, 2005).

## 2.2 *DROSOPHILA MELANOGASTER*

A *Drosophila melanogaster*, conhecida popularmente como mosca das frutas, é largamente utilizada pelos pesquisadores, por ser de fácil manutenção em laboratório, ter um ciclo reprodutivo curto e fornecer um grande número de indivíduos por progênie (GRAF, 2006). São conhecidos ainda alguns outros benefícios em se utilizarem esses organismos com intuito de pesquisa, uma vez que apresentam elevada taxa de fecundidade, dimorfismo sexual, além de genoma relativamente pequeno, quando comparado com o de camundongos ou de humanos. Por esses motivos, essa espécie representa uma interessante fonte de informações sobre mutações e questões ecológicas (SATURNINO, 2012).

O ciclo de vida da *D. melanogaster* depende das condições ambientais, assim como ocorre em grande parte dos seres vivos, sendo composto por quatro etapas: ovo, larvas, pupas e a fase adulta. Durante a fase de pupa, que demora cerca de cinco dias, ocorre metamorfose, que envolve a degradação de praticamente todos os tecidos larvares e a proliferação significativa dos discos imaginiais. Estes são pequenos grupos de células, até então indiferenciados, que irão originar as estruturas do adulto (também conhecido por imago). Da pupa eclode o indivíduo adulto, que atinge a maturidade sexual ao fim de 12 horas e que tem uma expectativa média de vida de 60 dias. Os adultos eclodem pouco pigmentados, e só ao fim de algumas horas é que se tornam óbvias a coloração acastanhada do corpo e o padrão de listas escuras dos segmentos abdominais (GOMES, 2001).

A conservação evolutiva de genes supressores de tumor entre *Drosophila* e mamíferos estimula pesquisas no desenvolvimento de tumores em *Drosophila*. Em adição, numerosos proto-oncogenes e supressores de tumores de mamíferos são conhecidos nessa espécie (EEKEN *et al.*, 2002).

O gene *warts (wts)* foi identificado baseado na sua habilidade para ação como um supressor de tumor em *Drosophila*. A deleção desse gene leva à formação de clones de células que são circulares e consideravelmente invasivas, chamadas de verrugas, que se desenvolvem por todo o corpo da mosca (NISHIYAMA *et al.*, 1999).

### 2.3 PIPER AMALAGO

Segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS), plantas medicinais são aquelas cujos compostos ou propriedades podem ser utilizados para fins terapêuticos e até mesmo para aplicação em pesquisa farmacológica. Dentre as plantas medicinais de interesse terapêutico, encontram-se as da família *Piperaceae*, uma família tropical e subtropical, que ocorre em ambos os hemisférios terrestres, incluindo aproximadamente 4.000 espécies. Diversas espécies do gênero *Piper* são amplamente utilizadas na medicina popular em várias partes do mundo e têm sido relatadas por produzirem compostos com propriedades biológicas diversas: antimicrobiana, uso em problemas do trato respiratório, do aparelho digestivo, anti-inflamatória e antileucêmica (LORENZI; MATOS, 2002; GOMES; KRINSKI, 2016).

A família *Piperaceae* constitui-se de quatro gêneros: *Manekia*, *Piperomia*, *Piper* e *Zippelia*, sendo o gênero *Piper* o que possui maior quantidade de exemplares. Os óleos essenciais são originados do metabolismo secundário das plantas e constituem os elementos voláteis contidos em muitos órgãos vegetais e estão relacionados com diversas funções necessárias à sobrevivência vegetal (OLIVEIRA; ALDRIGHI; RINALDI, 2006).

Polifenóis como chalconas, flavonas e flavononas, além de alcaloides, amidas, lignoides, terpenos e esteroides são alguns dos metabólitos conhecidos associados à família *Piperaceae*. Tais metabólitos têm sido alvo de estudos etnofarmacológicos, que apontaram suas propriedades antimaláricas, anti-hipertensivas, anti-inflamatórias para neuroinflamação, antioxidantes, anti-ulcerosas, anti-nociceptivas, ansiolíticas, antidepressivas e antimutagênicas ou genotóxicas (COSTA; BITTENCOURT; MALHEIROS, 2013).

Os óleos essenciais se originam desses metabólitos e possuem composição complexa, da qual fazem parte os terpenos e os fenilpropanoides. Esses óleos, como os produzidos pelas variedades de espécies do gênero *Piper*, contribuem para o equilíbrio do ecossistema, na medida em que exercem um papel determinante na proteção das plantas como inseticidas e contra herbívoros, além de possuírem propriedades antibacterianas e antifúngicas. (SANTOS *et al.*, 2012).

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 AMOSTRAGEM

A espécie vegetal em estudo foi adquirida em um viveiro de plantas medicinais localizado na cidade de Patos de Minas, MG. Após a coleta, a planta foi transportada até o Laboratório de Citogenética e Mutagenese do Centro Universitário de Patos de Minas (LABCIM).

O extrato de *Piper amalago* (pariparoba) foi elaborado a partir de 15g de material seco, picado em pequenos fragmentos com o auxílio de uma tesoura e colocado em vidro âmbar onde foram acrescentados 500 mL de 70% (v/v) CH<sub>3</sub>OH por 48 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, o extrato foi filtrado por filtro de papel nº 4, e a solução foi submetida ao processo de evaporação sob pressão reduzida a 70°C com um rotor de evaporação. Assim, foi obtido um pó verde fino e escuro. Esse pó foi suspenso em 5% (v/v) de C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH a diferentes concentrações, de modo a ser utilizado no experimento. A produção do extrato e a definição das concentrações foram elaboradas a partir dos testes realizados por Iwamoto (2014).

#### 3.2 AGENTES QUÍMICOS

Nesta pesquisa, a indução dos tumores foi realizada pelo tratamento das larvas de *Drosophila melanogaster* com cloridrato de Doxorrubicina (DXR) (8S-cis)-10- [3-amino-2,3,6,-trideoxi-alfa-1lixohexapiranosil)oxi]-7,8,9,10-tetrahidro-6,8,11-trihidroxi-8-roxiacetil)- étoxi, naftacenodiano (CAS 23214-92-8), produzido pela Eurofarma Laboratório Ltda, São Paulo, SP, Brasil. É um antibiótico antitumoral-antraciclínico que possui peso molecular 580,0 e fórmula molecular C<sub>27</sub>H<sub>29</sub>NO<sub>11</sub>. Cada frasco continha 10 mg de DXR liofilizada. A DXR foi usada como controle positivo na concentração comprovadamente carcinogênica de 0,4mM (ORSOLIN, 2009).

As propriedades citotóxicas da doxorrubicina sobre as células malignas e os efeitos tóxicos em vários organismos parecem estar relacionados à intercalação dos seus anéis planos entre os pares de bases nucleotídicas. A intercalação ao DNA inibe a replicação nucleotídica e pode desencadear quebra do DNA pela topoisomerase-II, originando distúrbios sérios na estrutura terciária do DNA. A doxorrubicina também parece estar envolvida nas reações de oxidação/redução, com a produção de radicais livres altamente reativos e altamente tóxicos. Células tratadas com doxorrubicina têm manifestado alterações nas características morfológicas associadas a apoptose, o que pode ser um dos mecanismos de ação da doxorrubicina (DOXORRUBICINA, 2013).

#### 3.3 TESTE PARA DETECÇÃO DE TUMORES EPITELIAIS EM *DROSOPHILA MELANOGASTER* (ETT)

Para a realização do teste, foram utilizadas duas linhagens mutantes de *Drosophila melanogaster* (*wts* e *mwh*) portadoras dos marcadores genéticos warts (*wts*, 3-100) e multiple wing hairs (*mwh*, 3-0,3). Os estoques dessas linhagens foram mantidos no Laboratório de Citogenética e Mutagenese do Centro Universitário de Patos de

Minas, em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura com 820 mL de água, 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*); 11g de ágar, 156g de banana e 1g de nipagin, à temperatura de 25° C e 60% de umidade.

Para obtenção de larvas heterozigotas *wts* +/- *mwh*, foi realizado o cruzamento entre fêmeas virgens *wts* /TM3, Sb1 com machos *mwh* / *mwh*. Desse cruzamento, todas as larvas foram tratadas com os controles e as concentrações isoladas de *Piper amalago*.

A coleta dos ovos dos descendentes dos cruzamentos entre fêmeas virgens *wts* /TM3, Sb1 com machos *mwh* / *mwh* ocorreram durante um período de 8 horas, em frascos contendo uma base sólida de ágar (3% de ágar em água) e uma camada de fermento biológico (*Saccharomyces cerevisiae*) suplementado com sacarose. Após 48±4 horas, as larvas foram lavadas com água destilada e coletadas com o auxílio de uma peneira de malha fina. Larvas de 3º estágio provenientes desse cruzamento foram colocadas em frascos de vidro (2,5 cm de diâmetro e 8,0 cm de altura) contendo 1,5g de meio de purê de batatas instantâneo (marca HIKARI®) e o de extrato etanólico de *Piper amalago* em diferentes concentrações (150 mg/mL, 300 mg/mL e 600 mg/mL), controle positivo e controle negativo.

Para controle positivo, foi utilizada a doxorrubicina (DXR 0,4mM) e, para o controle negativo, foi utilizada água osmose reversa (ultrapura). Pelo fato de haver alguns compostos que são fotossensíveis, os frascos foram embalados em papel alumínio. As larvas de 3º estágio foram submetidas a um tratamento crônico, por um período de, aproximadamente, 72 horas, quando estas sobem às paredes dos frascos, passando para o estágio de pupa. Após a eclosão das pupas, os indivíduos adultos foram transferidos para recipientes contendo etanol 70%, e, posteriormente, analisados machos e fêmeas com genótipo (*wts* +/- *mwh*).

Portanto, foram analisadas somente as moscas que não apresentam o balanceador cromossômico (TM3, Sb1), moscas estas que fenotipicamente caracterizam-se pela presença de pelos curtos e grossos, bem visíveis e distintos. Para a análise das moscas, foram utilizadas lupa estereoscópica e pinças entomológicas. A localização de cada tumor observado foi registrada em um diagrama padrão do corpo da mosca.

As diferenças estatísticas entre as frequências de tumores nas concentrações testadas e nos controles (positivo e negativo) foram calculadas de acordo com o teste U, não paramétrico, de Mann-Whitney.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teste para detecção de clones de tumores epiteliais em *Drosophila melanogaster* foi utilizado neste trabalho para avaliar o efeito anticarcinogênico do extrato etanólico de *Piper amalago*. Dessa forma, diferentes concentrações do composto foram utilizadas: 150 mg/mL, 300 mg/mL e 600 mg/mL. O controle positivo testado foi doxorrubicina (DXR a 0,4mM) e o controle negativo foi água osmose reversa. As concentrações de P. amalago foram testadas isoladas e associadas à DXR, e os resultados dessa análise estão expressos na Tabela 1.

A diferença estatística observada entre as frequências de tumores quando se comparam os controles experimentais indica que as linhagens utilizadas para detecção de clones de tumores epiteliais (ETT) foram sensíveis à indução tumoral, pois o controle

positivo mostrou um aumento significativo ( $p < 0,05$ ) da frequência tumoral, quando comparado ao controle negativo. Essa indução tumoral existe e foi confirmada em várias pesquisas e está relacionada à predisposição genética intrínseca da *Drosophila melanogaster* (MORAIS; BONETTI; SPANÓ; REZENDE, 2019); (SANTOS; LAHLOU; ORSOLIN, 2018); (SOUSA; COELHO; BONETTI, 2015).

Não houve diferença estatística significativa entre a frequência de tumores no controle negativo e a frequência de tumores nas concentrações de *Piper amalago* isoladas. As larvas que foram submetidas apenas ao tratamento com *Piper* nas concentrações de 150 mg/mL, 300 mg/mL e 600 mg/mL apresentaram frequências tumorais de 0,40; 0,75 e 0,67, respectivamente. A inexistência de diferença significativa ( $p > 0,05$ ) das frequências tumorais obtidas nas concentrações isoladas de *Piper* em relação ao controle negativo sugere a ausência de propriedades carcinogênicas dessa substância medicinal.

Quando comparadas as associações de *Piper amalago* e DXR, nota-se que houve redução estatisticamente significativa na frequência de tumores (0,20) com *Piper* na maior concentração testada (600 mg/mL) e quando comparada à frequência de tumores no controle positivo (7,76), o que indica que a substância testada apresenta potencial efeito anticarcinogênica, nessa concentração.

**Tabela 1:** Frequência de tumores observados em *Drosophila melanogaster*, tratadas com diferentes concentrações de *Piper amalago*, utilizando o teste de tumor epitelial (ETT)

Tratamentos	Número de moscas analisadas	Número de tumores analisados								Frequência (Nº de tumores/mosca)
		Piper	DXR (mM)	Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halter	
0	0	66	8	15	5	1	18	22	69	1,05
0	0,4	66	156	117	95	57	66	21	512	7,76 *
150mg/mL	0	66	5	5	3	6	9	39	27	0,40
300mg/mL	0	66	20	6	1	8	7	37	49	0,75
600mg/mL	0	66	6	13	1	0	5	19	44	0,67
150mg/mL	0,4	66	152	119	173	230	168	77	76	1,16
300mg/mL	0,4	66	194	185	266	230	233	145	42	0,64
600mg/mL	0,4	66	150	104	207	195	244	117	13	0,20 **

Diagnóstico estatístico de acordo com o teste de Mann-Whitney. Nível de significância  $p \leq 0,05$ .

\* Valor considerado diferente do controle negativo ( $p < 0,05$ ).

\*\* Valor considerado diferente do controle positivo (DXR 0,4mM) ( $p < 0,05$ ).

DXR, doxorubicina.

Fonte: dados da pesquisa.

As concentrações combinadas à DRX 50 mg/mL, 300 mg/mL e 600 mg/mL demonstram potencial modulador sobre a toxicidade da DXR quando comparadas ao controle positivo. Tal efeito pode ser observado pela redução significativa na frequência de tumores ( $p < 0,05$ ) na concentração 600 mg/mL, indicando que *Piper amalago* apresenta efeito anticarcinogênico, uma vez que essa foi a maior concentração utilizada e a de maior impacto na redução de tumores.



O extrato etanólico de *Piper amalago* apresenta propriedade anti-inflamatória, que já foi evidenciada nos estudos de Iwamoto (2014), os quais inferiram que administração via oral do extrato em doses de 30 e 100 mg/kg diminui significativamente o edema em membros de roedores e reduz a quantidade de leucócitos em cavidade pleural.

Nesse contexto, é conhecida a importante relação entre processo inflamatório e a formação de tumores. No século XIX, Rudolf Virchow já fazia a primeira sinalização de uma provável relação entre inflamação e câncer, ao observar a presença de leucócitos (importantes mediadores da cascata inflamatória) ao redor de tumores. “As células inflamatórias regulam o crescimento dos tumores (remodelamento da matriz extracelular, angiogênese, potencial metastatizante) por meio da produção de mediadores que mantêm a homeostase tecidual, como fatores de crescimento, enzimas, produtos reatores do oxigênio (PROs) e outras moléculas bioativas” (COELHO; SILVA FILHO; UEMURA, 2013, p. 21-22).

Esse vínculo entre inflamação e carcinogênese é descrito, portanto, em função do compartilhamento de mecanismos ou subsídios necessários à instalação de ambos os processos, sejam eles citocinas, quimiocinas, mediadores inflamatórios ou qualquer aparato da maquinaria celular. Durante a progressão tumoral, a presença da inflamação é fator facilitador ou inibidor do crescimento celular exagerado. É a expressão de vários mediadores inflamatórios, bem como a quantidade e o estado de ativação de diferentes tipos celulares no microambiente tumoral, que vão guiar a resposta para promoção ou inibição tumoral. Isso sugere que a inflamação facilitadora do tumor e a imunidade antitumoral coexistem em diferentes pontos ao longo do caminho da sua progressão e são as condições do microambiente que controlam esse balanço (CARVALHO, 2013).

Os estudos relacionados às propriedades da *Piper amalago* ainda são escassos, no entanto o de maior propriedade no assunto sugere alta eficácia anti-inflamatória de espécies de PA. Isso pode ser atribuído aos componentes da PA, entre eles a piperina, que, segundo Kumar *et al.* (2015), foi capaz de diminuir a expressão de COX-2 induzida por PMA e a produção de PGE-2, importantes mediadores pró-inflamatórios. Além disso, foi capaz de reduzir o crescimento tumoral e a metástase em modelos *in vitro* e *in vivo* de câncer de mama.

Sendo assim, é possível sugerir que o uso de medicações com propriedades anti-inflamatórias pode atuar com sucesso no controle da formação e no crescimento de tumores, o que pode justificar a redução significativa de tumores em elevadas concentrações de *Piper amalago*, utilizadas nesse experimento.

## 5 CONCLUSÕES

Com base nas evidências descritas até a atualidade, conclui-se que ainda é preciso de mais pesquisas experimentais acerca dos efeitos anticarcinogênicos relacionados à substância *Piper amalago*. O intuito é elucidar pontos como a dosagem mínima efetiva, a durabilidade de ação, além da população apta ao uso e aos efeitos colaterais das diferentes concentrações a serem eficazes.

## REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, V. L.; LEITÃO, A.; REINA L. C. B.; MONTANARI, C. A.; DONNICI, C. L.; LOPES, M. T. P. Câncer e agentes antineoplásicos ciclo-celular específicos e ciclo-celular não específicos que interagem como DNA: uma introdução. **Química Nova**, v. 28, n.1, p. 118-129, 2005. Disponível: [http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol28No1\\_118\\_20-DV04043.pdf](http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol28No1_118_20-DV04043.pdf)
- CABRIOTI, L. N. Estudo da antigenotoxicidade, genotoxicidade e citotoxicidade de frações do extrato metanólico de *Agaricusblazei in vitro*. **Anais do Congresso de Pesquisa, Ensino e Extensão- CONPEEX**, 2005.
- CARVALHO, L. R. **Inflamação e câncer hepático e pulmonar em camundongos selecionados para a máxima ou mínima resposta inflamatória aguda**. 2013. 69 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade de São Paulo, 2013.
- COSTA, M. C.; BITTENCOURT, C.M. S.; MALHEIROS, A. **Investigação fitoquímica e avaliação do potencial antimicrobiano por bioautografia da *Pipper sp* (Piperaceae)**. 2013. 84 f. Tese (Doutorado em Farmácia) – Centro de Ciências da Saúde, Universidade do Vale do Itajaí, Itajaí, 2013.
- COELHO, B. A.; SILVA FILHO, A. L.; UEMURA, G. **Avaliação da resposta inflamatória em mulheres com Câncer de mama**. 2013. 69 f. Dissertação (Mestrado em Medicina,) –Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Medicina de Botucatu, Botucatu, 2013.
- DOXORRUBICINA. Responsável técnico Luciana Righetto. São Paulo: Laboratórios IMA S.A.I.C, 2013. Bula de remédio.
- EKEN, J. C. J.; KLINK, I.; VEEN, B. L. V; FERRO, W. Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor supressor gene wts. **Enviromental and Molecular Mutagenesis**, v. 40, p. 277-282, 2002.
- FERNANDES, I. C. MELLO, A. A. Entendendo e combatendo o câncer. **Revista Tema**, Campina Grande, v. 7, n. 10/11, p. 2-11, 2008.
- GOMES, E. N.; KRINSKI, D. Propagação Vegetativa de *Piper amalago* L. (Piperaceae) em função de tipos de estaca e substratos. **Revista Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v. 25, n. 2, p.199-210, out. 2016.
- GOMES, R. A. P. L. **Utilização de *Drosophila* em Genética: 1ª Parte**. (2001). Disponível em:<http://ordembilogos.pt/wp-content/uploads/2015/11/DroII-01Fev01.pdf>

GRAF, U. The Actual Situation of SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) in *D. melanogaster*. **Environmental Mutagenesis**, v. 6, n. 2, 2006.

IWAMOTO, R. D. **Avaliação da atividade anti-inflamatória, anti-hiperalgésica e hipotensora do extrato bruto etanólico e amida obtida de *Piper amalago* L. (*Piperaceae*) em roedores**. 2014. 87 f. Tese (Doutorado em Ciências da Saúde) – Universidade Federal de Grandes Dourados, Dourados, 2014.

KUMAR, S., M, S.; PRASAD, A. K.; VAN. D, E. V., BRACKE, M. E.; STETLER, S, W. G., PARMAR, V. S.; GHOSH, B. (2015). Anti-inflammatory and antioxidant properties of Piper species: a perspective from screening to molecular mechanisms. **Current topics in medicinal chemistry**, v. 15, n. 9, p. 886–893. Disponível em: <https://doi.org/10.2174/1568026615666150220120651>

LOPES, A. A.; OLIVEIRA, A. M. PRADO, C. B. C. Principais genes que participam da formação de tumores. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v.2, n.2, 2002. Disponível em: <https://www.biologia.bio.br/curso/2%C2%BA%20per%C3%ADodo%20Faciplac/Biologia%20Celular/Artigo%20Principais%20genes%20que%20participam%20da%20forma%C3%A7%C3%A3o%20de%20tumores.pdf>

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A.; Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. **Nova Odessa**, Instituto Plantarum de Estudos da Flora, São Paulo, 2002.

MORAIS, C. R; BONETTI, A. M; SPANÓ, M.; REZENDE, A. A. **Potencial toxicogenético de inseticidas neonicotinoides em diferentes sistemas in vivo**. 2019. 139 f. Tese (Doutorado em Genética e Bioquímica, Biotecnologia) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2019.

NISHIYAMA, Y.; HIROTA, T.; MORISAKI, T.; HARA, T.; MARUMOTO, T.; IADA, S.; MAKINO, K.; YAMAMOTO, H.; HIRAOKA, T.; KITAMURA, N.; SAYA, H. A human homolog of *Drosophila* warts suppressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. **Febs Letters**, v. 459, p. 159-165, 1999.

OLIVEIRA, R. A. G.; LIMA, E. O.; VIEIRA, W. L; FREIRE, K. R. L.; TRAJANO, V. N; LIMA, I. O.; SOUZA, E. L.; TOLEDO, M. S; SILVA-FILHO, R. N. Estudo da interferência de óleos essenciais sobre a atividade de alguns antibióticos usados na clínica. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 16, n. 1, p. 77-82, 2006. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/247854262\\_Estudo\\_da\\_interferencia\\_de\\_oleos\\_essenciais\\_sobre\\_a\\_atividade\\_de\\_alguns\\_antibioticos\\_usados\\_na\\_clinica](https://www.researchgate.net/publication/247854262_Estudo_da_interferencia_de_oleos_essenciais_sobre_a_atividade_de_alguns_antibioticos_usados_na_clinica)

OLIVEIRA, V. M.; ALDRIGHI, J. M.; RINALDI, J. F. Quimioprevenção do câncer de mama. **Rev. Assoc. Med. Bras.** v. 52, n. 6, p. 453-9. 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ramb/a/VvRGSNDtLfWKm39wGN7pRcm/?format=pdf&lang=pt>

ORSOLIN, P. C. Potencial carcinogênico do açafrão (*Curcuma longa* L.) identificado por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophilamelanogaster*. **Perquirere**, Patos de Minas, v. 6, p.55-69, out. 2009.

PIMENTA, V. S. C. **p53 e o câncer**: revisão da literatura. 2012. 44 f. Tese (Doutorado em Veterinária) – Universidade Federal de Goiás, Goiânia, 2012.

QUEIROZ, L. B. **Avaliação da expressão das proteínas p53 e pRb em carcinoma escamocelular e papilomas orais pelo método imuno-histoquímico**. 2006. 81 f. Dissertação (Mestrado em Imunologia) – Universidade Federal da Bahia, Salvador, 2006.

SANTOS, T. G.; REBELO, R. A.; DALMARCO, E. M.; GUEDES, A.; GASPER, A. L.; BELLA CRUZ, A.; SCHMIT, A. P.; BELLA CRUZ, R. C.; STEINDEL, M.; NUNES, R. K. Composição química e avaliação da atividade do óleo essencial das folhas de *Piper malacophyllum*. **Química Nova**, v. 35, n. 4, p. 477-481, 2012. Disponível em: [http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol35No3\\_477\\_06-AR11250.pdf](http://static.sites.sbq.org.br/quimicanova.sbq.org.br/pdf/Vol35No3_477_06-AR11250.pdf).

SANTOS, B. D. A; ORSOLIN, P. C.; LAHLOU, N. B. 2018. Avaliação do potencial anticarcinogênico do extrato aquoso de romã (*Punica granatum* L.) Por meio do teste para detecção de clones de tumores epiteliais (warts) em *Drosophila melanogaster*. **Saúde.com.**, 14 mar. 2018. Disponível em: <https://periodicos2.uesb.br/index.php/rsc/article/view/3306>

SATURNINO, R. S. **Avaliação da atividade carcinogênica e mutagênica da anfotericina B em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. 2012. 75 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Curso de Genética, Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2012.

SILVA, R. G. **Efeito modular do ômega 3 sobre a mutagenicidade e carcinogenicidade da doxorubicina em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. 2011. 78 f. Dissertação (Mestrado em Genética) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2011.

SOUSA, F. A; COELHO, H. E; BONETTI, A. M. **Avaliação da capacidade carcinogênica do antiparasita ivermectina, pelo teste de detecção de tumor epitelial em células somáticas de *Drosophila melanogaster***. 2015. 54 f. Dissertação (Mestrado em Medicina Veterinária) – Universidade Federal de Uberaba, Uberaba, 2015.

SOUZA, F. C. **Generation and characterization of isogenic cell lines harboring p53 mutants**: a model for the evaluation of p53 and p16 replacement in the presence of p53R175H and p53R248Q. 2011. 40 f. Dissertação (Mestrado em Biologia Celular e Tecidual) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.

SUZUKI, D. T. **Introdução à Genética**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2002.

VERMEULEN, K.; VOCKSTAELE, V. D. R.; BERNEMAN, Z. N. The cell cycle: a review of regulation, desregulation and therapeutic targets in cancer. **Cell Prolif.**, v.36, n.3, p. 131-149, 2003. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1046/j.1365-2184.2003.00266.x>