

Efeito modulador da polpa da graviola (*Annona muricata*) sobre a carcinogenicidade da mitomicina C, avaliado por meio do teste para detecção de clones de tumor (*warts*) em *Drosophila melanogaster*

Lívila Mara Silva

Graduanda em Farmácia pelo Centro Universitário de Patos de Minas – MG

Júlio César Nepomuceno

Professor Associado do Instituto de Genética e Bioquímica da Universidade Federal de Uberlândia – MG / Professor Titular do Centro Universitário de Patos de Minas – MG.

Resumo: Há sempre a busca de novos tratamentos e de novas substâncias que auxiliem no tratamento do câncer. Este trabalho visa analisar o efeito anticarcinogênico da polpa da graviola (*Annona muricata*), por meio do teste para detecção de clones de tumor (*warts*) em *Drosophila melanogaster*. Os resultados mostraram que a graviola apresenta atividade anticarcinogênica, visto que houve diferença, estatisticamente significativa, na frequência de tumores verificados com a presença do extrato de graviola (nas concentrações de 50 e 100%), em relação à frequência de tumores verificados no controle positivo. Porém, ficou demonstrado que o extrato aquoso da polpa da graviola apresentou atividade tumoral, nas concentrações de 25 e 50%, em *Drosophila melanogaster*. A presença conhecida de acetogeninas no fruto induziu, provavelmente, uma atividade genotóxica com conseqüente indução de tumor. O não-aparecimento de tumores, na concentração de 100% do extrato aquoso das folhas de graviola, pode estar relacionado, provavelmente, com a alta concentração de acetogeninas e o efeito citotóxico. Na mais alta concentração, graviola (100%), os erros induzidos são tão grosseiros que é desencadeada a via de apoptose. Conclui-se que a graviola, por apresentar alta citotoxicidade, não deve ser usada como preventivo para o câncer. No entanto, caso a doença já esteja estabelecida, a graviola poderá ser utilizada no tratamento, visto que diminui a frequência de tumores no organismo, como avaliado neste trabalho.

Palavras-chave: *Annona muricata*. *Drosophila melanogaster*. Anticarcinogênico.

Abstract: There has always been a search for new treatments and new substances that may help in the treatment of cancer. This work aimed at analyzing the anticarcinogenic effect of the pulp of cherimoya (*Annona muricata*), through the test for detection of tumor clones (*warts*) in *Drosophila melanogaster*. The results showed that the cherimoya presents anticarcinogenic activity, because there was a statistically significant difference in the frequency of tumors with the presence of the extract of cherimoya (in concentrations of 50 and 100%) in relation to the frequency of tumors verified in the positive control. However it was demonstrated that the aqueous extract of the pulp of cherimoya presented tumoral activity in the concentrations of 25 and 50%, in *Drosophila melanogaster*. The known presence of acetogenins in the fruit probably induced a genotoxic activity with consequent induction of tumor. The non-appearance of tumors

in the concentration of 100% of the aqueous extract of cherimoya leaves may probably be related to the high concentration of acetogenins and to the cytotoxic affect. In the highest concentration, cherimoya 100%, the induced errors are so gross that it breaks out the apoptosis via. We conclude that cherimoya, because it presents high cytotoxicity, may not be used as cancer prevention. However, if the disease is already settled, the cherimoya may be used in the treatment, because it decreases the frequency of tumors in the body, as evaluated in this work.

Keywords: *Annona muricata*. *Drosophila melanogaster*. Anticarcinogenic.

1. Introdução

A utilização de plantas e frutos com objetivos medicinais é bastante difundida em todo o mundo (VEIGA JUNIOR, 2008). Para o desenvolvimento de novos medicamentos, grande é a riqueza vegetal sem estudo da qual o Brasil ainda dispõe (FOGLIO et al., 2006).

Os candidatos a medicamentos podem ser descobertos por acidentes, triagem ou planejamento, e a genética apresenta papel crucial em prol dessas descobertas. O sequenciamento e a análise genômica aumentam o conhecimento das proteínas, codificadas pelo genoma humano e, com isso, no futuro, os fármacos serão feitos sob medida, para cada paciente em particular. Assim, a análise dos genomas nutre grandes esperanças para a descoberta de medicamentos (STRYER; TYMOCZKO; BERG, 2008).

E mesmo com todos os avanços em pesquisa, acúmulo de conhecimento e novas tecnologias, que a atualidade disponibiliza, inúmeras patologias ainda apresentam-se como incógnitas. O processo global de industrialização culminou em modificações nos padrões saúde-doença, ou seja, essa transição epidemiológica gerou grandes mudanças no perfil da mortalidade, acarretou em diminuição das doenças infecto-contagiosas, e no aumento das doenças crônico-degenerativas, especialmente as doenças cardiovasculares e o câncer (GUERRA; GALLO; MENDONÇA, 2005).

Segundo recente relatório da Agência Internacional para Pesquisa em Câncer (IARC)/OMS (INCA, 2009), o impacto global do câncer mais que dobrou em 30 anos. E, no Brasil, as estimativas para o ano de 2010 apontam para a ocorrência de 489.270 casos novos de câncer. Diante desse cenário, fica clara a necessidade de continuidade em investimentos no desenvolvimento de ações abrangentes para o controle e tratamento do câncer (*World Cancer Report 2008* apud INCA, 2009).

Na busca de novos tratamentos e de novas substâncias que auxiliem no tratamento do câncer, Oberlies, Chang e Mclaughlin (1997) em seus estudos descobriram que a graviola (*Annona muricata*), a partir do extrato das folhas, apresenta atividade eficiente no controle de células tumorais. Porém, ainda não há estudos sobre a eficácia do extrato da polpa, com efeito anticarcinogênico.

Outros estudos comprovam a eficiência do extrato das folhas de graviola (*annona muricata*) no auxílio ao tratamento do câncer. Faria (2006) demonstrou que a atividade antitumoral do extrato aquoso das folhas de graviola, quando associado com a doxorrubicina, diminuiu significativamente o número de tumores em *Drosophila melanogaster*.

Na atualidade, o câncer configura-se como um dos mais importantes problemas de saúde pública, o que lhe confere um crescente número de casos. Sabe-se ainda que são diversos os tipos de cânceres encontrados em diversas regiões geográficas (GUERRA; GALLO; MENDONÇA, 2005).

Sendo assim, objetivou-se com este trabalho avaliar a redução do tumor epitelial em *D. melanogaster*, induzido pela Mitomicina C, pelo extrato da polpa da graviola (*Annona muricata*), por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*.

2. Revisão teórica

2.1. Graviola (*Annona muricata*)

A graviola pertence a um importante grupo de plantas frutíferas, que possui a seguinte classificação taxonômica: reino vegetal, divisão angiosperma, classe dicotiledônea, ordem magnoliales, família annonaceae, subfamília *Annonoideae*, gênero *Annona* e espécie *Annona muricata* L. (RAMOS; PINTO; RODRIGUES, 2001).

É uma árvore regular que chega a atingir até 10 metros de altura. Possui casca aromática, folhas alternas e pecioladas, flores axilares, solitárias, sub-globosas e amareladas ou cor de creme. O fruto, baga de forma irregular, elipsóide, pode medir 30 centímetros de comprimento por 12 de largura, com epiderme verde-escura, espessa e areolada (Figura 1). A polpa é branca sucosa, lactescente e um pouco fibrosa com sementes cor castanha ou preta (CORRÊA, 1978).

Planta de clima tropical, suas características alimentares, sabor e aroma são considerados agradáveis. A polpa da fruta é boa fonte de vitaminas do complexo B (TEIXEIRA; NEVES; PENA, 2006). Sua polpa é macia e apresenta sabor de doce a subácido (LIMA, 2006).

A gravioleira é cultivada nos países Venezuela, Porto Rico, Costa Rica e no Brasil, principalmente, na região nordeste, sendo seus frutos utilizados na fabricação de suco, sorvetes, compotas, geléias e doces (SACRAMENTO, FARIA, CRUZ et al., 2003).

A pasteurização é um tratamento térmico que é aplicado à polpa de frutas, processo relativamente barato, apresenta boa manutenção, seja em relação à estabilidade microbiana ou à fixação de nutrientes. O estudo do processo de pasteurização de alimentos passa pela seleção de parâmetros físico-químicos, nutricionais e sensoriais, pelo ajuste de cada produto e para a avaliação da qualidade do produto submetido à armazenagem em condição controlada de temperatura (TEIXEIRA; NEVES; PENA, 2006).

Como foi mencionando, a graviola é uma fruta típica da industrialização, cujo despulpamento pode ser realizado manualmente ou por despulpadeira, porém, é precisamente na indústria que pode ser processada na forma de suco natural, concentrado e néctar. A polpa congelada conserva-se bem em câmaras frias e pode, dessa forma, ser embalada e exportada (RAMOS; PINTO; RODRIGUES, 2001).

Os extratos de graviola apresentam, também, papel importante na área medicinal sendo, então, usados como antiviral (PADMA et al., 1998), antiparasita, adstringente,

antirreumático (SANTOS & SANT'ANA., 2001), anti-leishimania (JARAMILLO, et al., 2002).

Apesar de poucos estudos feitos sobre os efeitos da *Annona muricata* L. em seres humanos, Oberlies Chang e Mclaughlin (1997) acreditam que a graviola pode ser, também, um medicamento eficaz no controle de células tumoral. Já Champy et al. (2004) afirmam que a anonacina, um constituinte lipofílico isolado da graviola, é inibidor do complexo I mitocondrial e induz a neurodegeneração estriatal e da substância nigra. Essa disfunção neuronal pode acarretar a doença de Parkinson.



Figura 1. Graviola (*Annona muricata*)

2.2. Câncer

O câncer é uma doença que se caracteriza pela multiplicação e disseminação descontrolada de formas anômalas das células do organismo. Acredita-se ser uma das principais causas de óbito em nações desenvolvidas: “uma em cada 3 pessoas terá o diagnóstico de câncer durante a vida” (RANG et al., 2007).

Outras definições são válidas para o câncer, como:

“[...] conjunto de diferentes doenças de variadas localizações topografias e, mesmo dentro de uma mesma topografia, de diferentes tipos morfológicos que guardam em comum duas características biológicas principais: o crescimento celular descontrolado e a capacidade de se estender para além do tecido em que se originaram” (GADELHA; COSTA; ALMEIDA, 2005).

Sabe-se que muitas e complexas são as formas de controle do ciclo celular, porém, nem sempre é efetiva essa regulação. Assim, células tumorais se originaram de células normais que sofreram a ação de um ou mais agentes cancerígenos, os quais foram responsáveis por causarem alterações no DNA (BRASILEIRO FILHO, PEREIRA e GUILMARÃES, 2004).

As mutações carcinogênicas afetam os genes que controlam o nascimento (ciclo celular) ou a morte (apoptose) das células. Assim, devem-se ressaltar, os proto-

oncogenes e os genes supressores de tumor (READ; STRACHAN, 2002).

Os proto-oncogenes são classificados como genes relacionados com o crescimento, diferenciação e proliferação celular normais. São responsáveis por codificar fatores de crescimento, receptores de membrana e proteínas de ligação do DNA. Os oncogenes são proto-oncogenes alterados geneticamente (LOPES; OLIVEIRA; PRADO, 2002).

Mutações oncogênicas apresentam-se, na célula cancerosa, como mutações dominantes de ganho de função. Não necessariamente a mutação precisa estar presente apenas como um alelo para contribuir para a formação do tumor. De forma que, se a mutação está presente no DNA codificante de proteínas, o oncogene causa uma mudança estrutural na proteína codificada. Porém, quando a modificação está presente em um elemento regulador, o oncogene faz com que uma proteína estruturalmente normal seja desregulada (GRIFFITHS et al., 2006).

Já os denominados genes supressores de tumor têm por finalidade impor alguns limites ao ciclo e ao crescimento celular, de forma que, às vezes, suprimem algumas propriedades fenotípicas das células tumorais, e acarretam em uma ação antineoplásica que atua inibindo algumas propriedades das células malignas (LOURO et al., 2002).

De acordo com Rang et al. (2007), atualmente vem sendo empregados três enfoques principais no tratamento do câncer estabelecido: excisão cirúrgica, radioterapia e quimioterapia.

Alguns fármacos, utilizados na quimioterapia do câncer, são agentes aquilantes, antimetabólicos, antibióticos citotóxicos, derivados de plantas (alcalóides de vinca, taxanos, campotecinas) e hormônios (esteróides, glicocorticóides, estrógenos e andrógenos) (RANG et al., 2007).

2.3. Mitomicina C

A triagem de produtos antimicrobianos levou à descoberta de diversos inibidores de crescimento que demonstraram ter grande utilidade clínica na quimioterapia do câncer. Em sua maioria esses antibióticos se ligam ao DNA através de sua intercalação entre bases específicas, sendo assim, bloqueando a síntese de RNA, DNA ou ambos. Dessa forma há ruptura das fitas de DNA e interferência na replicação celular (KATZUNG, 2005).

Todos os antibióticos contra o câncer atualmente de uso clínico são produtos de várias cepas de micróbios do solo *Streptomyces*. Incluem as antraciclinas, a dactinomicina, a bleomicina e a mitomicina (KATZUNG, 2005).

A mitomicina C é um antibiótico isolado de *Streptomyces caespitosus*. Em sua estrutura contém um grupo aziridina e um grupo quinona, bem como um grupo mitosano, e cada um deles participa do processo de alquilação com o DNA. Esta droga é um agente alquilante que sofre ativação metabólica por meio de redução mediada por enzima, gerando um agente alquilante que se une ao DNA por ligação cruzada (CHABNER et al., 2005)

As células-tronco tumorais hipóxicas de tumores sólidos encontram-se em num

ambiente favorável a reações redutoras e são mais sensíveis às ações citotóxicas da mitomicina do que as células normais e as células tumorais oxigenadas. Como praticamente nenhuma mitomicina é absorvida sistemicamente, ocorre pouca ou nenhuma toxicidade sistêmica (KATZUNG, 2005).

2.4. *Drosophila melanogaster*: Teste para detecção de tumor epitelial

A *Drosophila melanogaster* (Figura 2) é um organismo eucarionte, e a partir de suas características peculiares (seu pequeno tamanho, facilidade de manutenção em laboratório, possuir grande progênie, curto tempo de geração, baixo número de cromossomos e apresentar reações metabólicas semelhantes às dos mamíferos), mostra-se ideal para os testes de detecção de agentes genotóxicos e de antigenotóxicos (GRAF, 2006).

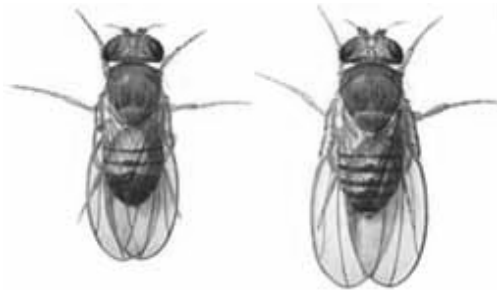


Figura 2. Casal de *Drosophila melanogaster*: o macho (esquerda) é menor e possui pente sexual e a fêmea (direita) é maior e não apresenta pente sexual.

O gene *warts* (*wts*) foi identificado por Nishiyama et al. (1999), com atividade supressora de tumor em *Drosophila*. A deleção desse gene acarreta na formação de clones de células que são consideravelmente invasivas, ou seja, que tem a capacidade de se desenvolver por todo o corpo da mosca.

A *Drosophila* possui um disco imaginal que é formado por uma única camada de células, na larva, que durante a metamorfose desenvolve-se nas estruturas da epiderme da mosca adulta. O controle do ciclo celular é feito por essas células de forma semelhante ao das células somáticas em mamíferos (EEKEN et al., 2002).

O ciclo celular é controlado por uma família de proteínas quinases que reagem às atividades metabólicas da célula com a finalidade de uma divisão ordenada. Essas quinases são heterodímeros, e possuem uma unidade regulatória, as ciclinas, e uma catalítica, a proteína quinase dependente de ciclina (CDK – cyclin-dependent protein kinase) (CHENG et al., 1999). Nas células existem pelo menos quatro tipos de ciclinas (A, B, C e D) e pelo menos oito tipos de CDK (CDK1 ao CDK8). Estas agem em diversas combinações em pontos específicos no ciclo celular (NELSON; COX, 2000). O gene *warts* codifica uma proteína denominada serina/treonine kinase importante na progressão do ciclo celular, especialmente na mitose (NISHIYAMA et al., 1999).

Em homozigose, o marcador *wts* é uma mutação recessiva letal nos zigotos. Por causa da grande capacidade letal do alelo *wts*, ele é mantido na linhagem estoque com

a presença de um balanceador cromossômico (TM3). Por meio do cruzamento entre linhagens *wts/TM3* e do tipo *multiple wing hairs (mwh/mwh)* são obtidas larvas heterozigotas (*wts/+*) (SIDOROV et al., 2001).

A perda da heterozigose nas células do disco imaginal ocasiona a formação de clones homozigotos (que é viável em conjuntos de células isoladas) na larva, que manifestam como tumores na mosca adulta (SIDOROV et al., 2001).

3. Metodologia

3.1. Obtenção da polpa de graviola industrializada

A polpa da graviola industrializada (*Annona muricata*) foi adquirida em um supermercado na cidade de Patos de Minas – MG, da marca Frutpres, fabricada em Presidente Olegário, lote 02885, e submetida à constante refrigeração. Em adição às larvas de *Drosophila melanogaster* foram tratadas com extratos da polpa aquosa pura (100%) e diluídas (50% e 25%) em água do tipo Osmose Reversas.

3.2. Agentes Químicos

A mitomicina C é conhecida comercialmente como Mitocin. Cada frasco contém de 5 a 15 mg de pó de mitomicina liofilizado. Possui peso molecular de 334,0 e fórmula molecular de C₁₅N₄O₅H₁₈.

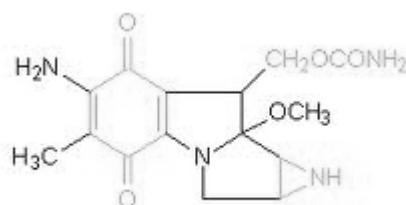


Figura 3. Fórmula estrutural da mitomicina.

3.3. Teste para detecção de tumor epitelial em *Drosophila melanogaster*

Na 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, 3-03)*.

Os estoques foram mantidos em frascos de ¼ de litro contendo meio de cultura de *Drosophila melanogaster* com 820 mL de água; 25g de fermento (*Saccharomyces cerevisiae*); 11 g de agar; 156 g de banana e 1g de nipagin, a uma temperatura de 25° C e 60% de umidade.

3.3.1. Cruzamento

Para obtenção de larvas heterozigotas *wts +/+ mwh* realizou-se o cruzamento entre fêmeas virgens *wts/TM3, Sb¹* com machos *mwh/mwh*. Desse cruzamento, todas as larvas foram tratadas com o agente químico testado. No entanto, somente as moscas adultas que não tiverem o balanceador cromossômico (*TM3, Sb¹*) foram analisadas.

3.4. Procedimento experimental

3.4.1. Tratamento com a polpa de graviola industrializada

Para o tratamento com a polpa da graviola industrializada, foram utilizadas larvas de 66h, do cruzamento descrito anteriormente, que ficaram expostas por 6 horas na mitomicina C e, posteriormente foram tratadas com diferentes concentrações do extrato aquoso da polpa da graviola (25, 50 e 100%).

3.4.2. Análise do tumor

Após o tratamento experimental, as moscas foram transferidas para tubos devidamente etiquetados com as concentrações, contendo etanol 70% (para conservação). Posteriormente as moscas foram levadas individualmente em uma placa com glicerina à lupa para visualização e contagem da presença de tumores, com auxílio de um pincel para manusear a mosca.

A tabulação foi feita em um laudo, que separava quantitativamente a incidência de tumores nas regiões do olho, cabeça, asa, corpo, perna, halteres e o total por mosca, em cada concentração.

3.5. Análise estatística

As diferenças estatísticas, entre a frequência de tumor das concentrações testadas e os controles foram calculadas usando-se o teste *U*, não paramétrico, de Mann-Whitney.

4. Resultados

Pela Tabela 1 é possível verificar a ocorrência e a frequência de tumores nos diferentes segmentos do corpo da *Drosophila melanogaster*, sendo elas, 0,065 para o controle negativo (água osmose reversa), e 4,580 para o controle positivo. As larvas que não foram submetidas ao pré-tratamento com a droga (mitomicina C), mas somente ao extrato da polpa da graviola nas concentrações 25%, 50% e 100% apresentam respectivamente 0,235; 0,155; 0,125 de frequência de número de tumores.

Quanto às larvas tratadas com o extrato da graviola, 100% (0,125) não apresentaram aumento estatisticamente significativo ($p > 0,05$), na frequência de tumores, em

relação ao controle negativo (0,065) (água osmose reversa). Entretanto, notou-se ainda que as larvas tratadas apenas com o extrato de graviola, nas concentrações de 25 e 50%, apresentaram um aumento nas frequências de tumores estatisticamente diferente ($p < 0,05$), com relação do controle negativo.

As larvas que ficaram expostas por 6 horas na mitomicina C e, posteriormente foram tratadas com diferentes concentrações do extrato aquoso da polpa da graviola (25, 50 e 100%), apresentaram frequência de 5,925; 3,705; 3,065 respectivamente. Os três valores são considerados estatisticamente diferentes do controle positivo (MMC 0,1 mM) ($p < 0,05$). A concentração de 25% apresentou-se com frequência de tumores superior ao controle positivo, enquanto as concentrações de 50% e 100% apresentaram-se com frequência inferior.

A Figura 4 mostra os tumores encontrados em diferentes regiões do corpo da *Drosophila melanogaster*.

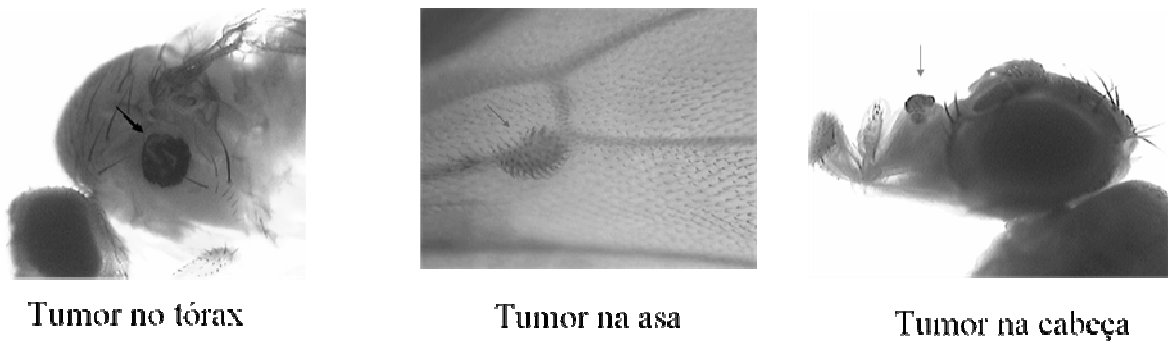


Figura 4. Tumores observados em diferentes regiões do corpo da *Drosophila melanogaster*.

Tabela 1. Frequência de clones de tumor observados em *Drosophila melanogaster*, heterozigota para o gene supressor de tumor *wts*, pré-tratada com mitomicina C (6 horas) e posteriormente tratada com extrato aquoso do fruto da graviola.

Tratamentos		Número de moscas analisadas	Número de tumores analisados							Frequência (Nº de tumores/mosca)
Graviola (concentração)	MMC (mM)		Olho	Cabeça	Asa	Corpo	Perna	Halter	Total	
0	0	168	0	0	6	5	0	0	11	0,065
0	0,1	200	144	149	270	227	101	25	916*	4,580
25%	0	200	4	18	22	2	0	1	47*	0,235
50%	0	200	0	13	18	2	3	0	31*	0,155
100%	0	200	4	12	6	1	0	2	25	0,125
25%	0,1	200	48	114	379	275	228	141	1185**	5,925
50%	0,1	200	60	63	288	137	157	38	741**	3,705
100%	0,1	200	86	98	248	106	56	19	613**	3,065

Diagnóstico estatístico de acordo com o Teste Mann-Whitney. Nível de significância $p = 0,05$

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

** Valor considerado diferente do controle positivo (MMC 0,1 mM) ($p < 0,05$).

MMC, mitomicina C.

5. Discussão

A atividade anticarcinogênica do extrato aquoso da polpa da graviola foi avaliada por meio do teste para detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster*.

A *Drosophila melanogaster* é considerada um eficiente organismo teste para avaliação de efeitos carcinogênicos e anticarcinogênicos, isso mediante a alta capacidade de detectar alterações nos genes de controle do ciclo de divisão celular e também por apresentar grande similaridade genômica com o ser humano (FARIA, 2006).

O câncer é uma coleção de doenças nas quais crescimento e divisão celular estão desregulados. Sem regulação, as células se dividem sem parar, acumulando umas em cima das outras para formar tumores (SNUSTAND; SIMMONS, 2001). E diante do crescente aumento de casos de câncer, há sempre a busca para desenvolvimento de ações abrangentes para o controle e tratamento desta afecção. O uso de plantas e frutos como estratégia no controle/tratamento da mesma apresenta-se como um recurso inovador em completo aos tratamentos convencionais (VEIGA JUNIOR, 2008).

Os extratos de graviola apresentam, também, papel importante na área medicinal como antiviral (PADMA et al., 1998), antiparasita, adstringente, antirreumático (SANTOS et al., 2001), antileishmania (JARAMILLO et al., 2000; LIAW et al., 2002).

De fato, este trabalho buscou desvendar e analisar a utilização do extrato da polpa da graviola (*Annona muricata*) no auxílio ao tratamento do câncer, com a possibilidade de beneficiar milhares de pacientes sujeitos ao tratamento quimioterápico.

Pela Tabela 1 é possível verificar a ocorrência e a frequência de tumores nos diferentes segmentos do corpo da *Drosophila melanogaster*. O teste para a detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster* foi eficiente para identificar o potencial anticarcinogênico do extrato da polpa de graviola (*Annona muricata*), nas concentrações de 50 e 100% (na presença da mitomicina C). Porém, ficou demonstrado que os extratos aquosos da polpa da graviola apresentaram atividade tumoral, nas concentrações de 25 e 50% (na ausência da mitomicina C).

Os mecanismos pelos quais os extratos (25 e 50 %) induziram o desenvolvimento de células tumorais, na *Drosophila*, não foram demonstrados. A presença conhecida de acetogeninas no fruto induziu, provavelmente, uma atividade genotóxica com consequente indução de tumor. Contudo, o não-aparecimento de tumores, na concentração de 100% do extrato aquoso das folhas de graviola, pode estar relacionado, provavelmente, com a alta concentração de acetogeninas e com o efeito citotóxico. Na mais alta concentração, graviola (100%), os erros induzidos são tão grosseiros que é desencadeada a via de apoptose.

Outros trabalhos, utilizando a casca da graviola, por meio do teste *warts* em *Drosophila melanogaster*, obtiveram resultados semelhantes a este, em que segundo Faria (2006) ficou demonstrado que os extratos aquosos das folhas de graviola (*Annona muricata*) apresentam uma atividade tumoral, nas concentrações de 25 e 50%. Contudo, no extrato aquoso puro (100%) não ocorreram aumentos nessas frequências de tumor, logo, o não-aparecimento de tumores nessa concentração do extrato aquoso das folhas de graviola foi correlacionado também, provavelmente, com a alta concentração de acetogeninas, com seu efeito citotóxico e com o mecanismo de apoptose.

O ciclo celular consiste em períodos de crescimento, síntese de DNA e divisão. Alelos normais de genes produzem proteínas que regulam este ciclo. Esses genes que estão normalmente envolvidos em conter o crescimento celular são chamados de genes supressores tumorais. Quando se detecta uma lesão no DNA, tem-se um aumento no nível da proteína p53 (supressora tumoral), na qual, podem-se desencadear duas vias: a) via de parada celular; b) via apoptótica (SNUSTAND; SIMMONS, 2001).

Pela via apoptótica, a p53 ativa o gene BAX, que codifica a proteína BAX, um antagonista de outra proteína BCL-2 que normalmente suprime a via. Dessa forma a célula continua em sua própria destruição, o que caracteriza a apoptose (SNUSTAND; SIMMONS, 2001)

A apoptose é um processo ativo de colapso celular extremamente regulado e de grande eficiência, que requer a interação de inúmeros fatores. As alterações morfológicas observadas são consequência da cascata de eventos moleculares e bioquímicos específicos e geneticamente regulados. Tal processo caracteriza-se por condensação cromatínica, fragmentação do DNA e formação dos corpos apoptóticos (GRIVICICH; REGNER; ROCHA, 2007).

Também foi observado que o aumento na frequência de tumores, induzido pela mitomicina C, foi reduzido pelo extrato aquoso da polpa da graviola (50 e 100%). Balachandran e Govindarajan (2005) demonstraram que a bulatacina, uma acetogenina, isolada dos frutos da *Annona atemoya*, induz apoptose em células tumorais. Portanto, o provável mecanismo responsável pela redução dos tumores seria a indução da apoptose pela acetogenina, encontrada, normalmente, nos frutos das anonáceas.

Na associação mitomicina C e polpa da graviola (25%) houve um aumento significativo no número de tumores. Acredita-se que este aumento deve-se à baixa concentração da polpa. Como esta concentração é menor (25%), é possível que não tenha a quantidade suficiente do metabólito secundário (acetogenina) capaz de induzir a apoptose. Portanto, os erros no DNA induzidos pelo extrato (25%) não foram suficientes para induzir a apoptose e, com isso, houve um aumento no número de tumores, somados com a mitomicina C.

6. Conclusão

O teste para a detecção de clones de tumor em *Drosophila melanogaster* foi eficiente para identificar o potencial anticarcinogênico do extrato da polpa de graviola (*Annona muricata*), nas concentrações de 50 e 100%. Porém ficou demonstrado que os extratos aquosos da polpa da graviola apresentaram atividade tumoral, nas concentrações de 25 e 50% (na ausência da mitomicina).

Esse trabalho permitiu concluir que a graviola, por apresentar alta citotoxicidade, não deve ser usada como preventivo para o câncer. No entanto, caso a doença já esteja estabelecida, a graviola poderá ser utilizada no tratamento, visto que diminui a frequência de tumores no organismo, como avaliado neste trabalho.

Referências

BALACHANDRAN, Premalatha; GOVINDARAJAN, Rajgopal. Câncer: an ayurvedic perspective. *Pharmacological Research*, v. 51, p19–30, 2005.

BRASILEIRO FILHO, Geraldo; PEREIRA, Fausto Edmundo Lima; GUIMARÃES, Romeu Cardoso. Distúrbios do Crescimento e da Diferenciação Celular, in: BRASILEIRO FILHO, Geraldo. *Bogliolo: patologia geral*. 3 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004, cap. 8, p. 173-234.

CHABNER, Bruce A. et.al. Antineoplásicos, in: HARDMAN, Joel G; LIMBIRD, Lee E. *Goodman & Gilman: as bases farmacológicas da terapêutica*. 10 ed. Rio de Janeiro: Mc Graw Hill. 2005, cap.52, p.1042-1093.

CHAMPY, Pierre et al. Annonacin, a lipophilic inhibitor of mitochondrial complex I, induces nigral and striatal neurodegeneration in rats: possible relevance for atypical parkinsonism in Guadeloupe. *Journal of Neurochemistry*, 2004, n. 88, p. 63–69.

CHENG, A. et al. Dephosphorylation of cyclin-dependent kinases by type 2C protein phosphatases. *Research Paper*. 1999 (13): 2946-2657.

CORRÊA, M. Pio. *Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas*. Rio de Janeiro: Imprensa Nacional, 1978, vol. 3, p. 486.

EKEN, Jan C. J. et al. Induction of epithelial tumors in *Drosophila melanogaster* heterozygous for the tumor supressor gene wts. *Enviromental and Molecular Mutagenesis*. 2002, n. 40, p. 277-282.

FARIA, Maria Isabel de. Efeito Anticarcinogênico da folha da Graviola (*Annona muricata*) por meio do teste para detecção de clones de tumor (Warts) em (*Drosophila melanogaster*), in: *I Seminário de Iniciação Científica do Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico PIBIC/ CNPq/ UEMG, Anais CNPq*. 2006.

FOGLIO, Mary Ann et al. Plantas Medicinais como Fonte de Recursos Terapêuticos: Um Modelo Multidisciplinar. *Multiciência: Revista Interdisciplinar dos Centro e Núcleos da Unicamp*. Out. 2006. Disponível em: <http://www.multiciencia.unicamp.br/art04_7.htm> Acesso em: 4 fev. 2010.

GADELHA, Maria Inez; COSTA, Milene R.; ALMEIDA, Rosimary. Classification of Malignant Tumours – analysis and suggestions based on APAC data. *Revista Brasileira de Cancerologia*. Rio de Janeiro, v.51, n.3, p227-234, 2005.

GRAF, U. The Actual Situation of SMART (Somatic Mutation and Recombination Test) in

D. melanogaster. *Environmental Mutagenesis*, v. 6, n. 2, 2006.

GRIFFITHS, A.J.F. et al. *Introdução a genética*. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2006.

GRIVICICH, Ivana; REGNER, Andréa; ROCHA, Adriana Brondani da. Morte Celular por Apoptose. *Revista Brasileira de Cancerologia*, v. 53, n. 3, p. 335-343, 2007.

GUERRA, Maximiliano Ribeiro; GALLO, Cláudia Vitória de Moura; MENDONÇA, Gulnar Azevedo e Silva. The risk of cancer in Brazil: tendencies and recent epidemiologic studies. *Revista Brasileira de Cancerologia*. Rio de Janeiro, v. 51, n. 3, p. 227-234, 2005.

INCA 2009. ESTIMATIVA 2010: incidência de câncer no Brasil / *Instituto Nacional de Câncer*. Rio de Janeiro.

Disponível em: <<http://www.inca.gov.br/estimativa/2010/>> Acesso em: 7 fev. 2010.

JARAMILLO, M.C. et al. Cytotoxicity and antileishmanial activity of *Annona muricata* pericarp. *Fitoterapia* 2000, n. 71, p. 183-186.

KATZUNG, Bertram G. Quimioterapia do Câncer, in: *Farmacologia: Básica & Clínica*. 9 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2005, cap. 55, p. 751-777.

LIAW, C.C. et al. New cytotoxic monotetrahydrofuran annonaceous acetogenins from *Annona muricata*. *J. Nat. Prod.* 2002. n. 65, p. 470-475.

LIMA, Maria Auxiliadora Coêlho de; ALVES Ricardo Elesbão; FILGUEIRAS, Heloísa Almeida Cunha. Changes related to softening of soursop during postharvest maturation. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*. Brasília, v. 41, n. 12, dez. 2006.

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*, vol. 2, n. 2, segundo semestre, 2002.

LOURO, I. D; et al. *Genética Molecular do Câncer*. 2 ed. São Paulo: MSG Produção Editorial, 2002.

NELSON, D. L.; COX, M.M. Lehninger: *Principles of biochemistry*. 3 ed. Edit. Worth Publishers, 2000.

NISHIYAMA, Y. et al. A human homolog of *Drosophila* warts suppressor, h-warts, localized to mitotic apparatus and specifically phosphorylated during mitosis. *Febs Letters*. 1999, n. 459, p. 159-165.

OBERLIES, N.H.; CHANG, C.J.; MCLAUGHLIN, J.L.. Structure-activity relationships of di-

verse Annonaceous acetogenins against multidrug resistant human mammary adenocarcinoma (MCF-7/Adr) cells. *J. Med. Chem.* 1997, n. 40, 2102-2106.

PADMA P. et al. Effect of the extract of *Annona muricata* and *Petunia nyctaginiflora* on Herpes simplex virus. *J. Ethnopharmacol.* 1998, n. 61, p. 81-83.

RAMOS, Vitor Hugo Vargas; PINTO, Alberto Carlos de Queiros; RODRIGUES, Alessandra Alves. "Aspectos Botânicos", in: OLIVEIRA, Maria Alice Santos (ed.) *Graviola. Produção: Aspectos Técnicos*. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento/ EMBRAPA, 2001, cap. 1, p. 10-12.

RANG, H.P. et al. Quimioterapia do Câncer, in: *Farmacologia*. 6 ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 2007, cap. 51, p. 718-736.

READ, A.P.; STRACHAN, T. *Genética Molecular Humana*. 2 ed. Porto Alegre: Editora Artmed, 2002.

SACRAMENTO, Célio Kersul do; FARIA, José Cláudio; CRUZ, Fábio Lopes da et al. Physical-chemical characterization of fruit of three types of soursop trees (*Annona muricata* L.). *Revista Brasileira de Fruticultura*. Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 329-331, Aug. 2003.

SANTOS, A.F.; SANT'ANA, A.E. Molluscicidal properties of some species of *Annona*. *Phytomedicine*. 2001, n. 8, p. 115-120.

SIDOROV, R. A. et al. Induction of tumor clones in *D. Melanogaster wts/+* heterozygotes with chemical carcinogens. *Mutation Research*. 2001, n. 498, p. 181-191.

SNUSTAD, D.P.; SIMMONS, M.J. *Fundamentos de Genética*. 2 ed. Guanabara Koogan: Rio de Janeiro, 2001. 756p.

STRYER, Lubert; TYMOCZKO, John L.; BERG, Jeremy M. Desenvolvimento de medicamentos, in: *Bioquímica*. 6 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008, cap. 37, p. 1009-1035.

TEIXEIRA, Cynthia Kelly Barreto; NEVES, Elisa Cristina Andrade; PENA, Rosinelson da Silva. Estudo da Pasteurização da Polpa de Graviola. *Revista de Alimentos e Nutrição*. Araraquara, v. 17, n. 3, p. 251-257. jul/set. 2006.

VEIGA JUNIOR, Valdir Florencio da. Study of the medicinal plants consumption in the Middle-North Region of the Rio de Janeiro State: acceptance by health professionals, ay of use of the population. *Revista Brasileira de Farmacognosia*. Rio de Janeiro, v. 18, n. 2, p. 308-313. 2008.